

Diffusion hyper Rayleigh des assemblages moléculaires

Guillaume Revillod

▶ **To cite this version:**

Guillaume Revillod. Diffusion hyper Rayleigh des assemblages moléculaires. Physique Atomique [physics.atom-ph]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2006. Français. NNT : . tel-00106415

HAL Id: tel-00106415
https://theses.hal.science/tel-00106415

Submitted on 16 Oct 2006

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

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

N° d'ordre 59-2006 Année 2006

THESE

présentée

devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 25 avril 2002)

présentée et soutenue publiquement le 29 mai 2006

par

Guillaume REVILLOD

Diffusion hyper Rayleigh des assemblages moléculaires

JURY : M. Pierre-François BREVET, Directeur de thèse
M. Patrice BALDECK
M. Alain FORT, rapporteur
M. François HACHE, rapporteur
M. Daniel SIMON, président
M. Joseph ZYSS
Mme. Françoise BESSON, invité

Remerciements :

Faire des remerciements à la fin d'une thèse c'est une tradition. Ceux qui m'ont connu durant toutes ces années qui ont précédées cette thèse savent que le respect des traditions n'est pas mon point fort. Et comme ce sont toutes ces personnes que je vais remercier et que la plupart d'entre elles ne liront jamais ces lignes, l'honneur est sauf.

Dans le respect de la logique scientifique, je vais donc commencer pas l'ordre chronologique des gens que j'ai croisé furtivement mais qui on probablement construit ce que je suis devenu.

Un premier remerciement aux enseignants qui m'ont quand même laissé un souvenir pour leur façon de transmettre leur savoir. A Mlle Rubin qui m'a sûrement permis de n'être pas complètement ridicule dans le maniement de la langue française écrite. A M. Barrin qui m'a réconcilié avec tous les mauvais professeurs de science qui ont jalonnés mon parcours jusqu'au bac. Je remercie quand même tous ces mauvais professeur de sciences qui m'on donné l'envie de ne jamais être un mauvais professeur. Merci au type qui a imposé la philosophie en terminale et ceux qui l'on maintenue. Et un grand merci à mes enseignants de physique de l'université de Savoie pour leur plaisir d'enseigner, leur exigence sur la compréhension et leurs examens sorti de nulle part. Mais toutes ces années ne m'auraient pas procuré autant de plaisir sans tous mes camarades rencontrés au fil des années. A peu près dans l'ordre : Olivier, France, Myriam, Julien, Céline, Cédric, Alex, Simon, Max, Laurence…

Pour continuer, je pense à ceux qui ont marqué la dernière ligne droite à Lyon, camarades de DEA, Bruno, Vincent, François, Ziad, Houssam et les autres et surtout aux membres du LASIM que j'ai côtoyé pendant quatre ans. En particulier je vais m'attarder sur les membres de l'équipe avec qui j'ai travaillé. Merci à Isabelle pour son aide sur les expériences, à Christian pour maintenir le laser à flot, à Manu pour son aide précieuse en toute circonstance même quand il a mieux à faire et à Guillaume arrivé à la fin mais néanmoins dévoué et attentif pour les corrections du manuscrit de cette thèse. Merci à Gaëlle pour sa bonne humeur et les discussions agréables avec confrontation de point de vue sur la vie. Un merci particulier à Jérôme, l'homme des heures de manip, des heures de discussions animées sur la physique et le reste. L'homme de Booba (pas le petit ourson), ouais, ouais. Le partage de beaucoup de point commun sur la vie et le désaccord salvateur sur tant d'autre (Est-ce qu'Uranus est bien aligné avec Jupiter dans la constellation du Capricorne?). Comme tu l'as dit dans t'as propre

thèse, je crois que tout est résumé dans le partage de l'hymne Rabbi-Jacobien. Et pour finir cette période un grand merci à Pierre-François pour être un très bon directeur de thèse, toujours présent pour parler de science, toujours content même quand ça ne marche pas, toujours très optimiste au point de faire passer mon réalisme pour du pessimisme voir du défaitisme. Merci pour ton exigence sur la rigueur scientifique, ta pédagogie et ton plaisir à faire de la science entre deux dossiers.

Pour finir, évidemment un grand merci à ma famille pour m'avoir servi d'exemple à suivre ou à éviter. En particulier aux plus proches, mes cousins Gilles et Thierry et leurs parents avec qui j'ai passé mon enfance. Mon frère Bertrand avec qui bizarrement j'ai aussi passé toute mon enfance…merci de supporter régulièrement mon humour. Et mes parents sans qui je n'existerais pas et qui ont contribuer à faire de moi quelqu'un d'heureux en étant toujours présent, attentionné et en acceptant mes choix de vie mais s'ils ne correspondaient pas à leur vision de la vie.

Merci à tous.

”I am conscious of being only an individual struggling weakly against the stream of time. But it still remains in my power to contribute in such a way that, when the theory of gases is again revived, not too much will have to be rediscovered.”

Ludwig Boltzmann

Table des matières

Chapitre 1 : Introduction. 1

Chapitre 2 : Diffusion hyper Rayleigh, principe et système expérimental. 5
2.1 Introduction. 5
2.2 Génération de second harmonique. 7
2.2.1 Principes de base. 7
2.2.2 Diffusion hyper Rayleigh. 11
2.2.3 Diffusion hyper Rayleigh résolue en polarisation. 13
2.3 Système expérimental 19
2.3.1 Laser et optique 19
2.3.2 Appareils de détection 21
2.3.3 Mesure de spectre d'absorption UV-visible 22
2.4 Références externe et interne 24
2.5 Conclusion 25
Bibliographie 27

Chapitre 3 : Symétrie et environnement…… 29
3.1 Introduction. 29
3.2 Solvants. 30
3.2.1 Mesures HRS 32
3.2.2 Influence d'un mélange de solvants sur le rapport de dépolarisation. 42
3.3 Effets d'environnements 45
3.3.1 La sonde : le cristal violet 45
3.3.2 Les micelles 49
3.3.3 Influence des micelles sur le cristal violet 52
3.4 Conclusion 57
Bibliographie 58

Chapitre 4 : Réponse HRS d'assemblages moléculaires 61
4.1 Introduction. 61
4.2 Rappel sur la réponse dipolaire électrique. 63

4.3 L'assemblage moléculaire. ... 64
4.3.1 Assemblage quelconque : formalisme général. ... 66
4.3.2 Assemblages parfaitement ordonnés : cas des molécules alignées. ... 68
4.3.3 Assemblages parfaitement désordonnés : cas des molécules ayant une distribution centrosymétrique. ... 69
4.4 Le paramètre η. ... 76
4.5 Application. ... 76
4.6 Conclusion. ... 79
Bibliographie ... 80

Chapitre 5 : Organisation dans les assemblages moléculaires. ... 81
5.1 Introduction. ... 81
5.2 Assemblages de DiA ... 82
5.2.1 Le DiA : caractérisation. ... 82
5.2.2 Assemblages de DiA induit par un solvant eau/MeOH. ... 87
5.2.3 Assemblages de DiA en présence de SDS. ... 88
5.3 Assemblages de MT04. ... 97
5.3.1 Le MT04 : caractérisation. ... 97
5.3.2 Assemblages de MT04. ... 101
5.4 Conclusion. ... 106
Bibliographie ... 108

Chapitre 6 : Assemblages moléculaires à l'interface air-liquide. ... 109
6.1 Introduction. ... 109
6.2 Le système biologique ... 112
6.2.1 La PAIB-GPI ... 112
6.2.2 La membrane ... 115
6.2.3 Les monoesters de phosphate ... 116
6.3 Le système biomimétique dans une cuve de Langmuir-Blodgett ... 117
6.3.1 La cuve de Langmuir-Blodgett ... 117
6.3.2 Méthode de dépôt des solutions en surface. ... 120
6.3.3 Le système complet ... 122
6.4 Caractérisation par HRS des molécules sondes du système. ... 123
6.5 Les mesures par SHG/TPEF couplées. ... 126

6.5.1 Le montage expérimental. 126
6.5.2 Le principe de la mesure de SHG et TPEF 128
6.5.3 Mesures préliminaires sur des molécules sondes : DiA et sDiA..... 135
6.6 Conclusions 142
Bibliographie 143

Chapitre 7 : Conclusions. 145

Chapitre 1 : Introduction.

L'optique non linéaire, et plus particulièrement le processus de doublage de fréquence, peut s'avérer très utile pour sonder à des échelles inférieures à la longueur d'onde les propriétés de la matière molle ou solide. En effet, en raison de la cohérence de la réponse de génération de second harmonique, il est possible de distinguer des sources non linéaires corrélées spatialement de sources non linéaires non corrélées. Ainsi, la génération de second harmonique a été utilisée pour étudier des nanoparticules métalliques dispersées en solution aqueuse. Il a été possible par exemple de mettre en évidence l'origine surfacique du processus physique dans ces nanoparticules et d'explorer les effets retard induits par une taille de particules non négligeable devant la longueur d'onde. Nous proposons dans ce travail d'exploiter ces connaissances acquises pour sonder la matière molle et plus précisément les assemblages moléculaires. L'une des motivations de ces études est l'introduction aux systèmes complexes dont les systèmes biologiques sont un archétype très riche.

Les processus optiques non linéaires sont à l'origine de l'émission de nouvelles fréquences par mélanges de fréquences incidentes. Les différents processus d'émissions possèdent toutefois des règles particulières. Ainsi, les processus de doublage de fréquence, tout comme les différents processus d'ordre pair, nécessitent des milieux matériels ne possédant pas de centre d'inversion. Cette règle, obtenue dans le cadre de l'approximation dipolaire électrique, permet d'utiliser les processus de doublage de fréquence pour étudier les interfaces séparant deux systèmes centrosymétriques comme les interfaces air-eau ou liquide-liquide qui sont très présentes dans le monde qui nous entourent. L'utilisation de la génération de second harmonique n'est cependant pas limitée aux interfaces planes et nombres de structures de petites taille, par exemple inférieure à la longueur d'onde comme les micelles ou les liposomes, peuvent faire l'objet de telles études. Toutefois, dans le cadre de cette approximation, ces structures ne peuvent posséder de centre d'inversion. Dans le cadre général de ce travail, il est cependant opportun de dépasser cette approximation pour établir des règles plus générales sur la réponse harmonique qu'il est possible d'enregistrer à partir de telles structures. C'est cette idée même que nous présentons ici afin de mieux cerner les renseignements que l'on peut tirer de ces mesures. L'idée de contourner la limite de

résolution spatiale établie par la diffraction n'est pas nouvelle et a notamment donné lieu à l'émergence du domaine du champ proche optique. Cette approche a eu un véritable impact dans les nanosciences. Nous proposons ainsi de voir quelles perspectives peuvent être envisagées dans ce contexte à travers l'optique non linéaire.

La technique de diffusion hyper Rayleigh (acronyme anglais usuel HRS pour *hyper Rayleigh Scattering*) ou encore diffusion harmonique de lumière (DHL) a été introduite depuis plusieurs années maintenant pour caractériser les composés développés en ingénierie moléculaire pour différentes applications comme la photo-initiation multiphotonique ou la limitation optique. Le formalisme général qui sous-tend cette technique est donc bien développé et est présenté dans le chapitre 2 avec les éléments essentiels du montage expérimental. Les grands principes du travail expérimental rapporté dans ce travail sont abordés et posés dans ce chapitre.

L'un des ingrédients importants de cette approche est le rôle joué par l'environnement et tout particulièrement le rôle joué par le solvant. Les solvants possèdent en effet leur propre réponse de second harmonique caractérisée par l'hyperpolarisabilité quadratique. De plus, ceux-ci sont souvent utilisés comme référence interne dans les mesures quantitatives. Leur connaissance est donc une nécessité et quelques remarques sur leur réponse HRS sont présentées dans une première partie du chapitre 3. Les solvants peuvent aussi affecter la réponse harmonique des molécules sondées en créant un champ de polarisation, éventuellement anisotrope en instantané. De même, de faibles modifications de la réponse de diffusion hyper Rayleigh peuvent être obtenues en modifiant l'environnement de la molécule sondée par addition d'un second composé dans la solution. De telles mesures ont été réalisées pour le cristal violet et la résolution en polarisation de la réponse HRS a permis de bien mettre en évidence de tels effets.

Pour aller plus loin, un modèle a été introduit au chapitre 4 pour mettre en reliefs les deux composantes principales qui dominent la réponse optique. Tout d'abord, il existe une réponse dipolaire électrique : c'est la composante qui a toujours été considérée par le passé. Ensuite, il existe une composante quadripolaire électrique qui est usuellement négligeable en raison de la forte contribution dipolaire. Celle-ci provient de la taille non ponctuelle des assemblages moléculaires et est introduite explicitement naturellement. Ce modèle simple est parfaitement adapté aux systèmes micellaires mais nécessiterait des développements plus

poussés pour des systèmes ayant une organisation quelconque. Néanmoins, pour le cas particulier des systèmes micellaires, nous avons introduit un paramètre quantifiant le poids des composantes dipolaire et quadripolaire. Ce modèle est ensuite appliqué à des assemblages moléculaires formés par des molécules sondes amphiphiles afin d'introduire une population de micelles. Ces mesures sont alors décrites, au cours du chapitre 5, dans le cadre du modèle sur une hypothèse d'un système à deux populations : des molécules libres et des assemblages centrosymétriques micellaires.

Dans une dernière partie, la génération de second harmonique est étendue au cas d'un système biomimétique reconstruit à l'interface air-liquide. Cette configuration a pour but d'étudier l'activité d'une protéine fixée à une membrane. Ce système biomimétique reconstitué à l'interface air-liquide est un exemple type d'un assemblage moléculaire complexe ayant une fonction précise. Dans ce chapitre ne sont seulement décrites que les expériences préliminaires réalisées dans cet objectif plus général. En particulier, la technique proposée consiste à coupler la génération de second harmonique de surface et la fluorescence excitée à deux photons en raison de la localisation différenciée lumière-matière au cours de ces deux processus. La mise en évidence est effectuée sur une monocouche de molécules amphiphiles.

Chapitre 2 : Diffusion hyper Rayleigh, principe et système expérimental.

2.1 Introduction.

La génération de second harmonique, acronyme anglais Second Harmonic Generation (SHG) est un processus optique non linéaire de doublage de fréquence par lequel deux photons à la fréquence fondamentale sont convertis en un photon à la fréquence harmonique. La génération de diffusion harmonique de lumière ou diffusion hyper Rayleigh, acronyme anglais Hyper Rayleigh Scattering (HRS), est un phénomène incohérent, l'intensité totale détectée étant la superposition incohérente des intensités SHG diffusées par chacune des sources non linéaires présentes dans l'échantillon. La section efficace de ce processus est définie comme le rapport entre l'intensité harmonique et le carré de l'intensité incidente fondamentale.

$$I_{HRS}^{(2\omega)} = \sigma_{HRS} \left(I^{(\omega)} \right)^2 \tag{2.1}$$

En raison de la superposition incohérente des différentes ondes harmoniques produites, l'intensité totale ne dépend donc que linéairement du nombre de sources non linéaires. En cela, la diffusion hyper Rayleigh se distingue du processus SHG qui est un processus cohérent. Par ailleurs, au-delà du nombre de sources non linéaires, la mesure de l'intensité HRS résolue en polarisation permet de caractériser d'autres propriétés de l'échantillon, telles que sa symétrie, l'orientation ou encore différents éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité des sources non linéaires. Ces éléments du tenseur contiennent en particulier des propriétés microscopiques des sources non linéaires, notamment une information sur l'organisation spatiale de ces sources. L'étude approfondie de systèmes moléculaires complexes présentée dans ce travail illustre ce dernier point. La section efficace HRS pour l'eau à été estimé, à 840 nm de longueur d'onde fondamental, comme valant :

$8\times10^{-62} cm^4.s/photon$ [1]. La première observation de la diffusion HRS date de 1965 et des travaux de R.W. Terhune *et al.* réalisés pour du quartz fondu et des solutions liquides [2]. Par la suite, S. Kielich *et al.* réalisèrent des expériences similaires pour des solutions de composés moléculaires centrosymétriques [3-5]. L'originalité de ce travail provient du fait que pour de tels composés moléculaires, l'hyperpolarisabilité est nulle dans l'approximation dipolaire électrique. Ce point sera abordé plus loin dans l'exposé [2]. Par ailleurs, la diffusion hyper Raman a aussi fait l'objet d'une étude détaillée et son intérêt réside surtout sur des modifications des règles de sélection par rapport à la diffusion Raman [3]. L'utilisation de la technique HRS pour la caractérisation de composés moléculaires est rapidement apparue complémentaire des autres techniques. En effet, la principale technique utilisée alors était la génération de second harmonique induite par champ électrique, acronyme anglais Electric Field Induced Second Harmonic Generation (EFISHG). Dans cette mesure, l'isotropie du milieu liquide est rompue par application d'un champ électrique statique. Cependant, l'hyperpolarisabilité ne peut alors être mesurée indépendamment du moment dipolaire $\vec{\mu}$ et de l'hyperpolarisabilité du second ordre $\vec{\gamma}$ des composés moléculaires. Par ailleurs, en raison de l'application d'un champ électrique, les mesures EFISHG sont restreintes aux composés non ioniques et polaires. L'utilisation de la diffusion HRS a ainsi permis d'étendre les mesures d'hyperpolarisabilité aux composés ioniques et non polaires et s'est révélée ainsi très fructueuse pour l'étude des composés moléculaires octopolaires comme le Crystal Violet [6-8]. Plus récemment, la diffusion HRS a été étendue à l'étude des systèmes microscopiques de taille bien supérieure à la taille moléculaire. Ainsi des biomolécules comme des protéines telles la bactériorhodopsine [9] ou des assemblages moléculaires comme des micelles [10, 11] ou des particules microscopiques [12-15] ou des liposomes [16-20] ont fait l'objet de telles études tout comme les nano particules métalliques [21-25]. Au cours de ce travail, le rôle de l'étendue spatiale de ces objets sera étudié plus en détail.

2.2 Génération de second harmonique.

2.2.1 Principes de base.

Le terme de source non linéaire pour le processus de doublage de fréquence dans l'équation d'onde est la polarisation non linéaire $\vec{P}_{NL}$. Cette polarisation correspond au deuxième ordre du développement de la polarisation totale en puissances successives du champ électrique de l'onde incidente :

$$\vec{P} = \vec{P}_L + \vec{P}_{NL} = \varepsilon_0(\chi^{(1)}\vec{E} + \vec{\vec{\chi}}^{(2)} : \vec{E}\vec{E}) \qquad (2.1)$$

lorsque l'on se situe au premier ordre de la non linéarité. Cette polarisation non linéaire possède des propriétés de symétrie bien particulières conduisant à des restrictions sévères sur l'existence ou non du processus SHG. En effet, ce processus est interdit dans un milieu matériel centrosymétrique comme les liquides ou les gaz dans l'approximation dipolaire électrique ayant conduit à la forme (2.1). Dans le cas des objets microscopiques comme les molécules, où la taille des objets étudiés est petite devant la longueur d'onde du laser source, le champ électrique incident est considéré comme constant à l'échelle des distances moléculaires. Si on considère une transformation correspondant à une symétrie par rapport à l'origine d'un repère (O, *x*, *y*, *z*), tout point M de coordonnées (*x*, *y*, *z*) est transformé en un point M' de coordonnées (-*x*, -*y*, -*z*), voir Figure 1.

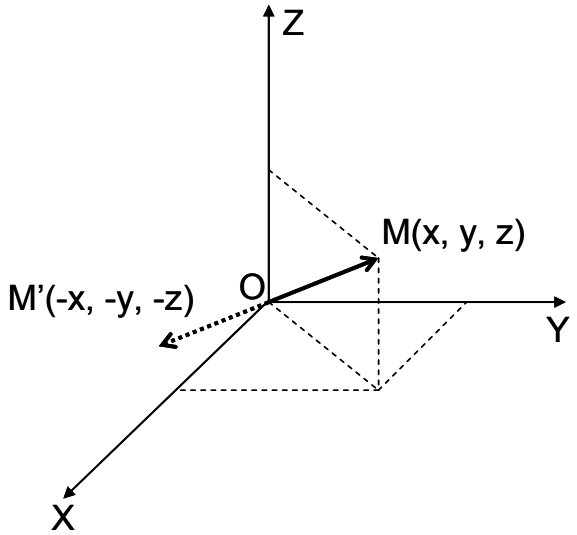


Figure 1: Transformation par symétrie centrale d'une point M(x, y, z) en un point M'(-x, -y, -z).

Par suite, l'expression de la polarisation non linéaire $\vec{P}_{NL}$ s'écrit, par cette transformation :

$$-\vec{P}_{NL} = \varepsilon_0 \vec{\vec{\chi}}^{(2)} : (-\vec{E})(-\vec{E}) = \varepsilon_0 \vec{\vec{\chi}}^{(2)} : \vec{E}\vec{E} = \vec{P}_{NL} \tag{2.2}$$

Par conséquent la seule solution de cette équation est $\vec{\vec{\chi}}^{(2)} = \vec{\vec{0}}$ et le processus SHG est bien interdit dans un tel milieu. En raison de l'interdiction du phénomène au sein des milieux centrosymétriques et de la rupture de la centrosymétrie à une interface entre deux milieux centrosymétriques, cette technique est devenue un outil particulièrement adapté à l'étude des interfaces entre de tels milieux. Cette propriété est importante car elle a fait de la SHG une technique optique particulièrement sensible pour l'étude des interfaces. La plus grande majorité des interfaces étudiées par le passé ont une géométrie plane en raison de la grande simplicité du montage expérimental requis. Récemment, des interfaces de fort rayon de courbure ont été étudiées comme les micelles, les nanoparticules et les liposomes [11, 19, 24, 26]. Cette dernière catégorie permet une première approche des systèmes biomimétiques en milieu liquide. Néanmoins, nous verrons plus loin que l'interface air-eau plane permet, elle aussi, de supporter un système biomimétique.

En tenant compte de la géométrie du système expérimental, Figure 2, le champ électromagnétique à la position $\vec{r}'$ s'écrit sous la forme d'une onde plane harmonique monochromatique de fréquence fondamentale ω :

$$\vec{E}\left(\vec{r}', \omega\right) = E_\omega \left(\hat{X} \cos\gamma + \hat{Y} e^{i\delta} \sin\gamma \right) e^{i\left(\vec{k}.\vec{r}' - \omega t\right)} \tag{2.3}$$

où γ est l'angle de polarisation de l'onde plane incidente et δ la phase relative. La direction de propagation est ici la direction $\overrightarrow{OZ}$ et la direction verticale du laboratoire est $\overrightarrow{OX}$. Par la suite, les expériences seront réalisées à angle de diffusion fixé égal à 90°, c'est-à-dire selon la direction $\overrightarrow{OY}$. La détection à 90° permet d'éviter la transmission du champ incident très intense. Le choix de l'angle est fixé par la simplicité de monter un système de détection à angle droit. Un autre angle de détection changerait les éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité détectés mais pourrait être envisagé en fonction des informations à recueillir sur le système.

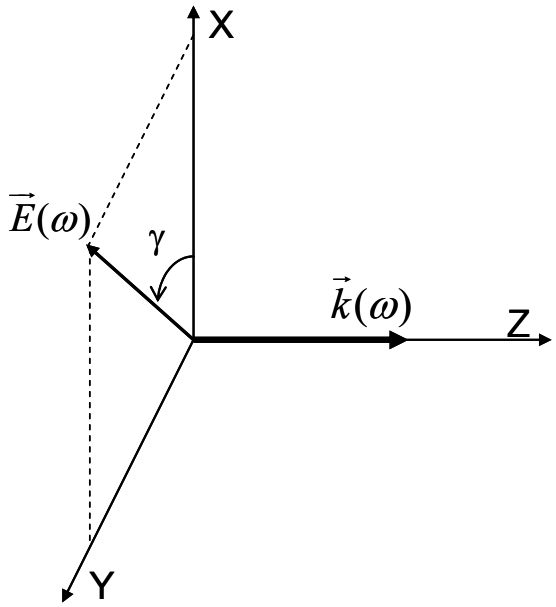


Figure 2 : Référentiel (O, X, Y, Z) du laboratoire.

Cette onde incidente induit dans tout composé moléculaire situé en $\vec{r}\,'$ de l'échantillon un dipôle induit défini par :

$$\vec{p}(\vec{r}\,') = \vec{\mu}_0 + \alpha.\vec{E} + \vec{\beta} : \vec{E}\vec{E} + \vec{\gamma} : \vec{E}\vec{E}\vec{E} + \ldots \qquad (2.4)$$

où $\vec{\mu}_0$ est le dipôle permanent de la molécule suivi des termes du développement en puissance du champ electromagnétique. On s'intéresse particulièrement au dipôle induit à la fréquence harmonique puisqu'il est la source de l'intensité de second harmonique. Avec (2.3) et (2.4) on obtient pour ce dipôle à la deuxième harmonique:

$$\vec{p}(\vec{r}\,',2\omega) = (E_\omega)^2\, \vec{\beta}_L : \left(\hat{X}\hat{X}\cos^2\gamma + \left(\hat{X}\hat{Y} + \hat{Y}\hat{X}\right)e^{i\delta}\sin\gamma\cos\gamma + \hat{Y}\hat{Y}e^{2i\delta}\sin^2\gamma\right)e^{2i\left(\vec{k}.\vec{r}\,'-\omega t\right)} \qquad (2.5)$$

où $\vec{\beta}_L$ est le tenseur d'hyperpolarisabilité dans le référentiel du laboratoire (indice *L*). Ce tenseur est obtenu à partir du tenseur microscopique $\vec{\beta}_m$ défini dans le référentiel de la molécule (indice *m*) faisant apparaître notamment les symétries moléculaires. Le passage d'un référentiel à l'autre se fait par une succession de trois rotations définies selon les angles d'Euler.

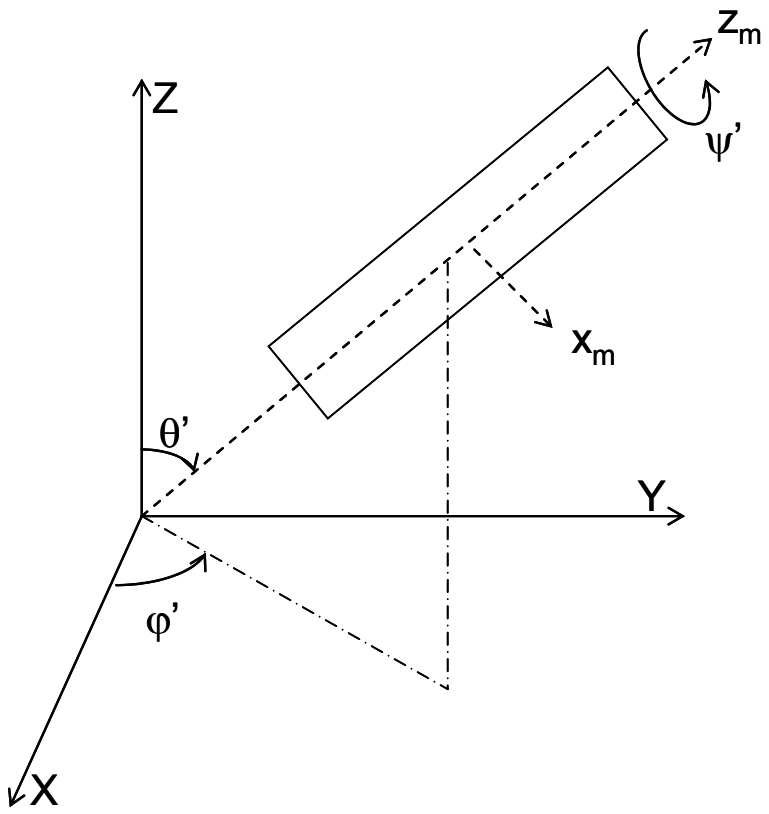


Figure 3: Angles d'Euler

Cela revient à appliquer la matrice de transformation $T(\theta',\phi',\psi')$, voir (2.6), selon les équations (2.7) et (2.8) :

$$T(\theta',\phi',\psi')=\begin{pmatrix} -\sin\psi'\cos\theta'\sin\phi'+\cos\psi'\cos\phi' & \cos\psi'\cos\theta'\sin\phi'+\sin\psi'\cos\phi' & \sin\theta'\sin\phi' \\ -\sin\psi'\cos\theta'\cos\phi'-\cos\psi'\sin\phi' & \cos\psi'\cos\theta'\cos\phi'-\sin\psi'\sin\phi' & \sin\theta'\cos\phi' \\ \sin\psi'\sin\theta' & -\cos\psi'\sin\theta' & \cos\theta' \end{pmatrix} \quad (2.6)$$

$$\vec{\vec{\beta}}_L = T(\theta',\phi',\psi')\,\vec{\vec{\beta}}_m \quad (2.7)$$

$$\beta_{L,IJK} = \sum_{ijk} T_I^i T_J^j T_K^k \beta_{m,ijk} \quad (2.8)$$

Le champ électromagnétique émis à la fréquence de deuxième harmonique est simplement le champ émis par le dipôle $\vec{p}(\vec{r}',2\omega)$, champ dont l'expression est bien connue [27]. Compte tenu de la direction d'observation $\hat{h}=\vec{r}/r$ le champ à la fréquence 2ω dans l'espace, est donné par :

$$\vec{E}\left(\vec{r},\vec{r}',2\omega\right)=\frac{1}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{2\omega n^{(2\omega)}}{c}\right)^2\left[\left(\hat{h}\times\vec{p}\left(\vec{r}',2\omega\right)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iK|\vec{r}-\vec{r}'|}}{|\vec{r}-\vec{r}'|} \tag{2.9}$$

Cette relation est vrai dans l'hypothèse où il n'y a pas d'interactions entre dipôles et pas de diffusion multiple à ω et 2ω. A partir des relations (2.5) et (2.9) l'expression générale du champ électromagnétique de l'onde harmonique est donné par l'équation (2.10), pour la configuration expérimentale choisie, à savoir $\hat{h}=\hat{Y}$ pour notre détection à 90° :

$$\vec{E}\left(\vec{r},\vec{r}',2\omega\right)=\Xi\begin{bmatrix}p_x'\\p_y'\\p_z'\end{bmatrix}=\Xi\begin{bmatrix}\beta_{L,XXX}\cos^2\gamma+2e^{i\delta}\beta_{L,XXY}\sin\gamma\cos\gamma+e^{2i\delta}\beta_{L,XYY}\sin^2\gamma\\\beta_{L,YXX}\cos^2\gamma+2e^{i\delta}\beta_{L,YXY}\sin\gamma\cos\gamma+e^{2i\delta}\beta_{L,YYY}\sin^2\gamma\\\beta_{L,ZXX}\cos^2\gamma+2e^{i\delta}\beta_{L,ZXY}\sin\gamma\cos\gamma+e^{2i\delta}\beta_{L,ZYY}\sin^2\gamma\end{bmatrix} \tag{2.10}$$

avec :

$$\begin{aligned}\Xi&=\frac{\left(E_\omega\right)^2}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{2\omega n^{(2\omega)}}{c}\right)^2\frac{e^{iK|\vec{r}-\vec{r}'|}}{|\vec{r}-\vec{r}'|}e^{2i\vec{k}.\vec{r}'}\\&\xrightarrow[r'\ll r]{}\frac{\left(E_\omega\right)^2}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{4\pi n^{(2\omega)}}{\lambda}\right)^2\frac{e^{iK|\vec{r}|}}{|\vec{r}|}e^{i\left(2\vec{k}-\vec{K}\right).\vec{r}'}\end{aligned} \tag{2.11}$$

La relation (2.11) est développée par l'approximation de champ lointain qui est toujours vraie pour nos mesures SHG. Le facteur $e^{i\omega t}$ a été omis par simplicité. La relation (2.10) tient compte de la permutation des deuxième et troisième indices des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité en raison des permutations intrinsèques du tenseur d'hyperpolarisabilité pour le processus SHG. A partir de l'équation (2.10) on obtient l'intensité instantanée, à la fréquence de second harmonique de la source située à la position $\vec{r}'$, et ayant une hyperpolarisabilité $\ddot{\beta}_m$, mesurée à la position $\vec{r}$ selon la direction $\hat{Y}$.

$$I\left(\vec{r},\vec{r}',2\omega\right)=\frac{\varepsilon_0 c}{n^{(2\omega)}}\vec{E}\left(\vec{r},\vec{r}',2\omega\right)\vec{E}^*\left(\vec{r},\vec{r}',2\omega\right) \tag{2.12}$$

2.2.2 Diffusion hyper Rayleigh.

Pour *N* objets sans interactions, ce qui est le cas d'une suspension liquide très diluée, on applique le principe d'ergodicité. Ce principe établit une équivalence entre la moyenne sur

toutes les orientations possibles prises par une seule molécule au cours du temps et la moyenne des orientations de l'ensemble des molécules à un instant *t*. Ce principe est vrai pour un grand nombre de molécules car dans ce cas. L'intensité de diffusion hyper Rayleigh résulte de la sommation incohérente des champs de second harmonique émis par chaque molécule. On exprime donc l'intensité HRS par la relation (2.13) où $\langle\ \rangle$ symbolise la moyenne faite sur les orientations équiprobables prises par une molécule :

$$I_{HRS} = \frac{\varepsilon_0 c}{n^{(2\omega)}} N \left\langle \vec{E}(\vec{r},\vec{r}',2\omega)\vec{E}^*(\vec{r},\vec{r}',2\omega) \right\rangle \tag{2.13}$$

Dans les conditions expérimentales que nous avons utilisées l'intensité de diffusion hyper Rayleigh, (2.13), se met sous la forme :

$$I_{HRS} = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} N \left\langle \beta_L^2 \right\rangle I^2 = G' N \left\langle \beta_L^2 \right\rangle I^2 \tag{2.14}$$

en posant $G' = 4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3 \Big/ r^2 \varepsilon_0 \lambda^4$. Où I^2 est l'intensité du champ fondamental, *N* la nombre de molécules, $\left\langle \beta_L^2 \right\rangle = \left\langle \beta_{L,XXX}^2 \right\rangle + \left\langle \beta_{L,ZXX}^2 \right\rangle$ est le module de l'hyperpolarisabilité quadratique de la molécule moyenné sur toutes les orientations pour nos conditions de polarisation, à savoir une polarisation linéaire selon l'axe $\overrightarrow{OX}$ $(\gamma = 0)$ et pas de sélection sur la polarisation de l'onde à la fréquence de second harmonique, λ est la longueur d'onde fondamentale, ε_0 est la permittivité électrique du vide, $n_{2\omega}$ est l'indice optique à la fréquence du second harmonique et *c* la vitesse de la lumière dans le vide. En fait, en intégrant sur tous l'espace, on obtient $I_{HRS} = \sigma_{HRS} I^2$, avec $\sigma_{HRS} = 4\pi G' N \left\langle \beta_L^2 \right\rangle$. Expérimentalement il faut tenir compte des facteurs de pertes dans les instruments optiques et les appareils de détection ainsi que de l'angle solide de détection, mais ces facteurs sont généralement inclus dans la constante *G'* devenant *G*. Ainsi, l'onde incidente et l'onde harmonique sont soumises à la loi de Beer-Lambert de sorte que :

$$I_{HRS}^0 = I_{HRS} e^{-[2A_\omega + A_{2\omega}]} \tag{2.15}$$

où A_ω et $A_{2\omega}$ sont respectivement l'absorbance de la solution à la fréquence fondamentale ω et à la fréquence harmonique 2ω. Enfin, le solvant lui-même peut contribuer au signal diffusé à 2ω de sorte que l'intensité HRS pour une solution formé de *M* espèces dans le solvant *S* :

$$I_{HRS}^0 = GI^2 \left(N_S \left\langle \beta_{L,S}^2 \right\rangle + \sum_{i=1}^{M} N_i \left\langle \beta_{L,i}^2 \right\rangle \right) e^{-(2A_\omega + A_{2\omega})} \tag{2.16}$$

N_S et N_i sont respectivement la concentration du solvant et des composés en solution. $\left\langle \beta_{L,S}^2 \right\rangle$ et $\left\langle \beta_{L,i}^2 \right\rangle$ sont respectivement la valeur absolue de l'hyperpolarisabilité du solvant et des composés. L'équation (2.16) contient autant de terme i qu'il y a de composés différents dans la solution. Elle met d'autre par en évidence la proportionnalité de l'intensité avec le nombre de molécules de sorte qu'il suffit de mesurer l'intensité HRS en fonction de différentes concentrations d'un composé en solution pour obtenir directement la valeur absolue de l'hyperpolarisabilité de celui-ci si les autres composants sont connus. Cette mesure nécessite par ailleurs une analyse spectrale et une normalisation, référence interne ou externe, comme décrit dans le paragraphe 2.4.

Si le composé possède plus d'un élément non nul du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique, il est possible de mesurer ces différents éléments en utilisant différentes configurations en polarisation et angle de collection. Nous nous restreindrons essentiellement à des mesures résolues en polarisation.

2.2.3 Diffusion hyper Rayleigh résolue en polarisation.

2.2.3.1 Généralité dans l'approximation dipolaire électrique.

La diffusion hyper Rayleigh résolue en polarisation permet une mesure de différents éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité et ainsi de déterminer la symétrie du composé étudié [28, 29]. Les équations suivantes, obtenue à partir de (2.10) et (2.13), décrivent la

dépendance de l'intensité HRS en fonction de la polarisation du champ incident pour les deux composantes, verticale et horizontale, de la polarisation de l'onde à la fréquence harmonique.

$$\left(I_{HRS}\right)^{V} = GNI^{2}\left(\left\langle \beta_{L,XXX}\beta^{*}_{L,XXX}\right\rangle \cos^{4}\gamma + \left\langle 4\beta_{L,XXY}\beta^{*}_{L,XXY} + 2\,\mathrm{Re}\left(\beta_{L,XXX}\beta^{*}_{L,XYY}\right)\cos 2\delta\right\rangle \cos^{2}\gamma\sin^{2}\gamma + \left\langle \beta_{L,XYY}\beta^{*}_{L,XYY}\right\rangle \sin^{4}\gamma\right) \tag{2.17}$$

$$\left(I_{HRS}\right)^{H} = GNI^{2}\left(\left\langle \beta_{L,ZXX}\beta^{*}_{L,ZXX}\right\rangle \cos^{4}\gamma + \left\langle 4\beta_{L,ZXY}\beta^{*}_{L,ZXY} + 2\,\mathrm{Re}\left(\beta_{L,ZXX}\beta^{*}_{L,ZYY}\right)\cos 2\delta\right\rangle \cos^{2}\gamma\sin^{2}\gamma + \left\langle \beta_{L,ZYY}\beta^{*}_{L,ZYY}\right\rangle \sin^{4}\gamma\right) \tag{2.18}$$

Dans le cas d'une polarisation linéaire (δ=0), seule celle-ci à été utilisée dans ce travail expérimental, l'intensité HRS se réduit à :

$$\left(I_{HRS}\right)^{\Gamma} = a^{\Gamma}\cos^{4}\gamma + b^{\Gamma}\cos^{2}\gamma\sin^{2}\gamma + c^{\Gamma}\sin^{4}\gamma \tag{2.19}$$

où Γ est l'angle de polarisation du champ diffusé à la fréquence de second harmonique. La polarisation verticale (selon la direction $\overrightarrow{OX}$) correspond à un angle $\Gamma = 0°$ et la polarisation horizontale (selon la direction $\overrightarrow{OZ}$) correspond à un angle $\Gamma = 90°$. Les différents coefficients réels sont alors :

$$a^{V} = GNI^{2}\left\langle \beta_{L,XXX}\beta^{*}_{L,XXX}\right\rangle \tag{2.20}$$

$$b^{V} = GNI^{2}\left\langle 4\beta_{L,XXY}\beta^{*}_{L,XXY} + 2\,\mathrm{Re}\left(\beta_{L,XXX}\beta^{*}_{L,XYY}\right)\right\rangle \tag{2.21}$$

$$c^{V} = GNI^{2}\left\langle \beta_{L,XYY}\beta^{*}_{L,XYY}\right\rangle \tag{2.22}$$

$$a^{H} = GNI^{2}\left\langle \beta_{L,ZXX}\beta^{*}_{L,ZXX}\right\rangle \tag{2.23}$$

$$b^{H} = GNI^{2}\left\langle 4\beta_{L,ZXY}\beta^{*}_{L,ZXY} + 2\,\mathrm{Re}\left(\beta_{L,ZXX}\beta^{*}_{L,ZYY}\right)\right\rangle \tag{2.24}$$

$$c^{H} = GNI^{2}\left\langle \beta_{L,ZYY}\beta^{*}_{L,ZYY}\right\rangle \tag{2.25}$$

Chaque intensité (selon *V* ou *H*) ne dépend que de trois paramètres qui seront extraits à partir des ajustements des courbes expérimentales. Ces trois paramètres donnent des informations sur le tenseur d'hyperpolarisabilité et par suite sur la structure moléculaire du composé. Ces paramètres obéissent à des égalités particulières indépendantes du composé. Dans le cadre d'une émission totalement incohérente l'intensité de second harmonique suit la relation suivante [30]:

$$\left(I^0_{HRS}(E=E_{\hat{X}})\right)^V+\left(I^0_{HRS}(E=E_{\hat{Y}})\right)^V=2\left(I^0_{HRS}(E=E_{45°})\right)^V \tag{2.26}$$

En effet, pour un champ à la fréquence harmonique collecté suivant la polarisation verticale les coefficients a^V, b^V et c^V dépendent seulement de la composante X. La composante X de la projection du champ à 45° vaut alors $E/\sqrt{2}$ et donc :

$$\left(I^0_{HRS}\left(E=E_{45°}\right)\right)^V=I/2 \tag{2.27}$$

Avec le même raisonnement :

$$\left(I^0_{HRS}(E=E_{\hat{X}})\right)^V=I \tag{2.28}$$

$$\left(I^0_{HRS}(E=E_{\hat{Y}})\right)^V=0 \tag{2.29}$$

Avec (2.19) et (2.26), il vient:

$$a^V+c^V=2\left(\frac{1}{4}a^V+\frac{1}{4}b^V+\frac{1}{4}c^V\right)\quad soit\quad a^V+c^V=b^V \tag{2.30}$$

De la même façon, en projetant sur la direction horizontale le champ de second harmonique, on obtient :

$$\left(I^0_{HRS}(E=E_{\hat{X}})\right)^H=\left(I^0_{HRS}(E=E_{\hat{Y}})\right)^H=\left(I^0_{HRS}(E=E_{45°})\right)^H \tag{2.31}$$

donnant simplement :

$$2a^H = 2c^H = b^H \tag{2.32}$$

et également :

$$\left(I^0_{HRS}(E = E_{\hat{Y}})\right)^V = \left(I^0_{HRS}(E = E_{\hat{Y}})\right)^H \tag{2.33}$$

donnant :

$$c^V = c^H \tag{2.34}$$

Ainsi, on obtient finalement (2.19) sous la forme :

$$\begin{aligned} I^V &= a^V \cos^2\gamma + c^V \sin^2\gamma \\ I^H &= c^V \end{aligned} \tag{2.35}$$

En particulier, on constate que I^H est indépendant de l'angle γ.

Par ailleurs on définit aussi le rapport de l'intensité de second harmonique polarisée verticalement, pour une polarisation fondamentale horizontale et verticale. Ce rapport est appelé facteur de dépolarisation *D* et est donc défini par :

$$D = \frac{c^V}{a^V} \tag{2.36}$$

Le facteur de dépolarisation permet de caractériser la symétrie microscopique de la molécule lorsque celle-ci posséde peu d'éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité non nuls comme par exemple dans le cas d'une molécule plane de symétrie C_{2v} qui possède seulement 2 éléments non nuls et indépendants hors résonance [8, 31]. Le rapport *D* peut alors prendre toutes les valeurs comprises entre 0.2 et 0.67 en fonction du rapport de ces deux éléments [30]. Ces deux extrêmes correspondent respectivement à une conformation dipolaire et une conformation octupolaire. Dans le cas dipolaire le rapport des éléments microscopiques est en faveur d'un seul élément prépondérant alors que ce rapport tend vers l'unité pour les

molécules octupolaires dont un calcul détaillé montre qu'un seul élément non nul indépendant subsiste dans ce cas, hors résonance. La simulation théorique de ces deux configurations extrêmes est reporté sur la Figure 4 pour I^V et I^H.

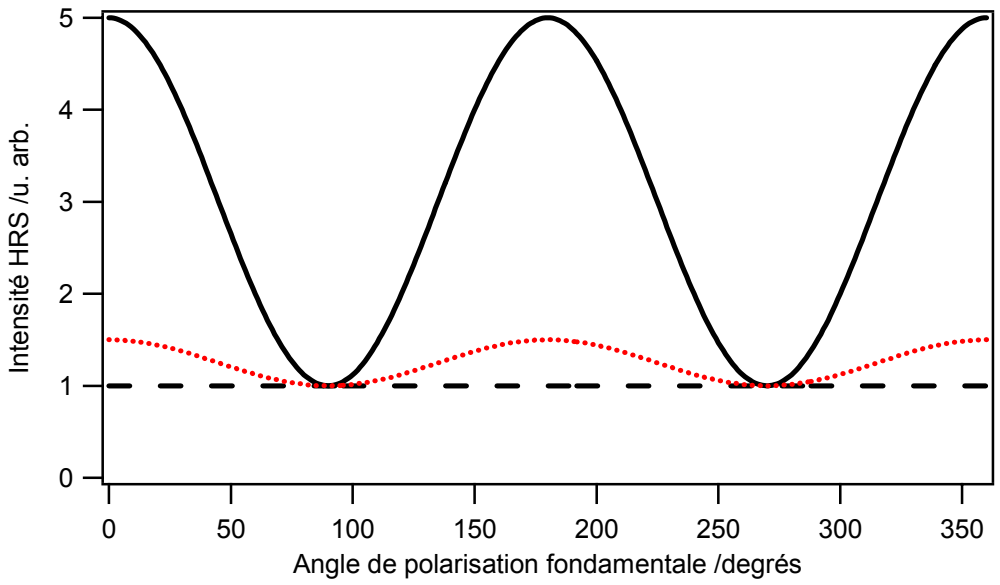


Figure 4: Intensité HRS théorique d'une molécule ayant un facteur de dépolarisation dipolaire (D=0.2) pour une polarisation de l'onde harmonique verticale (trait plein) et horizontale (tirets) et intensité HRS théorique d'une molécule ayant un facteur de dépolarisation octupolaire (D=0.67) pour une polarisation de l'onde harmonique verticale (trait pointillé) et horizontale (tirets). On a fixé $I^H = 1$ *dans les deux cas.*

Cette caractérisation permet, par exemple, de mesurer l'importance relative des différents éléments du tenseur pour les molécules et leurs modifications possibles lors d'interactions moléculaires.

.

2.2.3.2 Cas particulier de symétrie : la molécule linéaire.

Une molécule de géométrie linéaire plane ou cylindrique possède un tenseur d'hyperpolarisabilité dominé par deux éléments non nuls indépendants. Dans ce cas particulier ces éléments sont $\beta_{m,zzz}$ et $\beta_{m,zxx}$, en prenant pour axe moléculaire l'axe Oz. A partir des relations (2.6), (2.8), (2.17), (2.30), (2.32) le calcul du coefficient de dépolarisation *D* d'une molécule dont seul l'élément $\beta_{m,zzz}$ domine peut être opéré. En effet :

$$
\begin{aligned}
a^V &= GNI^2 \left\langle \beta_{L,XXX} \beta^*_{L,XXX} \right\rangle \\
&= \frac{GNI^2}{8\pi^2} \iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi \\ \phi=0\to2\pi \\ \psi=0\to2\pi}} T^z_X T^z_X T^z_X \beta_{m,zzz} T^z_X T^z_X T^z_X \beta^*_{m,zzz} \sin\theta d\theta d\phi d\psi \\
&= \frac{GNI^2}{7} \left| \beta_{m,zzz} \right|^2
\end{aligned}
\tag{2.37}
$$

$$
\begin{aligned}
c^V &= GNI^2 \left\langle \beta_{L,XYY} \beta^*_{L,XYY} \right\rangle \\
&= \frac{GNI^2}{8\pi^2} \iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi \\ \phi=0\to2\pi \\ \psi=0\to2\pi}} T^z_X T^z_Y T^z_Y \beta_{m,zzz} T^z_X T^z_Y T^z_Y \beta^*_{m,zzz} \sin\theta d\theta d\phi d\psi \\
&= \frac{GNI^2}{35} \left| \beta_{m,zzz} \right|^2
\end{aligned}
\tag{2.38}
$$

d'où : $D_{dip} = \dfrac{c^V}{a^V} = 0.2$

Ce calcul simple permet de fixer une valeur théorique comme étalon de la linéarité d'une molécule et ainsi de pouvoir quantifier la modification de la structure au cours d'un processus quelconque. Ce calcul, ainsi que ceux qui pourraient être opérés pour d'autres groupes de symétries, est bien connu [32, 33]. Ainsi pour une molécule octupolaire $D_{oct} = 2/3$, voir (2.39) et (2.40). Ce cas de molécule octupolaire correspond à un rapport des deux éléments microscopiques non nuls égal à -1. Dans ce cas la partie plane de la molécule n'est plus négligeable devant un axe particulier. Dans le cadre du modèle proposé par Zyss *et al.* pour le groupe de symétrie C_{2v} D a une valeur comprise entre D_{dip} et D_{oct} [8].

$$
\begin{aligned}
a^V &= GNI^2 \left\langle \beta_{L,XXX} \beta^*_{L,XXX} \right\rangle \\
&= \frac{GNI^2}{8\pi^2} \iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi \\ \phi=0\to2\pi \\ \psi=0\to2\pi}} \left(T^z_X T^z_X T^z_X \beta_{m,zzz} + T^z_X T^x_X T^x_X \beta_{m,zxx} \right) \left(T^z_X T^z_X T^z_X \beta^*_{m,zzz} + T^z_X T^x_X T^x_X \beta^*_{m,zxx} \right) \sin\theta d\theta d\phi d\psi \\
&= \frac{4GNI^2}{35} \left| \beta^2_{m,zzz} \right|
\end{aligned}
\tag{2.39}
$$

$$
\begin{aligned}
c^V &= GNI^2 \left\langle \beta_{L,XYY} \beta^*_{L,XYY} \right\rangle \\
&= \frac{GNI^2}{8\pi^2} \iiint_{\substack{\theta=0\to\pi \\ \phi=0\to2\pi \\ \psi=0\to2\pi}} \left(T^z_X T^z_Y T^z_Y \beta_{m,zzz} + T^z_X T^x_Y T^x_Y \beta_{m,zxx} \right) \left(T^z_X T^z_Y T^z_Y \beta^*_{m,zzz} + T^z_X T^x_Y T^x_Y \beta^*_{m,zxx} \right) \sin\theta d\theta d\phi d\psi \quad (2.40) \\
&= \frac{8GNI^2}{105} \left| \beta^2_{m,zzz} \right|
\end{aligned}
$$

Pour des cas simples de symétrie moléculaire, une interprétation microscopique directe des mesures d'intensité est possible. Ce travail sera raffiné par la suite pour des systèmes étendues comme des assemblages de molécules.

2.3 Système expérimental

2.3.1 Laser et optique

Pour réaliser les expériences de diffusion hyper Rayleigh on utilise comme source un oscillateur femtoseconde Titane-Saphir cadencé à 80 MHz (Coherent MIRA 900) pompé par un laser continu délivrant une puissance de 5 W à 532 nm. En sortie d'oscillateur on obtient des impulsions d'une durée d'environ 150 fs. Il est possible de travailler dans deux zones spectrales différentes : 750-900 nm avec un optimum à 800 nm et 950-1050 nm avec un optimum à 970 nm. Pour ces études le laser est utilisé dans la première zone spectrale autour de 800 nm. La polarisation du faisceau incident à la fréquence fondamentale ω est contrôlée par une lame demi onde. Cette lame est montée sur une platine de rotation motorisée et automatisée avec une précision au dixième de degré. Le laser traverse ensuite un filtre coloré pour bloquer tout signal à la fréquence 2ω potentiellement généré par les éléments optiques précédant l'échantillon et les résidus du faisceau de pompe à 532 nm, voir Figure 5. En particulier, la lame demi onde a une forte section efficace pour la génération de second harmonique car elle est constituée d'une lame de quartz cristalline.

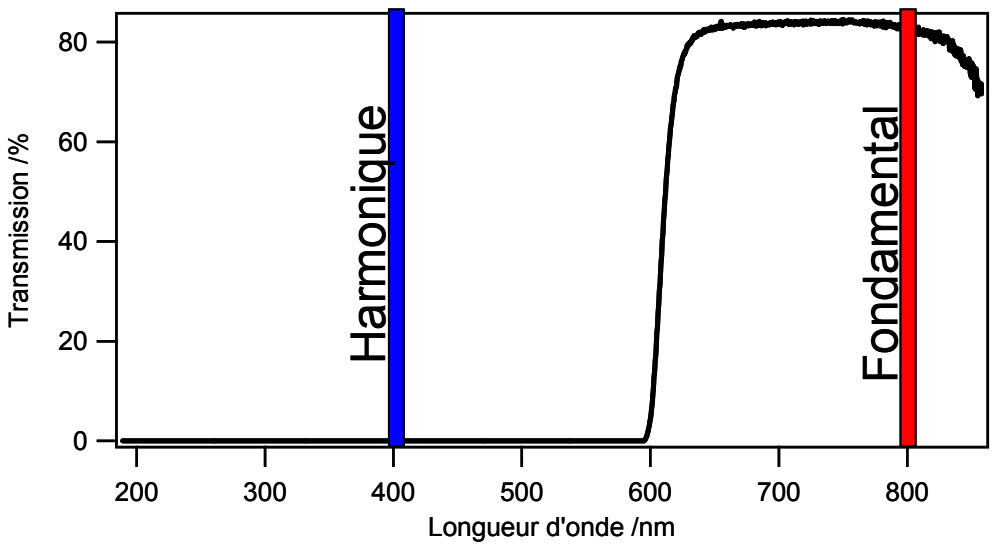


Figure 5 : Transmission filtre « rouge » (Melles Griot, 03 FCG 115).

Un hacheur optique, Stanford Research Systems (SR540), permet de réaliser un comptage de photon à porte dans le but d'éliminer en temps réel le bruit de fond, le principe étant détaillé dans le paragraphe 2.3.2. Le hacheur optique est une roue, alternativement et régulièrement pleine et évidée, tournant à une fréquence choisie dans la gamme accessible 4-3000 Hz. Le faisceau est focalisé avec un objectif de microscope (Melles Griot, A.N.=0.3 et grossissement $\times 16$) dans une cellule de spectrométrie à face de quartz Suprasil de section carré de coté 1 cm pouvant contenir un peu plus de 3 mL de solution (Hellma). Pour limiter la réabsorption à 2ω, le point de focalisation est placé à proximité de la paroi dans la direction de collection (90°). L'intensité émise à 90° est collectée par une lentille, $\phi = 50mm$ et $f = 50mm$, et injecté dans un monochromateur On sélectionne la diffusion hyper Rayleigh en éliminant la diffusion linéaire avec un filtre coloré bleu-vert passe-bande, voir Figure 6. Un analyseur en sortie de lentille permet de sélectionner la polarisation du champ émis à 2ω et ainsi de mesurer différentes composantes du tenseur d'hyperpolarisabilité.

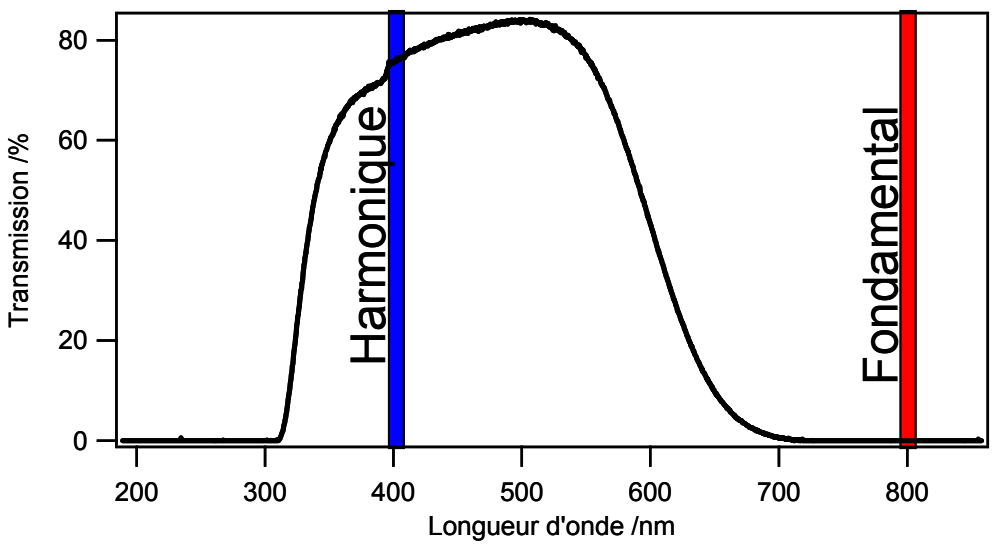


Figure 6 : Transmission filtre coloré bleu-vert (Melles Griot RG28).

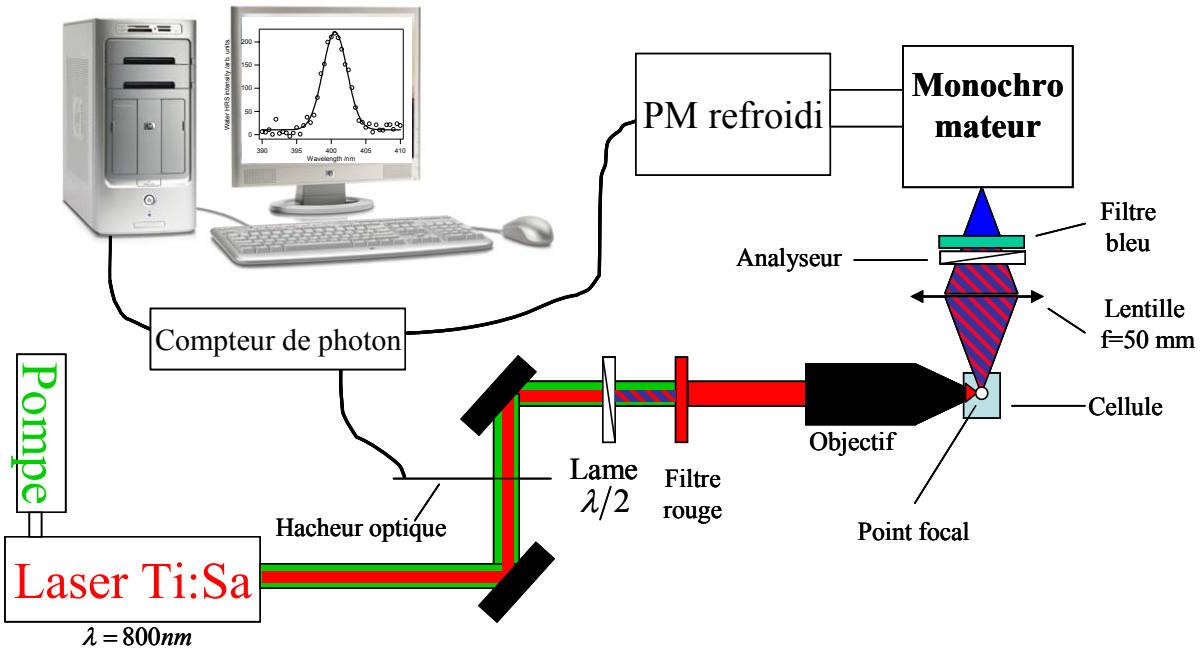


Figure 7: Schéma expérimental pour la diffusion hyper Rayleigh

2.3.2 Appareils de détection

Le monochromateur (ACTON-SP 150) est composé d'un réseau blasé à 500 nm gravé de 1200 traits/mm, d'une résolution max de 0.1 nm, et efficace sur le spectre visible de 350 à 850 nm. Il permet une sélection spectrale de la diffusion non linéaire dans la zone spectrale

correspondant à la raie HRS. Le signal ainsi sélectionné est détecté par un photomultiplicateur refroidi (Hamamatsu R943-02) puis envoyé dans un compteur de photon (Stanford Research Systems SR400).

Le compteur de photon réalise du comptage à porte à 2 voies, l'une pour le signal total, l'autre pour le bruit, voir Figure 8. On compte ainsi alternativement le bruit et la somme signal + bruit et l'on obtient le signal par soustraction. On choisit également, avec un discriminateur, le seuil de l'intensité du signal. Le rapport signal sur bruit est optimisé en ajustant le seuil du discriminateur.

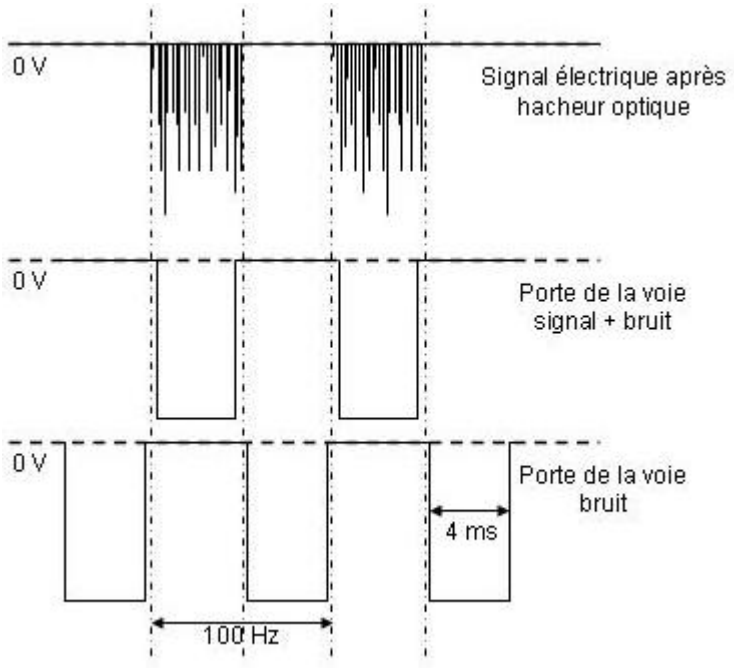


Figure 8 : Comptage de photon à porte pour une fréquence de hacheur optique de 100 Hz

2.3.3 Mesure de spectre d'absorption UV-visible

Comme l'absorption aux longueurs d'onde fondamentale et harmonique jouent un rôle important dans la mesure de l'intensité HRS, voir (2.15), il est nécessaire de caractériser les échantillons par spectrométrie d'absorption. Un système commercial, indépendant de la ligne HRS, est utilisé pour faire les mesures du spectre d'absorption UV-visible des solutions que l'on étudie par HRS (Avantes). La source lumineuse est une lampe blanche Deutérium Tungstène Halogène (Ocean optics DT-MINI) sur le spectre 250-800 nm, voir Figure 9. Le faisceau est envoyé par une fibre optique large bande (Ocean optics CUV-UV) dans la même

cellule que l'on utilise pour les mesures d'HRS. La lumière transmise est collecté avec une fibre optique identique à celle d'entrée et analysée avec un spectromètre à barrette CCD (Ocean optics USB2000). On obtient ainsi le spectre d'absorbance de la solution en ayant préalablement enregistré comme référence le spectre d'absorbance du solvant seul.

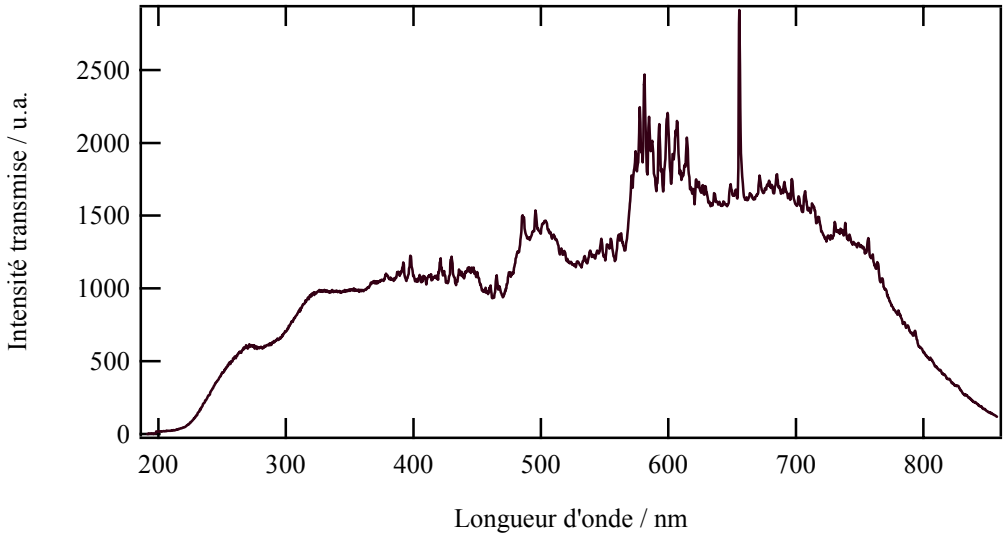


Figure 9 : Spectre de la lampe blanche Deutérium Tungstène Halogène (Ocean optics DT-MINI).

Le coefficient d'absorption de la solution est ainsi déduit sur toute la fenêtre spectrale. En effet ce coefficient est relié à l'absorbance A_ω par la relation :

$$A_\omega = \sigma_\omega N l \tag{2.41}$$

où σ_λ est le coefficient d'extinction de la solution à la longueur d'onde λ, N est la concentration de la solution et l le chemin optique de solution traversée. Cette mesure permet de corriger l'intensité de diffusion hyper Rayleigh et de comparer la mesure de ce coefficient d'extinction directement avec celle obtenue par l'ajustement de la relation (2.16) sur les mesures HRS, voir paragraphe 2.2.2. Ce contrôle valide la consistance des données obtenues par les deux méthodes.

2.4 Références externe et interne

La diffusion hyper Rayleigh décrite par la relation (2.16) permet par une simple méthode de dilution de mesurer l'hyperpolarisabilité absolue de la molécule si l'on s'affranchit du facteur de proportionnalité *G* et de l'absorption déterminée précédemment. Il existe deux méthodes très utilisées que l'on appelle méthodes de la référence externe et de la référence interne [6].

La référence externe consiste à normaliser la mesure souhaitée par une mesure sur une solution d'une autre molécule d'hyperpolarisabilité et de concentration connues. Dans ce cas le résultat que l'on obtient est :

$$\frac{I_{HRS}^{produit}}{I_{HRS}^{reference}} = \frac{\left\langle N_{Sp}\beta_{Sp}^2 + N_p\beta_p^2 \right\rangle}{\left\langle N_{Sr}\beta_{Sr}^2 + N_r\beta_r^2 \right\rangle} e^{-(A_{2\omega}^p + A_{\omega}^p)+(A_{2\omega}^r + A_{\omega}^r)} = A + B\left\langle \beta_p^2 \right\rangle N_p \tag{2.42}$$

Avec :

$$A = \frac{\left\langle N_{Sp}\beta_{Sp}^2 \right\rangle}{\left\langle N_{Sr}\beta_{Sr}^2 + N_r\beta_r^2 \right\rangle} e^{-(A_{2\omega}^p + A_{\omega}^p)+(A_{2\omega}^r + A_{\omega}^r)} \tag{2.43}$$

$$B = \frac{e^{-(A_{2\omega}^p + A_{\omega}^p)+(A_{2\omega}^r + A_{\omega}^r)}}{\left\langle N_{Sr}\beta_{Sr}^2 + N_r\beta_r^2 \right\rangle} \tag{2.44}$$

où *p* et *r* désignent respectivement le produit étudié et la référence utilisée. *S* désigne le solvant. *A* est donc connue et permet de déterminer $B\left\langle \beta_p^2 \right\rangle$. L'hyperpolarisabilité du produit étant la seule inconnue, cette mesure nécessite la détermination de la pente et de l'ordonnée à l'origine de la droite obtenue par dilution des molécules de produit. Une molécule référence souvent utilisée est la *para*-Nitroaniline (pNA) solubilisée dans du méthanol avec une concentration usuelle de 0.1 M [22]. La référence interne consiste quant à elle à utiliser comme référence le solvant pur.

$$\frac{I_{HRS}^{produit}}{I_{HRS}^{solvant}} = \frac{\left\langle N_S\beta_S^2 + N_p\beta_p^2 \right\rangle}{\left\langle N_S\beta_S^2 \right\rangle} e^{-(A_{2\omega}^p + A_{\omega}^p)} = A' + B'\left\langle \beta_p^2 \right\rangle N_p \tag{2.45}$$

où :

$$A' = e^{-(A_{2\omega}^p + A_{\omega}^p)} \tag{2.46}$$

$$B' = \frac{e^{-(A_{2\omega}^p + A_{\omega}^p)}}{\left\langle N_S\beta_S^2 \right\rangle} \tag{2.47}$$

La technique de référence externe a l'énorme avantage de permettre de faire appel à une molécule de référence de très forte réponse non linéaire par rapport aux solvants dont la réponse de second harmonique est de l'ordre de cent fois inférieure à celle de la pNA, voir chapitre 3 [6]. En contrepartie la mesure de la référence interne s'affranchit des fortes erreurs expérimentales obtenues pour les valeurs d'hyperpolarisabilité de molécules comme la pNA en donnant une mesure directe de l'ordonnée à l'origine. La possibilité de mesurer le solvant seul permet également de connaître son facteur dépolarisation défini au paragraphe 2.2.3.1. Ces valeurs seront indispensables lors des mesures en polarisation pour extraire les valeurs réelles de D des systèmes étudiées dans ce travail.

2.5 Conclusion

La technique HRS pour caractériser les molécules est bien connue et permet de mesurer facilement l'hyperpolarisabilité d'un composé. Cette quantité caractérise l'efficacité de la réponse optique non linéaire de la molécule. L'étude de cette intensité HRS en fonction de la polarisation du champ fondamental permet d'étudier directement la symétrie des molécules. Cette étude en symétrie dépend fortement de la configuration expérimentale mais pour les cas de molécules simples ayant peu d'éléments d'hyperpolarisabilité microscopiques non nuls indépendants, la mesure de ces éléments permet de suivre l'évolution de systèmes lors de phénomènes complexes comme la formation d'agrégats. La mise en place d'un formalisme initial de la réponse HRS de composés moléculaires permettra plus tard une

évolution de la théorie de la réponse HRS pour des systèmes structurés ou des molécules en interactions avec d'autres composés, voir chapitre 4. Ces études développées dans les chapitres 3 et 5 constituent le cœur de ce travail.

Bibliographie

[1] C. Xu, J. B. Shear and W. W. Webb, *Anal. Chem.*, **69,** (1997) 1285

[2] R. W. Terhune, P. D. Maker and C. M. Savage, *Phys. Rev. Lett.*, **14,** (1965) 681

[3] S. Kielich, J. R. Lalanne and F. B. Martin, *Phys. Rev. Lett.*, **26,** (1971) 1295

[4] S. Kielich, J. R. Lalanne and F. B. Martin, *Acta Phys. Pol.*, **A41,** (1972) 479

[5] S. Kielich, M. Kozierowski, Z. Ozgo and R. Zawodny, *Acta Phys. Pol.*, **A45,** (1974) 9

[6] K. Clays and A. Persoons, *Phys. Rev. Lett.*, **66,** (1991) 2980

[7] T. Verbiest, K. Clays, A. Persoons, F. Meyers and J. L. Brédas, *Opt. Lett.*, **18,** (1993) 525

[8] J. Zyss, T. C. Van, C. Dhenaut and I. Ledoux, *Chem. Phys.*, **177,** (1993) 281

[9] P. K. Schmidt and G. W. Rayfield, *Applied Optics*, **33,** (1994) 4286

[10] S. Ghosh, A. Krishnan, P. K. Das and S. Ramakrishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **125,** (2003) 1602

[11] G. Revillod, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *J. Phys. Chem. B*, **109,** (2005) 5383-5387

[12] E. C. Y. Yan, Y. Liu and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **102,** (1998) 6331

[13] E. C. Y. Yan and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **103,** (1999) 6056

[14] E. C. Y. Yan and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **104,** (2000) 6686

[15] E. C. Y. Yan, Y. Liu and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **105,** (2001) 8531

[16] A. Srivastava and K. B. Eisenthal, *Chem. Phys. Lett.*, **292,** (1998) 345

[17] E. C. Y. Yan and K. B. Eisenthal, *Biophys. Journal*, **79,** (2000) 898

[18] X. Shang, Y. Liu, E. C. Y. Yan and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **105,** (2001) 12816

[19] Y. Liu, E. C. Y. Yan, X. Zhao and K. B. Eisenthal, *Langmuir*, **17,** (2001) 2063

[20] Y. Liu, E. C. Y. Yan and K. B. Eisenthal, *Biophys. J.*, **80,** (2001) 1004

[21] E. C. Hao, G. C. Schatz, R. C. Johnson and J. T. Hupp, *J. Chem. Phys.*, **117,** (2002) 5963

[22] J. Nappa, *Diffusion hyper Rayleigh de nanoparticules métalliques*, Université Claude Bernard-Lyon 1, Lyon, 2004

[23] J. Nappa, G. Revillod, J.-P. Abid, I. Russier-Antoine, C. Jonin, E. Benichou, H. Girault and P.-F. Brevet, *Faraday discussion*, **125,** (2004) 145

[24] J. Nappa, G. Revillod, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *Phys. Rev. B*, **71,** (2005) 161407

[25] J. Nappa, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *Chem. Phys. Lett.*, **415,** (2005) 246

[26] J. Nappa, G. Revillod, G. Martin, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *Recent Res. Devel. Physical. Chem.*, **7,** (2004) 439

[27] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, Wiley & sons, New york, 1925

[28] J. L. Oudar and J. Zyss, *Phys. Rev. A*, **26,** (1982) 2016

[29] J. L. Oudar, *J. Chem. Phys.*, **67,** (1977) 446

[30] S. Brasselet and J. Zyss, *J. Opt. Soc. Am. B*, **15,** (1998) 257

[31] D. A. Kleinman, *Phys. Rev.*, **126,** (1962) 1977

[32] R. Bersohn, Y. H. Pao and H. L. Frisch, *J. Chem. Phys.*, **45,** (1966) 3184

[33] S. J. Cyvin, J. E. Rauch and J. C. Decius, *J. Chem. Phys.*, **43,** (1965) 4083

Chapitre 3 : Symétrie et environnement.

3.1 Introduction.

Les études par diffusion hyper Rayleigh (HRS) résolue en polarisation de molécules en solution permettent d'obtenir des informations sur les composantes du tenseur d'hyperpolarisabilité quadratique dans le référentiel du laboratoire et ainsi sur les composantes microscopiques du tenseur d'hyperpolarisabilité quadratique, voir chapitre 2 [1-3]. Ce tenseur d'hyperpolarisabilité quadratique est caractéristique de l'efficacité de la réponse de génération de second harmonique de la molécule ainsi que de sa symétrie. A chaque symétrie moléculaire correspond un nombre d'éléments non nuls du tenseur d'hyperpolarisabilité quadratique microscopique [4-6]. Pour des symétries possédant un ou deux éléments non nuls indépendants le calcul analytique du facteur de dépolarisation est possible, voir chapitre 2 et paragraphe 3.3.1, et permet de caractériser la symétrie de la molécule.

Quand des mesures sont faites sur des molécules en milieu liquide, l'interaction entre les molécules de solvant et les molécules solubilisées modifie la valeur relative des composantes du tenseur d'hyperpolarisabilité. Les interactions électrostatiques entre les molécules de solvant et les molécules solubilisées influent donc directement sur la symétrie du tenseur d'hyperpolarisabilité. Dans un milieu liquide, la concentration en molécules de solvant est très forte par rapport à celle des molécules solubilisées. En effet, pour une solution 1 mM en soluté, le rapport atteint 55.10^3 pour l'eau par exemple. Les molécules solubilisées sont donc dispersées au milieu de molécules de solvant qui induisent un champ de polarisation particulier pour cette molécule. Des mesures comparatives d'hyperpolarisabilité de molécules en phase gazeuse et en phase liquide ont démontré ce phénomène [7-10]. L'hyperpolarisabilité effective des molécules en milieu liquide est de plus multipliée par un facteur compris entre 0.5 et 2 appelé facteur de champ local. Cette augmentation reste faible mais néanmoins non négligeable. Ces effets démontrent également l'importance du choix du solvant pour la comparaison des résultats expérimentaux car chaque solvant à une influence

différente en fonction de ses propriétés, notamment de sa polarité. Notons enfin que ce champ de polarisation induit par le solvant est à l'origine de la réponse HRS de molécules centrosymétriques ne possédant pas théoriquement de réponse de second harmonique [11-13]. Dans ce cas l'écart à la centrosymétrie n'est dû qu'à la présence du champ de polarisation induit par les molécules de solvant entourant la molécule centrosymétrique. L'évaluation de la modification des composantes du tenseur d'hyperpolarisabilité par le solvant reste difficile à appréhender puisque les variations de la concentration du solvant impliquent des problèmes d'hétérogénéité de la solution. Cette influence du solvant peut cependant être étudiée pour une même molécule solubilisée dans différents solvants [14, 15].

L'influence de l'environnement peut aussi être étudiée par l'introduction dans la solution de composés entrant en interaction avec la molécule solubilisée. Le suivi de cette molécule sonde par HRS résolue en polarisation permet alors d'enregistrer l'influence des composés ajoutés à la solution. Le cristal violet, une molécule de symétrie octupolaire, a été choisie comme molécule sonde en raison de ces propriétés déjà connues [16, 17]. Le surfactant anionique sodium dodecyl sulfate (SDS) a été utilisé pour interagir avec la molécule sonde. La molécule de SDS est une molécule amphiphile. Au dessus d'une concentration critique appelée concentration micellaire critique (CMC) le SDS forme des micelles. Une description simple de ces micelles est basées sur des sphères à surface chargée [18, 19]. La variation de l'hyperpolarisabilité et du facteur de dépolarisation en fonction de la concentration en SDS et donc en fonction de la nature de l'environnement a été étudiée pour démontrer la capacité de la technique HRS à extraire de faibles variations du tenseur d'hyperpolarisabilité en fonction de l'environnement.

3.2 Solvants.

L'utilisation de différents solvants pour nos expériences aussi diverses que des molécules ou des nanoparticules métalliques seules, des assemblages moléculaires ou des nanoparticules métalliques fonctionnalisées impose une connaissance approfondie de ces solvants ainsi que le comportement du mélange de ces solvants dans le cas des assemblages moléculaires, ce que nous verrons au chapitre suivant [17, 20-23]. La sensibilité du système expérimental permet l'accès à la réponse HRS de ces solvants. Cette mesure conduit aussi à la

possibilité d'utiliser la méthode de la référence interne comme normalisation de nos résultats sur les valeurs d'hyperpolarisabilité. Cette utilisation de la mesure de la réponse HRS des solvants comme normalisation nécessite la connaissance de l'intensité HRS relative et de la symétrie de ces molécules par l'intermédiaire du facteur de dépolarisation pour pouvoir extraire les éléments du tenseur microscopique d'hyperpolarisabilité de la molécule solubilisée. Ces éléments sont considérés comme réels par la suite en raison de la transparence de ces milieux dans la gamme spectrale utilisée. La réponse HRS globale de la solution est la superposition de la réponse des différents éléments de celle-ci. En utilisant les valeurs absolues de la littérature des hyperpolarisabilités des solvants de référence, l'hyperpolarisabilité des composés étudiés a été obtenue. Cependant, les fréquences de résonance des molécules jouent un rôle important. L'hyperpolarisabilité mesurée dépend de la longueur d'onde de la source laser et de la longueur d'onde d'absorption des différentes résonances de la molécule. On utilise donc usuellement l'hyperpolarisabilité statique β_0 de la molécule dont l'expression calculée dans le cadre d'un modèle à deux niveaux, vaut [24]:

$$\beta_0 = \frac{\left(\omega_{res}^2 - \omega^2\right)\left(\omega_{res}^2 - 4\omega^2\right)}{\omega_{res}^4}\beta \qquad (3.1)$$

La relation (3.1) n'est vraie que pour $\omega \ll \omega_{res}$. Quand on s'approche des résonances, il faut tenir compte d'expressions plus compliquées calculables numériquement faisant intervenir les largeurs des bandes de résonances [25]. Pour le propos de notre travail seul les mesures expérimentales directes des hyperpolarisabilités sont données, les fréquences de résonances étant généralement proche des fréquences utilisées. L'hyperpolarisablité mesurée est donc éventuellement exaltée lorsque la longueur d'onde, fondamentale ou harmonique, utilisée pour la mesure est proche des bandes d'absorption de la molécule. Ces résonances peuvent êtres obtenues simplement par spectroscopie d'absorption UV-visible.

3.2.1 Mesures HRS.

Les solvants utilisés au cours de ce travail de thèse sont l'eau, le méthanol, l'éthanol, le chloroforme, le dichlorométhane et le toluène. Leur formule chimique est reportée dans le Tableau 1. L'eau est choisie comme référence absolue. Ce choix est motivé par la fréquente utilisation de l'eau comme solvant au cours de ce travail et lors des expériences impliquant des nanoparticules menées par notre groupe. La valeur choisie comme valeur de référence pour le module de l'hyperpolarisabilité de l'eau est [26] :

$$\beta_{eau} = \sqrt{\left\langle \beta^2_{L,XXX} \right\rangle + \left\langle \beta^2_{L,ZXX} \right\rangle} = 0.56 \times 10^{-30} esu \qquad (3.1)$$

Ce choix est motivé par l'utilisation régulière de cette référence pour des mesures moléculaires et pour les nanoparticules. L'eau utilisée est de l'eau ultra pure Millipore de résistivité 18.2 $\Omega.cm$. Pour chaque solvant la raie HRS est enregistrée ainsi que l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de la polarisation du champ à la longueur d'onde fondamentale. Seule les raies HRS de l'eau et du toluène sont reportées pour illustrer l'importance de l'enregistrement de la raie HRS complète pour s'affranchir d'un éventuel fond de fluorescence, voir Figure 1 et Figure 2. La raie HRS de l'eau peut être ajustée par une simple fonction Gaussienne avec un fond d'intensité nulle. L'ajustement par une fonction Gaussienne donne l'intensité de la raie, alors que la largeur spectrale est déterminée par la largeur spectrale du laser, la résolution du monochromateur étant de 1 nm environ. La raie HRS du toluène par contre est superposée à un fond de fluorescence important. Ce fond correspond à l'émission de fluorescence du toluène à la suite d'une absorption multiphotonique. Le maximum d'absorption du toluène est autour de 250 nm avec une absorption directe de 3 photons à 800 nm (800/3~266nm), voir Figure 3. Pour extraire l'intensité HRS, il suffit d'ajuster la raie avec la somme d'une Gaussienne et d'un polynôme (ici une simple droite) car l'émission de fluorescence et la diffusion hyper Rayleigh ne sont pas corrélées.

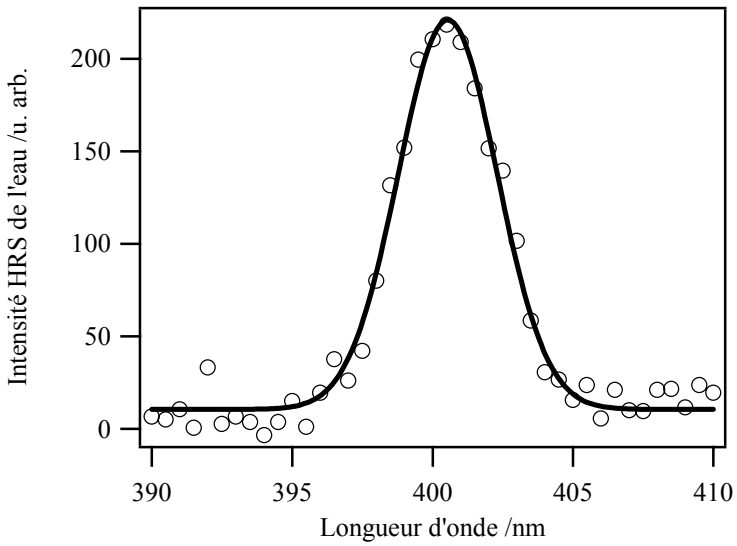


Figure 1 : Raie HRS de l'eau pour une longueur d'onde incidente de 802 nm.

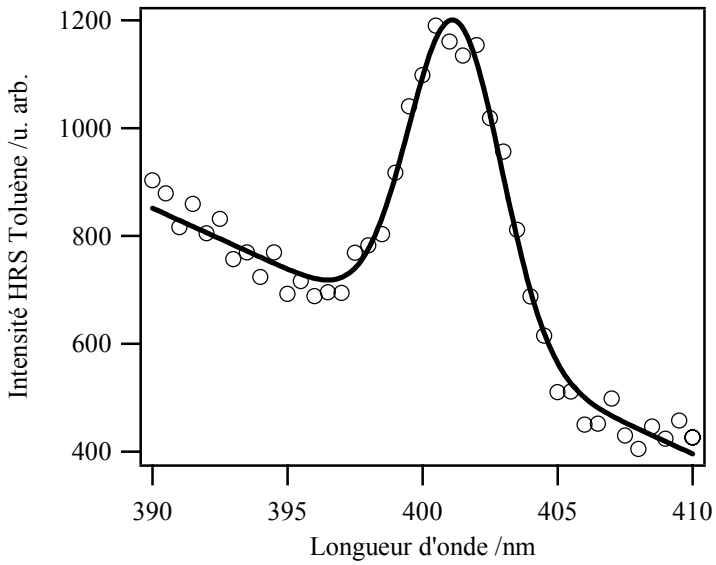


Figure 2: Raie HRS du toluène pour une longueur d'onde incidente de 802 nm.

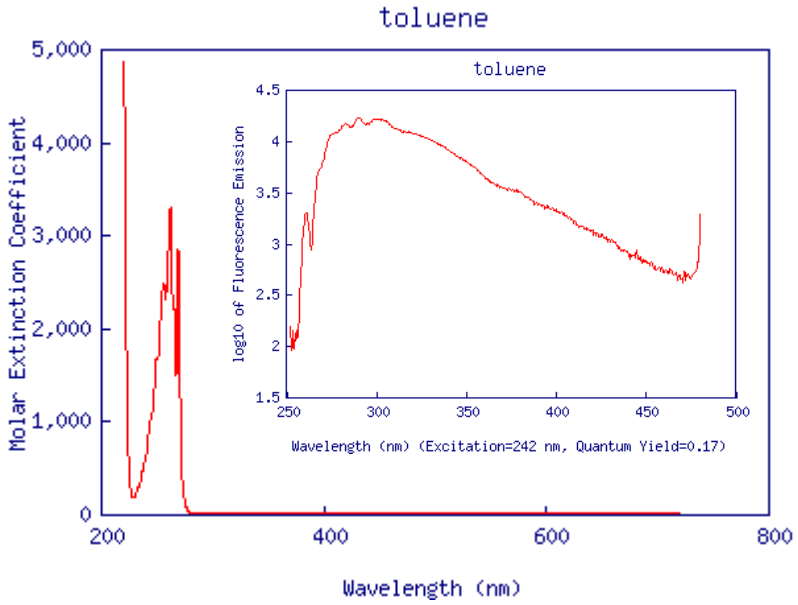


Figure 3 : Spectre d'absorption du toluène. Spectre d'émission de fluorescence du toluène pour une longueur d'onde d'excitation de 242 nm (encart). (http://omlc.ogi.edu)

Les intensités relatives obtenues par ce traitement pour les différents solvants sont reportées dans le Tableau 2. Pour comparer les intensités HRS de deux composés il suffit d'utiliser le produit de la concentration de la molécule et du module au carré de l'hyperpolarisabilité quadratique, l'intensité HRS étant de la forme :

$$I_{HRS} = GN\left\langle \beta^2 \right\rangle I^2 \qquad (3.2)$$

G contient toutes les constantes et les facteurs correctifs expérimentaux, I est l'intensité fondamentale, N la concentration de la molécule et β l'hyperpolarisabilité quadratique de la molécule. Le facteur $N\left\langle \beta^2 \right\rangle$ permet donc d'obtenir l'intensité relative de différents composés pour le même système expérimental. Ce facteur et la concentration sont reportés pour chacun des solvants mesurés dans le Tableau 1 et le Tableau 2. Toutes ces valeurs sont reportées en unités électrostatiques (esu=cm^4 $statvolt^{-1}$) correspondant au système en vigueur dans les unités cgs. La conversion dans le système international ($C.m^3.V^{-2}$) est réalisé par la relation (3.3) [27].

$$1\,esu = 0.37\times10^{-20}\,C.m^3.V^{-2} \qquad (3.3)$$

Dans le cadre de la théorie de la réponse HRS exposée dans le chapitre 2, l'intensité HRS polarisée selon la direction Γ en fonction de l'angle de la polarisation γ du champ à la longueur d'onde fondamentale est de la forme :

$$I_{HRS}^{\Gamma} = a^{\Gamma}\cos^4\gamma + b^{\Gamma}\cos^2\gamma\sin^2\gamma + c^{\Gamma}\sin^4\gamma \tag{3.4}$$

La dépendance de a^{Γ}, b^{Γ} et c^{Γ} en fonction des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité est donnée par les équations (2.20) à (2.25). Pour mesurer les éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité on calcule le rapport entre l'intensité HRS polarisée verticalement pour un champ incident polarisé horizontalement (γ=90°) et verticalement (γ=0°). Ce rapport de dépolarisation D est donc :

$$D = \frac{c^V}{a^V} = \frac{\left\langle \beta_{L,XYY}\beta^*_{L,XYY}\right\rangle}{\left\langle \beta_{L,XXX}\beta^*_{L,XXX}\right\rangle} \tag{3.5}$$

Le coefficient de dépolarisation est lié aux éléments du tenseur microscopique par les relations de transfert entre les éléments du tenseur dans référentiel de la molécule (indice m) et ceux dans le référentiel du laboratoire (indice L). Pour a^V et c^V ces relations sont :

$$a^V \propto \left\langle \beta_{L,XXX}\beta^*_{L,XXX}\right\rangle = \frac{1}{8\pi^2}\iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi\\ \phi=0\to2\pi\\ \psi=0\to2\pi}} \sum_{ijk} T_X^i T_X^j T_X^k \beta_{m,ijk} \sum_{nop} T_X^n T_X^o T_X^p \beta^*_{m,nop} \sin\theta d\theta d\phi d\psi \tag{3.6}$$

$$c^V \propto \left\langle \beta_{L,XYY}\beta^*_{L,XYY}\right\rangle = \frac{1}{8\pi^2}\iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi\\ \phi=0\to2\pi\\ \psi=0\to2\pi}} \sum_{ijk} T_X^i T_Y^j T_Y^k \beta_{m,ijk} \sum_{nop} T_X^n T_Y^o T_Y^p \beta^*_{m,nop} \sin\theta d\theta d\phi d\psi \tag{3.7}$$

Où T est la matrice de changement de référentiel définie en (2.6). Ce facteur permet d'obtenir les valeurs des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique connaissant la valeur de l'hyperpolarisabilité absolue mesurée qui vaut [28] :

$$\left\langle \beta^2_{mesurée}\right\rangle = \left\langle \beta_{L,XXX}\beta^*_{L,XXX}\right\rangle + \left\langle \beta_{L,XYY}\beta^*_{L,XYY}\right\rangle \tag{3.8}$$

Le cas d'une symétrie C_{2v} est intéressant car plusieurs molécules utilisées dans ce travail possèdent cette symétrie : le DiA et le MT04 dans le chapitre 5, le *p*NPP et le sDIA dans le chapitre 6. Dans cette symétrie, seulement trois éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique sont non nuls et indépendants, respectivement $\beta_{m,zzz}$, $\beta_{m,zxx}$ et $\beta_{m,xzx}$ [5]. Les 4 molécules citées possèdent de plus une symétrie plane. Pour ces cas particuliers, l'élément $\beta_{m,xzx}$ peut être considéré comme nul car le moment de transition à 2ω est selon le grand axe moléculaire Oz et non pas Ox alors que les expériences sont réalisées dans des conditions proches de la résonance. Dans ce cas les coefficients a^V et c^V sont :

$$a^V \propto \left\langle \beta_{L,XXX}\beta^*_{L,XXX} \right\rangle = \frac{1}{7}\left(\beta_{m,zzz}\right)^2 + \frac{6}{35}\beta_{m,zxx}\beta_{m,zzz} + \frac{9}{35}\left(\beta_{m,zxx}\right)^2 \tag{3.9}$$

$$c^V \propto \left\langle \beta_{L,XYY}\beta^*_{L,XYY} \right\rangle = \frac{1}{35}\left(\beta_{m,zzz}\right)^2 - \frac{2}{105}\beta_{m,zxx}\beta_{m,zzz} + \frac{11}{105}\left(\beta_{m,zxx}\right)^2 \tag{3.10}$$

Le facteur de dépolarisation s'écrit donc sous la forme :

$$D = \frac{c^V}{a^V} = \frac{3 - 2d + 11d^2}{15 + 18d + 27d^2} \tag{3.11}$$

où :

$$d = \frac{\beta_{m,zxx}}{\beta_{m,zzz}} \tag{3.12}$$

Le facteur de dépolarisation ne dépend que du seul rapport entre les deux éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique. Ce rapport permet de déterminer $\beta_{m,zzz}$ par la mesure de l'hyperpolarisabilité absolue et ainsi de déduire $\beta_{m,zxx}$:

$$\left\langle \beta^2_{mesuré} \right\rangle = \left\langle \beta_{L,XXX}\beta^*_{L,XXX} \right\rangle + \left\langle \beta_{L,XYY}\beta^*_{L,XYY} \right\rangle = \frac{2\beta^2_{m,zzz}}{105}\left(9 + 8d + 19d^2\right) \tag{3.13}$$

L'eau est un cas particulier des solvants mesurés. Pour l'eau le facteur de dépolarisation mesuré est $D = 0.2$ et correspond à une symétrie à un cas où seul l'élément microscopique $\beta_{m,zzz}$ domine, voir chapitre 2. Dans ce cas *d* vaut zéro et donc :

$$\left(\beta_{m,zzz}\right)_{eau} = 1.35 \times 10^{-30} esu \tag{3.14}$$

De la Figure 4 à la Figure 8 les intensités HRS polarisées verticalement en fonction de l'angle de la polarisation du champ fondamental sont reportées en graphe polaire pour les différents solvants mesurés. Toutes ces courbes correspondent à une réponse à l'ordre dipolaire électrique, la relation $a^V + c^V = b^V$ étant toujours vérifiée. Seul le rapport de dépolarisation $D = c^V / a^V$ change et donc la symétrie de la molécule de solvant. Les facteurs de dépolarisation sont reportés dans le Tableau 1. Pour ces composés, le principe utilisé sur l'eau est à nouveau appliqué en tenant compte de la symétrie. Les calculs des relations (3.6) et (3.7) conduisant à (3.9) et (3.10) doivent être modifié en conséquence. La mesure de ces éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique permet des comparaisons avec des valeurs calculées numériquement [29-31]. Ces comparaisons restent néanmoins difficile à cause des interactions entre molécules plus difficilement modélisables, notamment pour les solvants associatifs comme l'eau [14].

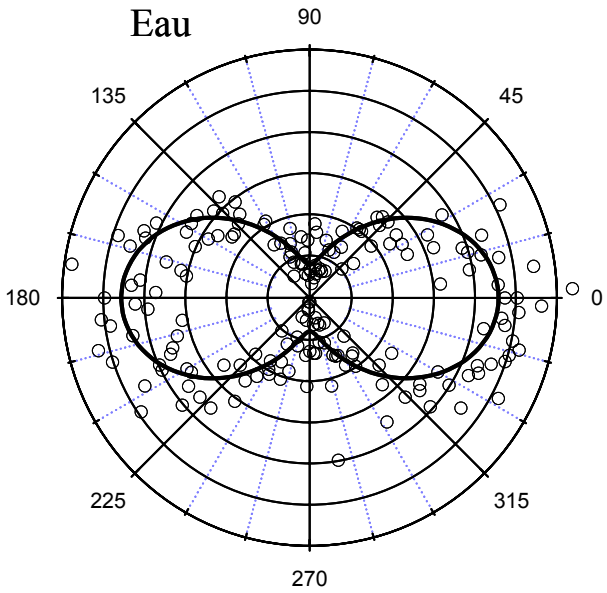


Figure 4 : Graphe polaire de l'intensité HRS de l'eau polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

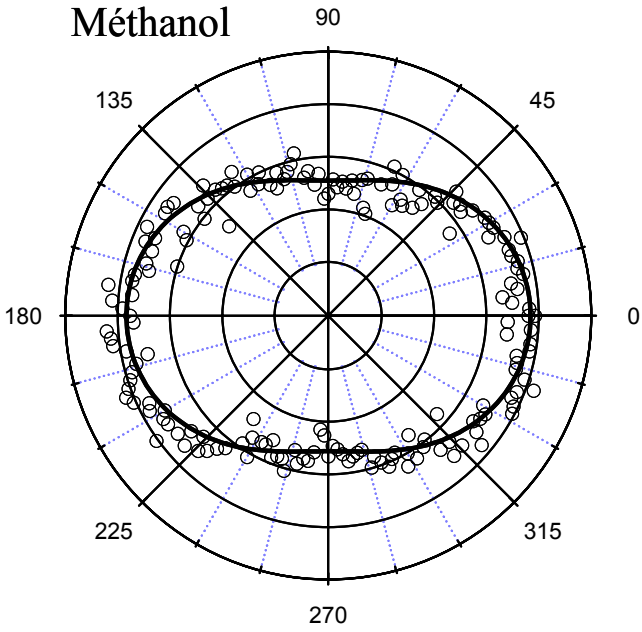


Figure 5 : Graphe polaire de l'intensité HRS du méthanol polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

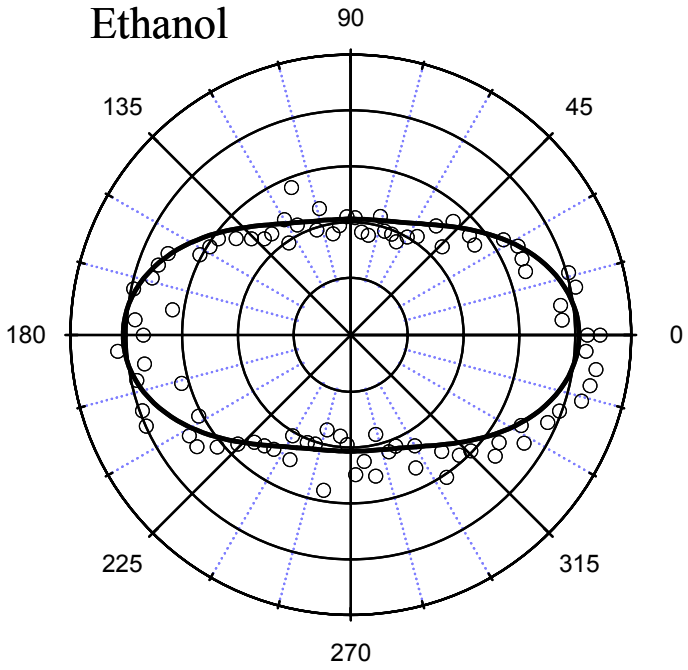


Figure 6: Graphe polaire de l'intensité HRS de l'éthanol polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

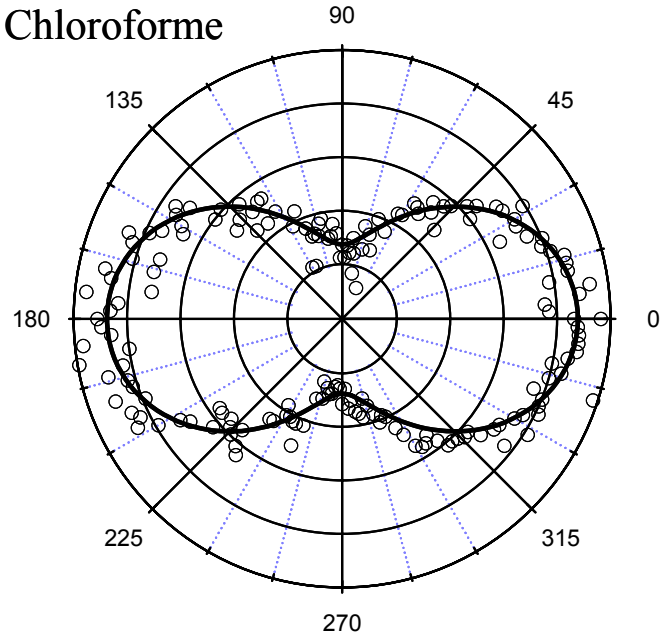


Figure 7 : Graphe polaire de l'intensité HRS du chloroforme polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

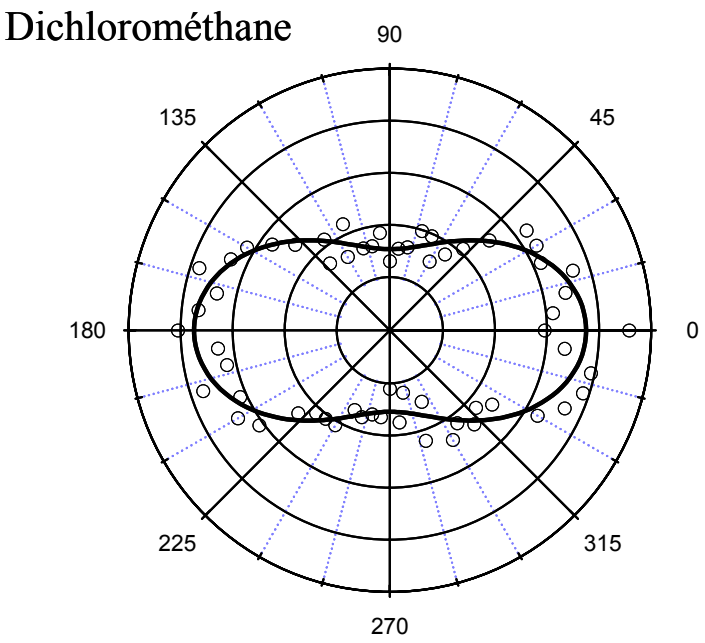


Figure 8 : Graphe polaire de l'intensité HRS du dichlorméthane polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

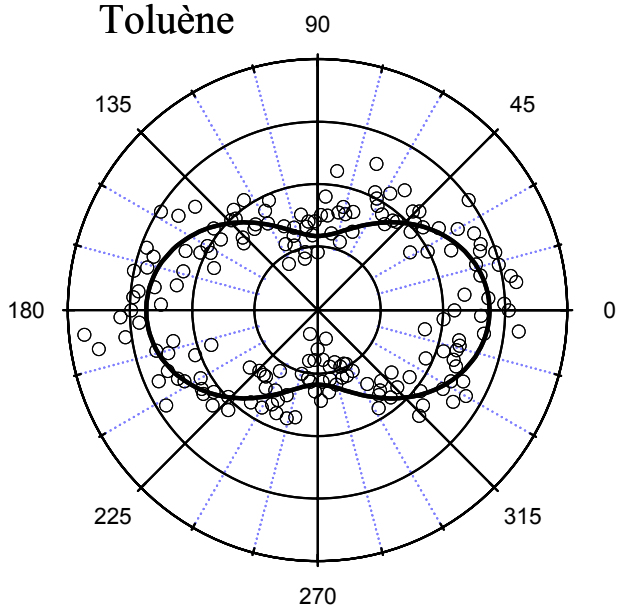


Figure 9 Graphe polaire de l'intensité HRS du toluène polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

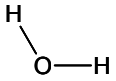
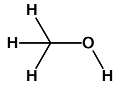
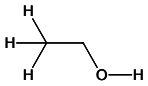
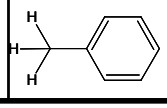
Caractéristiques / Solvants	Configuration	N Concentration (M)	β Hyperpolarisabilité (10^{-30} esu)	β_{litt} Hyperpolarisabilité littérature (10^{-30} esu)	D Facteur de dépolarisation
Eau (H_2O)		55.56	0.56 [a]	0.56 [a]	0.2
Méthanol (CH_3OH)		24.7	1.46	0.69 [b]	0.67
Ethanol (C_2H_5OH)		17.1	0.76		0.5
Chloroforme ($CHCl_3$)		12.4	0.74	0.26 [c]	0.3
Dichlorométhane (CH_2Cl_2)		15.8	1.10		0.4
Toluène (C_7H_8)		9.46	1.49	0.18 [d]	0.4

Tableau 1 : Mesures expérimentales de l'hyperpolarisabilité absolue et du rapport de dépolarisation pour différents solvants obtenue à partir de la valeur de l'eau de la littérature. a : [26], b : [1], c : [16], d : [29].

La disparité des valeurs de l'hyperpolarisabilité par rapport aux valeurs de la littérature indique qu'une étude plus approfondie sur l'extraction des valeurs de l'hyperpolarisabilité est nécessaire. Par exemple, il faudrait déterminer l'effet de la focalisation sur l'indice optique de la solution ou utiliser des modèles plus complets sur la variation de l'hyperpolarisabilité dans les liquides associatifs, qui donnent pour l'eau une valeur très différente de la référence choisie ($\beta_{eau} = 0.046 \times 10^{-30} esu$) [14]. On peut cependant noter que l'hyperpolarisabilité du toluène est la plus forte, comme attendue d'un système possédant un cycle aromatique, même si la structure du toluène n'est pas optimisée pour le doublage de fréquence. Les mesures de *D* renseignent sur la symétrie des molécules qui ne possèdent jamais un seul élément du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique comme l'eau car *D* est différent de 0.2.

Un autre résultat important pour les expériences de ces mesures sur les solvants est la sensibilité du montage obtenue par la mesure du facteur $N\beta^2$, reporté dans le Tableau 2. Comme nos mesures sont faites par référence interne on peut estimer l'efficacité d'un composé solubilisé et la comparer à celle du solvant. Par exemple pour un composé de forte réponse optique non linéaire ($\beta \sim 1000 \times 10^{-30} esu$) solubilisé dans l'eau, en supposant une

sensibilité au 1/10 du signal du solvant pur, la concentration minimum du composé doit être d'environ 2 µM. La sensibilité du système expérimental que nous avons construit permet donc une utilisation de faibles concentrations de molécules sondes ce qui est toujours souhaitable.

Solvant	Eau	Méthanol	Ethanol	Chloroforme	Dichlorométhane	Toluène
Intensité HRS ($N\beta^2$)	17.9	11.8	9.8	6.7	19.1	21

Tableau 2: Mesures expérimentales de l'intensité HRS des solvants.

3.2.2 Influence d'un mélange de solvants sur le rapport de dépolarisation.

Pour démontrer l'influence du solvant sur les valeurs des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité, des mesures d'intensité HRS résolue en polarisation ont été réalisées sur un mélange de solvant eau méthanol. Si les molécules n'étaient pas corrélées, les coefficients a^V et c^V de chaque molécule s'additionneraient simplement. En effet on sait que pour une sélection verticale de la polarisation du champ émis et une polarisation verticale du champ incident l'intensité est proportionnelle à a^V uniquement. Comme l'intensité HRS est également proportionnelle à la somme des intensités de chaque molécule en solution, cette intensité est aussi proportionnelle à la somme des coefficients a^V de chaque molécule pondérés par la fraction de chaque solvant:

$$I_{HRS}^{V}\left(\gamma = 0°\right) = a^{V} = GI^{2}\sum_{i} N_{i}\left\langle \beta_{i}^{2}\right\rangle \propto \sum_{i} x_{i}a_{i}^{V} \tag{3.15}$$

Le raisonnement est identique sur les coefficients c^V pour une sélection verticale de la polarisation du champ émis et une polarisation horizontale du champ incident :

$$I_{HRS}^{V}\left(\gamma = 90°\right) = c^{V} = GI^{2}\sum_{i} N_{i}\left\langle \beta_{i}^{2}\right\rangle \propto \sum_{i} x_{i}c_{i}^{V} \tag{3.16}$$

où x_i est la fraction du solvant *i*. Le facteur de dépolarisation d'un mélange de deux solvants s'écrit donc :

$$D_{mélange} = \frac{x_1 c_1^V + x_2 c_2^V}{x_1 a_1^V + x_2 a_2^V} \tag{3.17}$$

L'équation (3.17) se réécrit sous la forme :

$$D_{mélange} = \frac{D_1 + fRD_2}{1 + fR} \tag{3.18}$$

avec :

$$R = \frac{x_2}{x_1} = \frac{V_2}{V_1} \tag{3.19}$$

et :

$$f = \frac{a_2^V}{a_1^V} = \frac{N_2 \left\langle \beta_2^2 \right\rangle}{N_1 \left\langle \beta_1^2 \right\rangle} \frac{1 + D_1}{1 + D_2} = Af' \tag{3.20}$$

où :

$$f' = \frac{\left\langle \beta_2^2 \right\rangle}{\left\langle \beta_1^2 \right\rangle} \quad et \quad A = \frac{N_2 \left(1 + D_1\right)}{N_1 \left(1 + D_2\right)} \tag{3.21}$$

car :

$$GI^2 N_i \left\langle \beta_i^2 \right\rangle = c_i^V + a_i^V = a_i^V \left(1 + D_i\right) \tag{3.22}$$

f' caractérise le rapport entre les hyperpolarisabilités absolues des deux molécules de solvant et V_i est le volume du solvant *i*. Dans le cas du mélange eau méthanol, avec

R=Veau/Vméthanol, *A* vaut 3,13, voir Tableau 1. Donc pour un mélange eau méthanol l'équation (3.18) donne :

$$D_{mélange} = \frac{0.67 + 0.63 * R * f'}{1 + 3.13 * R * f'} \tag{3.23}$$

La mesure du facteur de dépolarisation pour un mélange eau méthanol en fonction du rapport en volume du mélange est réalisée. La Figure 10 présente cette mesure ainsi que la courbe théorique du facteur de dépolarisation, en fonction de *R*, pour un mélange sans interactions et donc pour un rapport *f'* valant 0,15 à partir des valeurs d'hyperpolarisabilité reportées dans le Tableau 1. Le facteur de dépolarisation mesuré est en très bon accord avec la valeur obtenue par le modèle ne tenant pas compte d'une interaction possible entre les molécules. La mesure est ajustée par l'équation (3.23) avec *f'* comme paramètre. L'ajustement de la mesure correspond à un rapport *f'* de 0,17. Le rapport entre l'hyperpolarisabilité absolue de l'eau et du méthanol est donc faiblement augmenté par les interactions entre molécules.

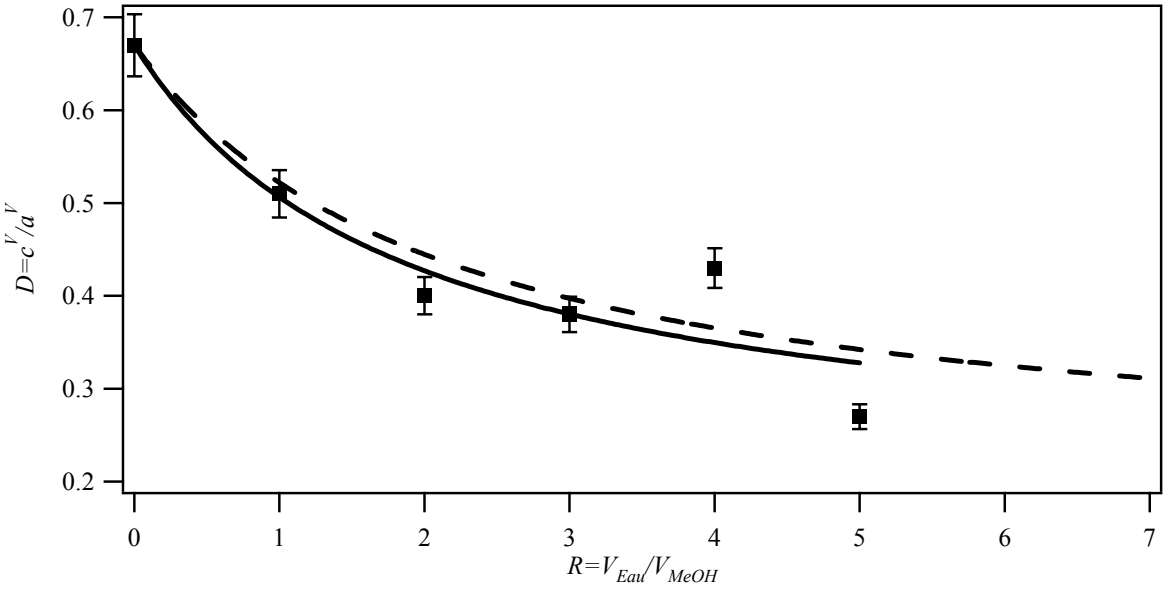


Figure 10 : Rapport de dépolarisation en fonction de la fraction volumique eau/méthanol (carré). Rapport de dépolarisation théorique d'une superposition eau méthanol sans interactions décrite par l'équation (3.23) en fonction de la fraction volumique eau/méthanol (tirets). Ajustement par l'équation (3.23) de la mesure du rapport de dépolarisation en fonction de la fraction volumique eau/méthanol (trait plein).

L'influence du champ de polarisation du solvant peur modifier la valeur des éléments du tenseur microscopique des molécules en interaction avec le solvant en excès. Chaque

mesure d'hyperpolarisabilité d'une molécule est donc différente selon le solvant utilisé. De la même façon les interactions avec des éléments solubilisés en plus de la molécule sonde modifient la mesure du tenseur d'hyperpolarisabilité. La connaissance de l'intensité relative et du facteur de dépolarisation du solvant employé permet donc d'extraire des informations sur la molécule solubilisée. Cette grande sensibilité à l'environnement permet de mettre en évidence des problèmes lors de la comparaison des résultats expérimentaux comme dans le cas des solvants. Mais elle permet également de sonder des modifications de l'environnement et peut donc devenir une technique de caractérisation précise dans un milieu.

3.3 Effets d'environnements

Les effets d'environnements sont primordiaux dès que l'on s'intéresse à des systèmes moléculaires à plusieurs composants, souvent hétérogènes, comme dans l'étude de phénomènes d'interactions moléculaires. Le but de cette partie est de caractériser les modifications du tenseur d'hyperpolarisabilité des molécules sondes par diffusion hyper Rayleigh résolue en polarisation lors de leur association avec des systèmes chargés favorisant les interactions électrostatiques. Ces systèmes chargés sont des micelles de sodium dodecyl sulfate (SDS) qui forment, au-delà de la concentration micellaire critique, des structures sphériques chargées. Ces sphères en interaction avec les molécules sondes modifient le rapport de dépolarisation et la valeur des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité, décrit dans le chapitre 2, de la molécule sonde.

3.3.1 La sonde : le cristal violet

Dans le but de mesurer des effets d'environnement sur ces molécules en solution, le cristal violet (CV), voir Figure 11, a été utilisé comme sonde. Cette molécule a été choisie pour plusieurs raisons. C'est d'abord une sonde octupolaire mono cationique, voir Figure 12, qui a déjà été bien étudiée par diffusion hyper Rayleigh, par le passé le plus souvent dans le méthanol [16]. La structure octupolaire correspondant à la symétrie D_{3h} dans la notation de Schönflies ou $\bar{6}m2$ dans celle d'Hermann-Mauguin est aussi une symétrie élevée et donc les effets d'environnement seront très visibles sur le paramètre de dépolarisation *D*. La valeur du

module de l'hyperpolarisabilité rapportée dans la littérature, à 800 nm dans le méthanol, est $450\times10^{-30}\,esu$ [16].

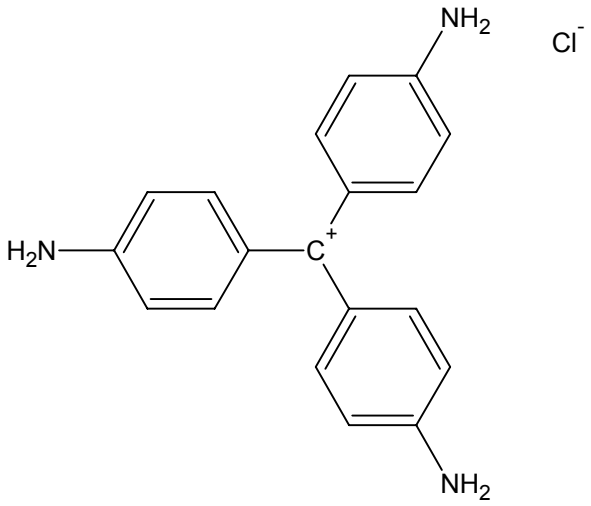


Figure 11 : Cristal violet.

Cette molécule est composée de trois cycles aromatiques équivalents permettant la délocalisation de la charge positive globale de la molécule de cristal violet. Ces trois cycles sont des systèmes π délocalisés ayant chacun de part et d'autre un système donneur et accepteur d'électrons. Le système donneur est le carbone central de la molécule et les trois groupes accepteurs sont des groupes NH_2 identiques, voir Figure 12.

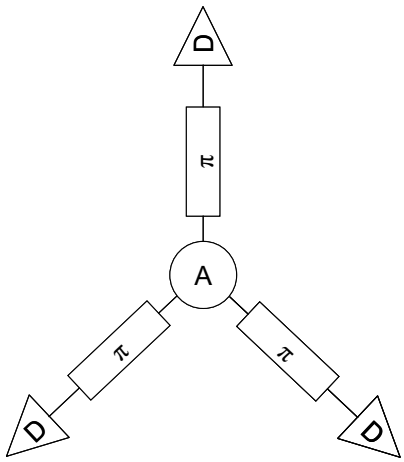


Figure 12: Schéma d'une molécule de cristal violet. D représente un groupe donneur d'électron et A un groupe accepteur d'électron. π est un système d'électrons π délocalisés.

Dans un premier temps, l'intensité HRS est enregistrée en fonction de l'intensité au carré de l'onde incidente mesurée avant la focalisation, voir Figure 13. La dépendance linéaire indique que l'état excité n'a aucun rôle dans la mesure de diffusion hyper Rayleigh dans la zone étudiée.

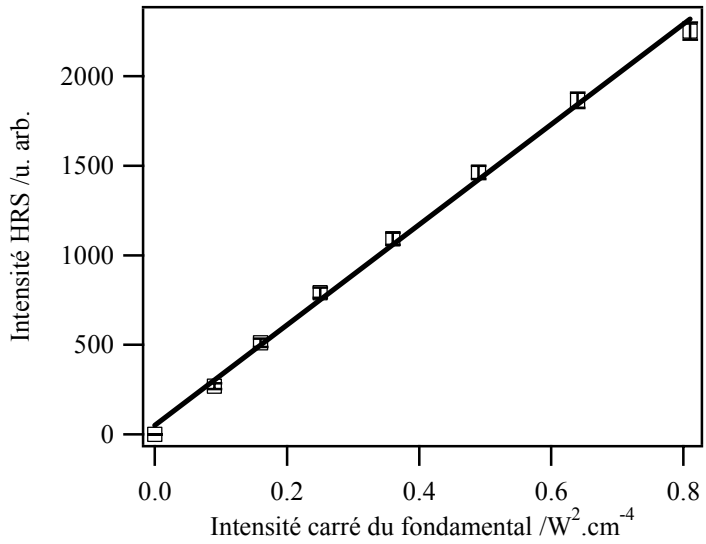


Figure 13 : Intensité HRS d'une solution aqueuse de cristal violet à 70 µM en fonction de l'intensité de la source laser.

La valeur absolue de l'hyperpolarisabilité du cristal violet dans l'eau est mesurée par dilution successive représentée sur la Figure 19. Pour chaque point de dilution est enregistré un spectre d'absorption UV-visible. Un de ces spectres est représenté sur la Figure 18. A partir de ces spectres on obtient un coefficient d'extinction du cristal violet en solution, au maximum d'absorption à 590 nm, de $(80270 \pm 1140)\ M^{-1}cm^{-1}$. La dilution est effectuée de 50 µM à 150 µM, pour une longueur d'onde fondamentale de 870 nm où l'absorbance est faible pour les longueurs d'onde fondamentale et harmonique. En normalisant par la méthode de la référence interne, donc par l'intensité de l'eau mesurée, et en ajustant par une droite la mesure de l'intensité HRS en fonction de la concentration du CV, l'hyperpolarisabilité quadratique absolue du cristal violet est extraite et vaut pour une longueur d'onde fondamentale de 870 nm, voir chapitre 2 :

$$\beta_{CV} = \sqrt{\left\langle \beta^2_{L,XXX} \right\rangle + \left\langle \beta^2_{L,ZXX} \right\rangle} = (874 \pm 80) \times 10^{-30}\, esu \qquad (3.24)$$

Pour caractériser plus complètement le cristal violet, une mesure d'HRS polarisé est enregistrée et reportée sur la Figure 21(a). Le facteur de dépolarisation théorique pour une molécule octupolaire peut être calculé comme pour le dipôle dans le paragraphe 2.2.3.2 [6, 28]. Dans le cas de la symétrie D_{3h}, seuls 4 éléments sont non nuls et obéissent à la relation suivante [4-6] :

$$\beta_{m,yyy} = -\beta_{m,yxx} = -\beta_{m,xxy} = -\beta_{m,xyx} \tag{3.25}$$

Dans ce cas le calcul de a^V donne :

$$a^V = GNI^2 \left\langle \beta_{L,XXX} \beta^*_{L,XXX} \right\rangle = \frac{GNI^2}{8\pi^2} \iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi \\ \phi=0\to 2\pi \\ \psi=0\to 2\pi}} \beta_{L,XXX} \beta^*_{L,XXX} \sin\theta d\theta d\phi d\psi \tag{3.26}$$

Avec :

$$\begin{aligned} \beta_{L,XXX} &= T^y_X T^y_X T^y_X \beta_{m,yyy} + T^y_X T^x_X T^x_X \beta_{m,yxx} + T^x_X T^x_X T^y_X \beta_{m,xxy} + T^x_X T^y_X T^x_X \beta_{m,xyx} \\ &= \left(T^y_X T^y_X T^y_X - 3 T^y_X T^x_X T^x_X \right) \beta_{m,yyy} \end{aligned} \tag{3.27}$$

Et donc :

$$a^V = GNI^2 \frac{8}{35} \left\langle \beta^2_{m,yyy} \right\rangle \tag{3.28}$$

De la même façon pour c^V :

$$c^V = GNI^2 \left\langle \beta_{L,XYY} \beta^*_{L,XYY} \right\rangle = \frac{GNI^2}{8\pi^2} \iiint\limits_{\substack{\theta=0\to\pi \\ \phi=0\to 2\pi \\ \psi=0\to 2\pi}} \beta_{L,XYY} \beta^*_{L,XYY} \sin\theta d\theta d\phi d\psi \tag{3.29}$$

$$\begin{aligned} \beta_{L,XYY} &= T^y_X T^y_Y T^y_Y \beta_{m,yyy} + T^y_X T^x_Y T^x_Y \beta_{m,yxx} + T^x_X T^x_Y T^y_Y \beta_{m,xxy} + T^x_X T^y_Y T^x_Y \beta_{m,xyx} \\ &= \left(T^y_X T^y_Y T^y_Y - 2 T^x_X T^x_Y T^y_Y - T^y_X T^x_Y T^x_Y \right) \beta_{m,yyy} \end{aligned} \tag{3.30}$$

Et donc :

$$c^V = GNI^2 \frac{16}{105} \left\langle \beta^2_{m,yyy} \right\rangle \tag{3.31}$$

Pour le cas d'une molécule octupolaire le facteur de dépolarisation est donc :

$$D = \frac{c^V}{a^V} = \frac{2}{3} = 0.67 \tag{3.32}$$

Ce facteur théorique est en excellent accord avec la valeur expérimentale de (0.66 ± 0.02). Le facteur de dépolarisation n'est ici pas modifié par le solvant. Le champ de polarisation induit par le solvant est donc trop faible pour modifier la symétrie du cristal violet ou bien isotrope. Cette insensibilité au solvant permet de considérer les changements de symétrie induits par des composés introduits par la suite comme dépendants uniquement des interactions avec ces composés.

3.3.2 Les micelles

Nous avons choisis d'étudier l'association du CV avec des assemblages moléculaires du type des micelles. Les systèmes micellaires constituants des objets sphériques chargés en solution en raison du caractère amphiphile du SDS. Les micelles sont des objets formés par l'agrégation de molécules tensioactives. Le surfactant de SDS ou dodecyl sulfate de sodium a pour formule chimique $C_{12}H_{25}SO_4^-$, le contre ion étant Na^+. Cette molécule tensioactive est amphiphile. Constituée de deux parties, elle est à la fois hydrophile et hydrophobe. Une tête hydrophile est chargée négativement et a un diamètre de 0,5 nm alors que la chaîne carbonée hydrophobe a une longueur de 1,25 nm, voir Figure 14.

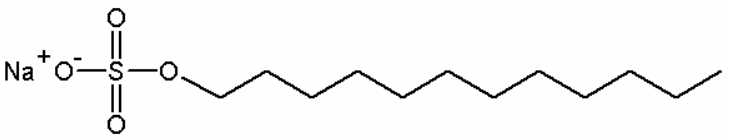


Figure 14 : Sodium dodecyl sulfate (SDS).

Les micelles sont formées par l'agrégation des molécules de SDS, leur chaîne carbonée étant dirigée vers l'intérieur de l'agrégat, milieu hydrophobe, et les têtes hydrophiles étant orientées vers l'extérieur et formant une surface chargée en contact avec le solvant aqueux, voir Figure 15.

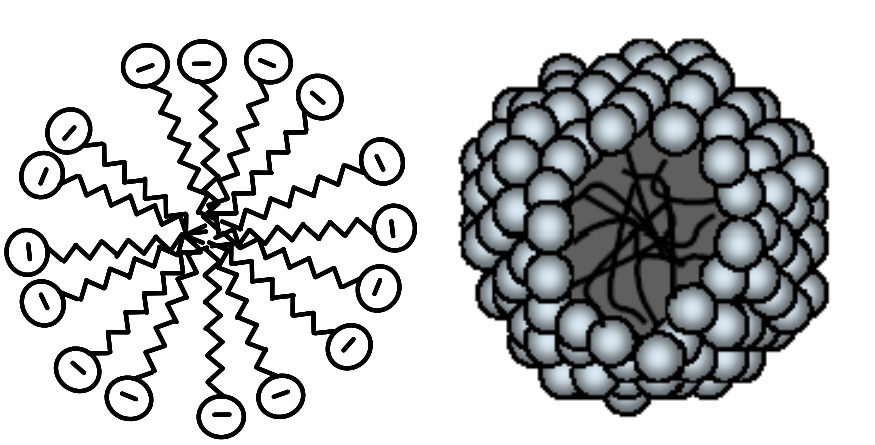


Figure 15 : Coupe 2D et 3D schématique d'une micelle sphérique de SDS.

Les propriétés tensioactives de cette molécule sont bien connues. Cette molécule forme, au dessus de la concentration de 8 mM en solution aqueuse à 25 °C, des micelles sphériques avec 71 molécules de SDS en moyenne par micelle. Le nombre d'agrégation du SDS est donc 71. Cette concentration de 8 mM est appelée concentration micellaire critique (CMC). Au dessus d'une concentration de 50 mM les micelles ne sont plus sphériques et prennent la forme d'ovoïdes [18]. Les expériences menées ici seront toujours réalisées dans le cas des micelles sphériques d'un diamètre d'environ 4 nm. Le diamètre des micelles fluctue car les micelles sont des systèmes dynamiques toujours en mouvement et en équilibre chimique avec leur milieu. Ces micelles sont formées par les molécules excédentaires à la CMC. Il y a donc, dans une solution au dessus de la CMC, deux espèces coexistantes (voir Figure 16 et Figure 17) : des monomères de SDS et des micelles. Cette formation d'assemblages moléculaires en fonction de la concentration permet d'obtenir une modification du signal HRS dans le cas de systèmes micellaires formés par des molécules sondes et ainsi de calculer la CMC [32].

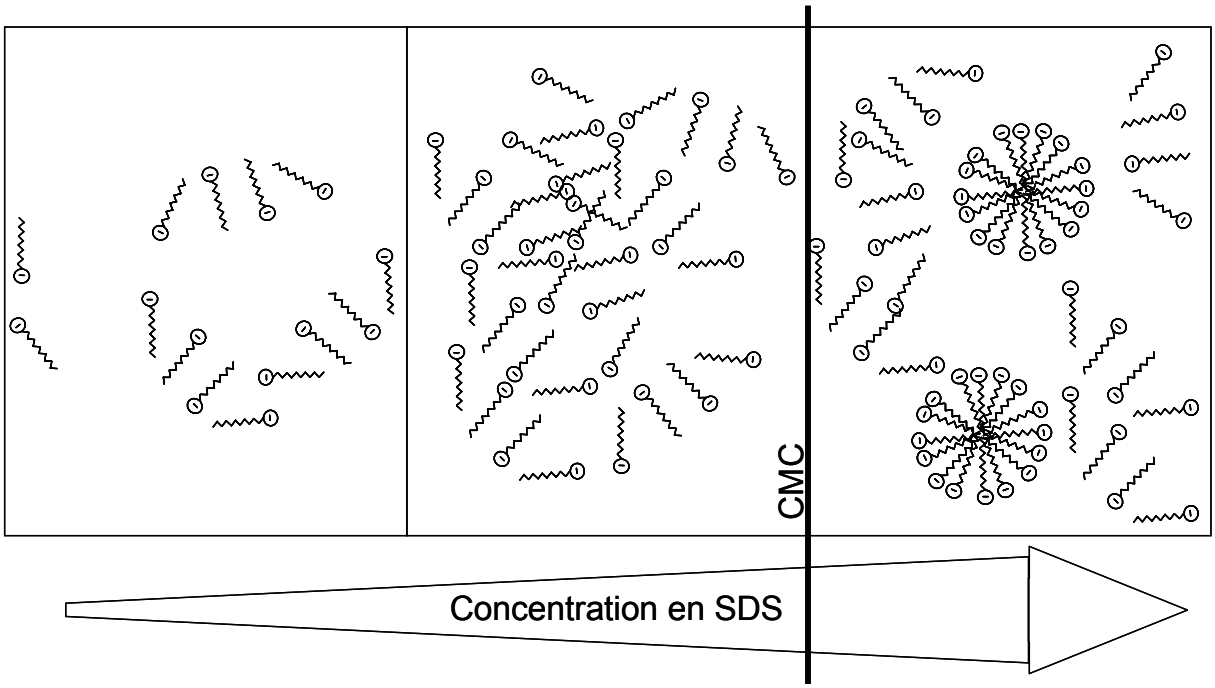


Figure 16 : Représentation schématique des espèces présentes dans une solution aqueuse de SDS en fonction de la concentration.

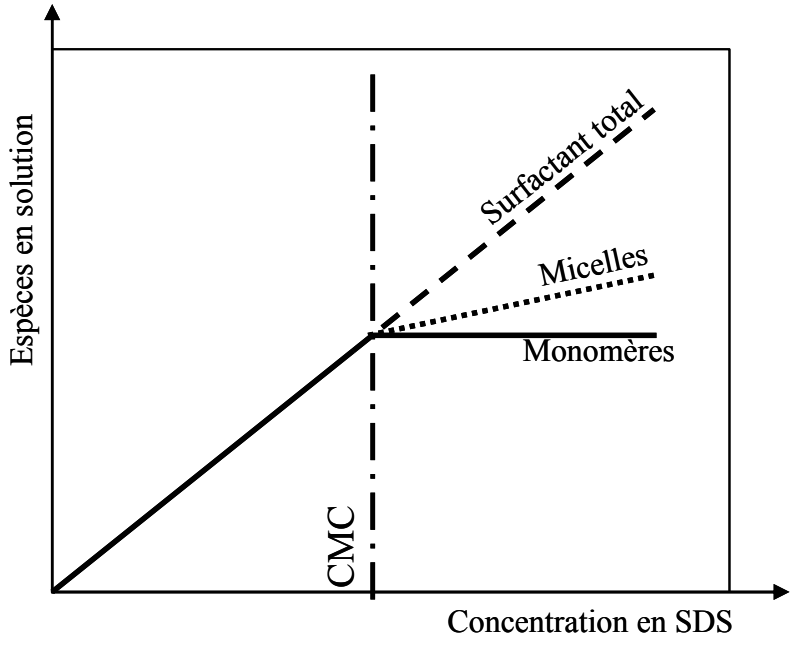


Figure 17 : Evolution des espèces présentes en solution aqueuse de SDS.

Pour le SDS en solution aqueuse la concentration moyenne en micelles est définie par l'équation (3.33).

$$[SDS]_{micelles} = \left([SDS]_0 - CMC\right)/71 \tag{3.33}$$

où $[SDS]_0$ est la concentration totale en SDS. Cette relation traduit le changement de pente entre les monomères et les micelles sur la Figure 17. Le signal HRS enregistré pour des solutions de SDS en dessous et au dessus de la CMC est identique à celui enregistré pour une solution d'eau, la molécule de SDS étant indétectable dans notre configuration expérimentale.

3.3.3 Influence des micelles sur le cristal violet

Pour une solution de cristal violet en présence de SDS en dessous de la CMC, [SDS]=3.6 mM, le spectre de photoabsorption est modifié, voir Figure 18.

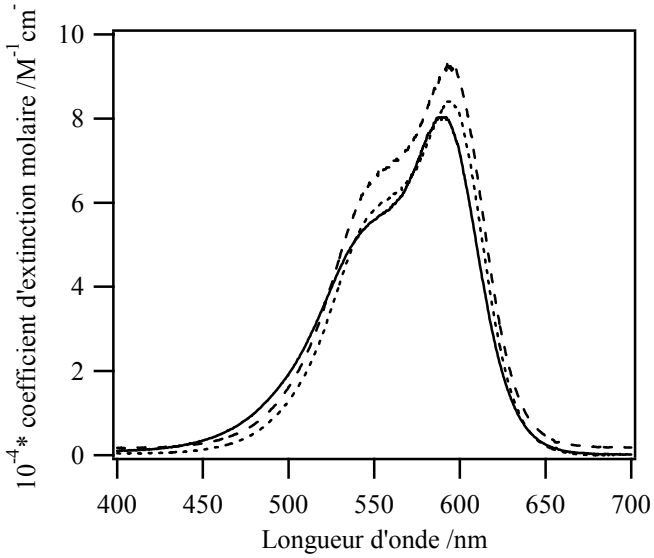


Figure 18 : Coefficient d'extinction molaire du cristal violet dissout (continu) dans l'eau pure, (pointillé) dans une solution aqueuse de SDS à 3.6 mM, et (tirets) dans une solution aqueuse de SDS à 33.6 mM.

Un décalage de 6 nm vers les grandes longueurs d'onde est constaté sans changement significatif pour le coefficient d'extinction molaire mesuré égal à $(83975 \pm 3090)\ M^{-1}cm^{-1}$ au maximum d'absorption à 590 nm. Le léger décalage en longueur d'onde du spectre est

attribué à l'interaction électrostatique entre la molécule cationique de cristal violet et la molécule anionique de SDS. Sur la Figure 18 est également reporté le spectre de photoabsorption du cristal violet en solution aqueuse contenant du SDS au dessus de la CMC, [SDS]=33.6 mM. La concentration en micelles est donc de 0.36 mM. Dans ce cas le coefficient d'extinction molaire s'accroît fortement, il vaut $(92400 \pm 1100)\ M^{-1}cm^{-1}$ au maximum d'absorption à 590 nm. En revanche aucun nouveau décalage n'est mesuré, ces changements sont donc attribués à l'interaction entre le CV et les micelles. A la longueur d'onde harmonique de 435 nm les changements des spectres d'absorption induisent de faible variation de l'absorbance. La réabsorption de la diffusion hyper Rayleigh par la solution est corrigée par la suite dans les mesures d'intensité.

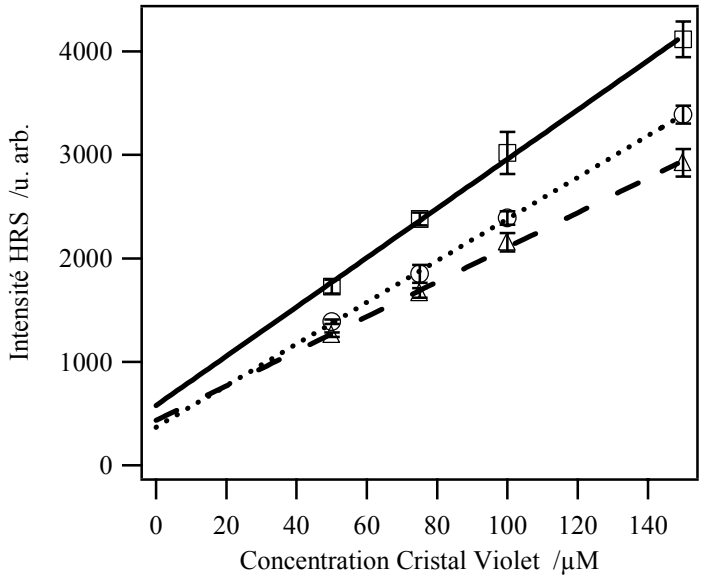


Figure 19 : Intensité HRS en fonction de la concentration du CV pour trois concentrations de SDS, (continu) 0, (pointillé) 3.6 et (tirets) 33.6 mM.

Sur la Figure 19 est enregistrée la mesure de l'intensité HRS en fonction de la concentration du CV pour trois concentrations de SDS, 0, 3.6 et 33.6 mM. L'intensité de diffusion hyper Rayleigh mesurée avec du SDS au dessus de la CMC est inférieure à celle mesuré pour le SDS au dessous de la CMC, elle-même inférieure à la mesure du cristal violet libre en solution sans SDS. Dans ces trois cas les courbes peuvent être ajustées par des droites dont les pentes normalisées par rapport au CV libre valent 1, 0.83 et 0.69 pour les concentrations respectives en SDS de 0, 3.6 et 33.6 mM. La valeur extrapolée pour une concentration nulle en CV tend vers la même valeur pour les trois concentrations de SDS. Les

faibles différences proviennent de la méthode de soustraction du fond de fluorescence. Le signal de ce fond de fluorescence est reporté sur la Figure 20. Il est déterminé par la mesure de la raie HRS en chaque point de concentration. L'ajustement de la raie HRS est fait par la superposition d'une Gaussienne avec une droite. La pente et l'ordonnée à l'origine de cette droite permettent de déduire la valeur de la fluorescence à 435 nm.

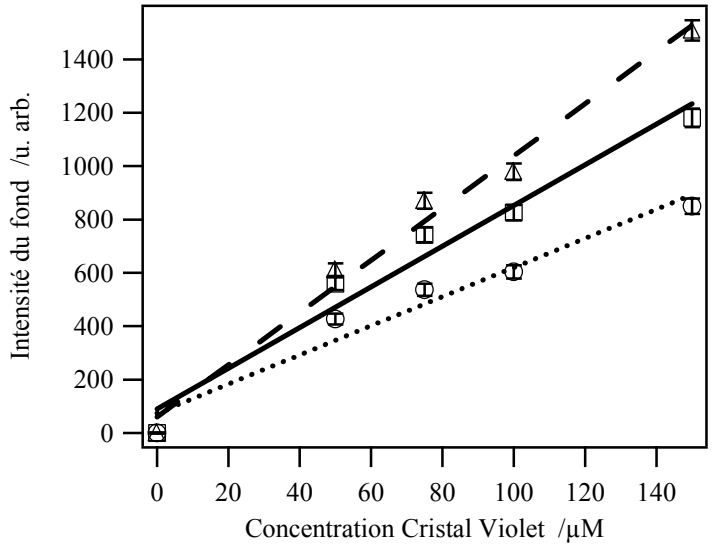


Figure 20 : Intensité du fond de fluorescence interpolé à la longueur d'onde harmonique en fonction de la concentration du CV pour trois concentrations de SDS, (continu) 0, (pointillé) 3.6 et (tirets) 33.6 mM.

Le fond de fluorescence est, comme attendu, linéaire en fonction de la concentration du CV. Cette mesure confirme l'importance de la technique de soustraction du fond de fluorescence.

En utilisant l'équation (2.12) les données expérimentales de la Figure 19 sont ajustées par une droite ayant l'expression (3.34).

$$I_{HRS}(CV) = GI^2\left(N_{CV}^{libre}\left\langle\beta_{CV}^2\right\rangle + N_{CV}^{C}\left\langle\beta_{CVc}^2\right\rangle + N_{CV}^{m}\left\langle\beta_{CVm}^2\right\rangle\right) \tag{3.34}$$

où N_{CV}^{libre} est la concentration en molécules libres de cristal violet, N_{CV}^{C} est la concentration en molécules de cristal violet formant un complexe avec les molécules libres de SDS et N_{CV}^{m} est

la concentration en molécules de cristal violet en interaction avec les micelles de SDS. L'équation (3.35) donne la relation liant ces concentrations.

$$N_{CV}^{0} = N_{CV}^{libre} + N_{CV}^{C} + N_{CV}^{m} \tag{3.35}$$

en introduisant les différentes espèces présentent en solution. N_{CV}^{0} est la concentration totale en molécules de CV. Similairement, β_{CV} est l'hyperpolarisabilité du CV libre, β_{CVc} est l'hyperpolarisabilité du complexe CV-SDS et β_{CVm} est l'hyperpolarisabilité du CV en interaction avec une micelle. Dans l'équation (3.34) les éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité sont exprimés dans le référentiel du laboratoire.

Dans toute l'expérience la concentration en CV ne dépasse jamais 150 µM, donc le SDS est toujours en excès que ce soit en dessous ou au dessus de la CMC. Dans cette expérience la stochiométrie exacte du complexe CV-SDS n'est pas connue. On introduit alors le rapport K entre les molécules de CV libres et les complexes CV-SDS, voir équation (3.36).

$$K = \frac{N_{CV}^{C}}{N_{CV}^{libre}} \tag{3.36}$$

En dessous de la CMC où $N_{CV}^{m} = 0$, l'intensité HRS s'exprime en fonction de K de la manière suivante :

$$I_{HRS}(CV) = GI^{2}\left(\left\langle \beta_{CV}^{2}\right\rangle + K\left\langle \beta_{CVc}^{2}\right\rangle\right)\left(N_{CV}^{0}/\left(1+K\right)\right) \tag{3.37}$$

Grâce à la pente mesurée expérimentalement pour la concentration au dessous de la CMC on obtient l'équation (3.38).

$$\left(\left\langle \beta_{CV}^{2}\right\rangle + K\left\langle \beta_{CVc}^{2}\right\rangle\right)\left(1/\left(1+K\right)\right) = 0.83\left\langle \beta_{CV}^{2}\right\rangle \tag{3.38}$$

De cette observation on déduit que, indépendamment de la valeur de K, $\left\langle \beta_{CV}^{2}\right\rangle$ est plus grand que $\left\langle \beta_{CVc}^{2}\right\rangle$. Dans le cas limite, toutes les molécules de CV forment un complexe avec les molécules de SDS, cette hypothèse étant raisonnable compte tenu de l'excès des molécules de

SDS. Dans ce cas limite l'équation (3.38) donne $\left\langle \beta_{CVc}^2 \right\rangle / \left\langle \beta_{CV}^2 \right\rangle = 0.83$. Pour renforcer cette mesure du changement induit sur le CV par le SDS le rapport de dépolarisation est enregistré et vaut $D = 0.89 \pm 0.02$, voir Figure 21(b). Cette valeur n'est plus compatible avec une symétrie purement octupolaire du CV. Cette mesure correspond plutôt à une symétrie dipolaire plus générale, voir paragraphe 2.2.3.2. En conséquence une étude quantitative plus complète devient impossible puisque un grand nombre de choix d'éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité permet d'obtenir une même valeur du rapport *D*. La nature exacte du changement dans le complexe moléculaire CV-SDS est difficile à définir car il peut provenir d'un changement de symétrie moléculaire opéré par un réarrangement spatial des atomes, ou par un changement de structure électronique ou bien les deux à la fois. Dans tous les cas, l'interaction CV-SDS induit une déviation à la symétrie octupolaire.

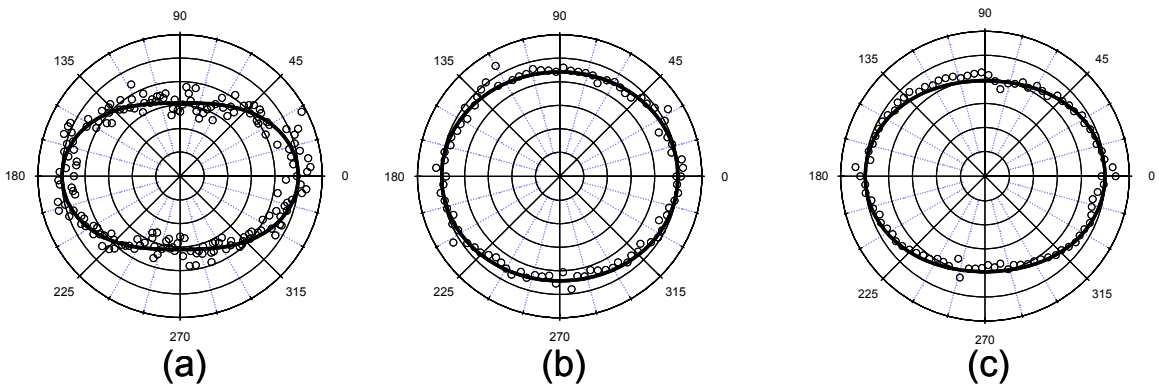


Figure 21 : Graphe polaire de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident pour une concentration en CV de 150 µM pour trois cas de concentration de SDS : (a) 0 mM, (b) 3.6 mM et (c) 33.6 mM.

Au dessus de la CMC la concentration de CV en interaction avec les micelles est donnée par $N_{CV}^m = xN_m$, où N_m est la concentration en micelles et x le nombre moyen de CV en interaction avec une micelle. Dans l'expérience la concentration en micelles est de 0.36 mM, une valeur supérieure à la concentration en CV qui est toujours inférieure à 150 µM. L'intensité HRS au dessus de la CMC s'écrit donc selon l'équation (3.39).

$$I_{HRS}(CV) = GI^2 \left((1 - x\sigma) \left\langle \beta_{CVc}^2 \right\rangle + x\sigma \left\langle \beta_{CVm}^2 \right\rangle \right) N_{CV}^0 \qquad (3.39)$$

Si l'on admet que toutes les molécules de CV libre forment un complexe avec le SDS, c'est-à-dire $K \to \infty$. Dans l'équation (3.39) $\sigma = N_m / N_{CV}^0$. Expérimentalement, σ varie de 7.2 pour une concentration en CV de 50 µM, à 2.4 pour une concentration en CV de 150 µM. A partir des pentes obtenues en dessous et au dessus de la CMC, voir Figure 19, on écrit encore l'équation (3.40).

$$\left\langle \beta_{CVm}^2 \right\rangle = \frac{x\sigma - 0.17}{x\sigma} \left\langle \beta_{CVc}^2 \right\rangle \tag{3.40}$$

Cette équation implique tout d'abord que $\left\langle \beta_{CVm}^2 \right\rangle < \left\langle \beta_{CVc}^2 \right\rangle$. L'équation (3.40) conduit aussi à la relation $x > 0.17/\sigma$. Cette relation donne une limite minimum du nombre moyen de molécules de CV en interaction avec une micelle en fonction de la concentration en CV. Malgré tout le produit $x\sigma$ reste inconnu. Par exemple dans le cas d'une concentration de 150 µM en CV, au moins 7% des micelles sont en interaction avec une molécule de CV. Le rapport de dépolarisation vaut dans ce cas $D = (0.79 \pm 0.02)$, voir Figure 21(c). La différence de D avec les deux cas précédents confirme l'écart par rapport à la symétrie octupolaire en faveur d'une symétrie dipolaire. La concentration en micelle étant de 0.36 mM et la CMC étant de 8 mM les micelles représentent 4,3% des espèces en interaction avec les molécules de CV, le reste est constitué par des molécules libres de SDS.

3.4 Conclusion

Malgré la difficulté d'attribuer la source de l'évolution de D, une faible variation de D en fonction des micelles, en faible proportion par rapport au SDS libre, est observée. L'interaction entre les molécules sondes de CV et les micelles peut donc être étudiée au niveau moléculaire directement en solution par la technique optique non linéaire de diffusion hyper Rayleigh avec une grande sensibilité. Les mesures en intensité combinées à des mesures en polarisation peuvent donc révéler de faibles changements moléculaires [17].

Bibliographie

[1] K. Clays and A. Persoons, *Phys. Rev. Lett.*, **66,** (1991) 2980

[2] J. A. Giordmaine, *Phys. Rev.*, **138,** (1965) A1599

[3] G. J. T. Heesink, A. G. T. Ruiter, N. F. van Hulst and B. Bölger, *Physical Review Letters*, **71,** (1993) 999

[4] R. W. Boyd, *Nonlinear optics*, Academic press, 1992

[5] S. J. Cyvin, J. E. Rauch and J. C. Decius, *J. Chem. Phys.*, **43,** (1965) 4083

[6] R. Bersohn, Y. H. Pao and H. L. Frisch, *J. Chem. Phys.*, **45,** (1966) 3184

[7] P. Kaatz, E. A. Doneley and D. P. Shelton, *J. Chem. Phys.*, **108,** (1998) 849

[8] P. Kaatz and D. P. Shelton, *J. Chem. Phys.*, **105,** (1996) 3918

[9] R. D. Pyatt and D. P. Shelton, *J. Chem. Phys.*, **114,** (2001) 9938

[10] M. Stähelin, C. R. Moylan, D. M. Burland, A. Willetts, J. E. Rice, D. P. Shelton and E. A. Doneley, *J. Chem. Phys.*, **98,** (1993) 5595

[11] S. Kielich, J. R. Lalanne and F. B. Martin, *Phys. Rev. Lett.*, **26,** (1971) 1295

[12] S. Kielich, J. R. Lalanne and F. B. Martin, *Acta Phys. Pol.*, **A41,** (1972) 479

[13] S. Kielich, M. Kozierowski, Z. Ozgo and R. Zawodny, *Acta Phys. Pol.*, **A45,** (1974) 9

[14] I. Ledoux and J. Zyss, *Chem. Phys.*, **73,** (1982) 203

[15] M. Stähelin, D. M. Burland and J. E. Rice, *Chem. Phys. Lett.*, **191,** (1992) 245

[16] J. Zyss, T. C. Van, C. Dhenaut and I. Ledoux, *Chem. Phys.*, **177,** (1993) 281

[17] G. Revillod, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *J. Phys. Chem. B*, **109,** (2005) 5383-5387

[18] D. Myers, *Surfactant Science and Technology*, VCH Publishers, New York, 1992

[19] C. D. Bruce, M. L. Berkowitz, L. Perera and M. D. E. Forbes, *J. Phys. Chem. B*, **106,** (2002) 3788

[20] J. Nappa, *Diffusion hyper Rayleigh de nanoparticules métalliques*, Université Claude Bernard-Lyon 1, Lyon, 2004

[21] J. Nappa, G. Revillod, J.-P. Abid, I. Russier-Antoine, C. Jonin, E. Benichou, H. Girault and P.-F. Brevet, *Faraday discussion*, **125,** (2004) 145

[22] J. Nappa, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *Chem. Phys. Lett.*, **415,** (2005) 246

[23] J. Nappa, G. Revillod, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *Phys. Rev. B*, **71,** (2005) 161407

[24] M. Joffre, D. Yaron, R. J. Silbey and J. Zyss, *J. Chem. Phys.*, **97,** (1992) 5607

[25] G. Berkovic, G. Meshulam and Z. Kolter, *J. Chem. Phys.*, **112,** (2000) 3997

[26] F. W. Vance, B. I. Lemon and J. T. Hupp, *J. Phys. Chem. B*, **102,** (1998) 10091

[27] S. Di Bella, *New J. Chem.*, **26,** (2002) 495

[28] S. Brasselet and J. Zyss, *J. Opt. Soc. Am. B*, **15,** (1998) 257

[29] B. F. Levine and C. G. Bethea, *J. Chem. Phys.*, **63,** (1975) 2666

[30] J. L. Oudar, *J. Chem. Phys.*, **67,** (1977) 446

[31] J. L. Oudar and D. S. Chemla, *J. Chem. Phys.*, **66,** (1977) 2664

[32] S. Ghosh, A. Krishnan, P. K. Das and S. Ramakrishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **125,** (2003) 1602

Chapitre 4 : Réponse HRS d'assemblages moléculaires.

4.1 Introduction.

La possibilité de sonder la structure moléculaire à l'échelle du nanomètre est un atout majeur dans la compréhension des mécanismes moléculaires ou supramoléculaire comme la reconnaissance moléculaire où les modifications conformationnelles. Cette idée a conduit à de nombreux travaux développant des techniques de microscopie de la structure d'assemblages moléculaires nanométriques. La microscopie optique à champ proche, acronyme anglais Scanning Near-field Optical Microscopy (SNOM), permet aussi d'augmenter la résolution spatiale normalement limitée par la diffraction c'est à dire limitée à une demi-longueur d'onde typiquement. Dans le domaine visible du spectre optique la résolution est donc de l'ordre de 300 nm. En microscopie à champ proche le principe repose sur l'illumination de l'échantillon par une ouverture inférieure à la longueur d'onde et placée à une distance inférieure à la longueur d'onde. Cette technique augmente alors la résolution spatiale qui devient ainsi adéquate pour l'étude d'assemblages moléculaires nanométriques, généralement d'une taille de quelques nanomètres ou quelques dizaines de nanomètres.

L'optique non linéaire s'avère cependant être une technique efficace d'observation des assemblages moléculaires à l'échelle du nanomètre, avec une sensibilité particulière à l'arrangement moléculaire dans ces structures [1-4]. La génération de second harmonique (SHG) reste le processus optique non linéaire le plus simple puisqu'il met en œuvre un processus non linéaire du premier ordre n'impliquant que trois photons dont deux identiques éventuellement. Ce processus étant cohérent, il est intimement lié à la symétrie du système moléculaire source, voir chapitre 2 et 3, et il permet donc d'extraire des informations sur l'organisation d'assemblages moléculaire [5, 6]. Nous nous sommes intéressés jusqu'à présent à la génération de second harmonique d'un système moléculaire constitué par des sources non linéaires dispersées, sans aucune corrélation d'orientation et de position. L'intensité collectée

est donc la somme incohérente des intensités de second harmonique de chacune des sources : c'est le régime de diffusion hyper Rayleigh (HRS) et l'intensité est proportionnelle au nombre de sources participant au processus physique. Pour une solution d'assemblages de sources non linéaires, l'intensité collectée est la somme incohérente des intensités de second harmonique de chacun des assemblages. Le principe reste identique au cas précédent et il s'agit toujours de diffusion hyper Rayleigh. Cependant, dans un assemblage, le signal SHG ne provient pas d'une source non linéaire unique mais d'une réponse collective d'un ensemble de sources corrélées en position et orientation. Dans ce cas la cohérence de la réponse de génération de second harmonique implique une dépendance non linéaire avec le nombre de molécules de l'assemblage moléculaire et plus précisément une réponse quadratique. Le développement théorique de l'intensité HRS introduit alors un terme prépondérant, le terme dipolaire électrique mais le second terme quadripolaire électrique peut être non négligeable si le premier disparaît. Selon l'organisation des molécules dans l'assemblage, l'intensité de diffusion hyper Rayleigh présente donc des composantes dipolaire et quadripolaire électrique.

Le modèle de la réponse HRS d'assembles moléculaire que nous allons développer dans ce chapitre est basé sur le formalisme proposé dans le chapitre 2. Le point de départ est donc celui d'un système dipolaire électrique pure ce qui correspond en quelque sorte au cas d'une assemblée de molécules indépendantes. Un assemblage de molécules parfaitement alignées et donc complètement ordonnées est aussi assimilable à une seule molécule d'hyperpolarisabilité géante égale à la somme des hyperpolarisabilités individuelles et aura donc une réponse HRS de même nature. Le passage au cas d'un assemblage de molécules ayant une organisation centrosymétrique aura par contre une réponse de nature quadripolaire électrique car la réponse dipolaire est nulle dans ce cas. Le modèle introduit alors un paramètre quantifiant le passage du cas dipolaire pur au cas quadripolaire pur. Ce modèle est basé sur une analyse de la réponse HRS résolue en polarisation en fonction de l'organisation de l'assemblage moléculaire.

4.2 Rappel sur la réponse dipolaire électrique.

Dans le cas de N molécules sans corrélations, ni en orientation ni en position, l'intensité HRS mesurée au point $\vec{r}$ en fonction de la polarisation du champ incident est (chapitre 2) :

$$I_{HRS} = \frac{\varepsilon_0 c}{n^{(2\omega)}} N \left\langle \vec{E}(\vec{r},2\omega)\vec{E}^*(\vec{r},2\omega) \right\rangle \tag{4.1}$$

L'amplitude du champ de second harmonique est déterminée à partir du champ de fréquence fondamentale considéré comme une onde plane, ayant un angle de polarisation γ. Cette onde se propage selon l'axe OZ et est polarisé dans le plan OXY :

$$\vec{E}(\vec{r}\,',\omega) = E_\omega \left(\hat{X}\cos\gamma + \hat{Y}\sin\gamma \right) e^{i\left(\vec{k}.\vec{r}\,'-\omega t\right)} \tag{4.2}$$

avec :

$$\vec{k} = k\hat{Z} = n^{(\omega)}\frac{\omega}{c}\hat{Z} \tag{4.3}$$

Le dipôle induit à la fréquence de second harmonique pour une molécule d'hyperpolarisabilité quadratique β_m située à la position $\vec{r}\,'$ est donc :

$$\vec{p}(\vec{r}\,',2\omega) = T(\theta,\phi,\psi)\vec{\vec{\beta}}_m : \vec{E}(\vec{r}\,',\omega)\vec{E}(\vec{r}\,',\omega) \tag{4.4}$$

où T est la matrice de passage du référentiel de la molécule à celui du laboratoire, voir (2.6) [7]. Le champ de second harmonique émis dans la direction $\hat{h}$ par ce dipôle est donc [8, 9] :

$$\vec{E}(\vec{r},\vec{r}\,',2\omega) = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{2\omega n^{(2\omega)}}{c}\right)^2 \left[\left(\hat{h}\times\vec{p}(\vec{r}\,',2\omega)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iK|\vec{r}-\vec{r}\,'|}}{|\vec{r}-\vec{r}\,'|} \tag{4.5}$$

avec :

$$K = n^{(2\omega)} \frac{2\omega}{c} \tag{4.6}$$

Dans le cas d'un ensemble de molécule le champ émis au second harmonique est la somme des champs $\vec{E}(\vec{r},\vec{r}',2\omega)$ émis par chaque molécule :

$$\vec{E}(\vec{r},2\omega) = \sum_i \vec{E}_i(\vec{r},\vec{r}_i',2\omega) = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{2\omega n^{(2\omega)}}{c}\right)^2 \sum_i \left[\left(\hat{h}\times\vec{p}_i(\vec{r}_i',2\omega)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iK|\vec{r}-\vec{r}_i'|}}{|\vec{r}-\vec{r}_i'|} \tag{4.7}$$

Pour un grand nombre de molécules la somme discrète peut être remplacée par une somme continue sur le volume sondé *v*.

$$\vec{E}(\vec{r},2\omega) = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{2\omega n^{2\omega}}{c}\right)^2 \int_v \left[\left(\hat{h}\times\vec{p}(\vec{r}',2\omega)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iK|\vec{r}-\vec{r}'|}}{|\vec{r}-\vec{r}'|} \tag{4.8}$$

Les effets de champs locaux, les diffusions multiples à la fréquence fondamentale et harmonique et les interactions moléculaires conduisant à des modifications de l'hyperpolarisabilité quadratique sont négligés pour simplifier la discussion.

4.3 L'assemblage moléculaire.

Le volume sondé contient *N* molécules mais celles-ci sont réparties en *q* assemblages de *m* molécules. Dans ce cas le nombre total *N* de molécules dans le volume est $N = q \times m$. En général, chaque assemblage contient un nombre différent de *m* et seulement *m* molécules et il existe une distribution. Ici nous choisissons une population de *q* assemblages. L'intensité HRS est donc obtenue finalement en réalisant la moyenne sur les orientations des assemblages de la même façon que nous avions réalisé la moyenne sur les orientations des molécules au chapitre 2. L'isotropie du milieu liquide est donc préservée.

$$I_{HRS} = \frac{\varepsilon_0 c}{n^{(2\omega)}} \left\langle \vec{E}(\vec{r}, 2\omega) \vec{E}^*(\vec{r}, 2\omega) \right\rangle \tag{4.9}$$

Dans ce cas, l'intensité HRS est la moyenne sur toutes les orientations d'un assemblage $\vec{E}^a(\vec{r}, 2\omega)$ multiplié par le nombre q d'assemblages :

$$I_{HRS} = \frac{\varepsilon_0 c}{n^{(2\omega)}} q \left\langle \vec{E}^a(\vec{r}, 2\omega) \vec{E}^{a*}(\vec{r}, 2\omega) \right\rangle \tag{4.10}$$

Le volume d'un assemblage contient m molécules. Le calcul de l'intensité HRS peut être obtenue facilement pour deux cas particuliers : les molécules de l'assemblage sont parfaitement alignées ou les molécules de l'assemblage ont une distribution centrosymétrique. Ces deux cas nécessitent un double changement de référentiel : d'abord de la molécule (indice m) vers l'assemblage (indice A) puis de l'assemblage vers le laboratoire (indice L), voir Figure 1. Toutefois, nous procédons d'abord par le calcul du formalisme général avant de préciser ces deux cas limites.

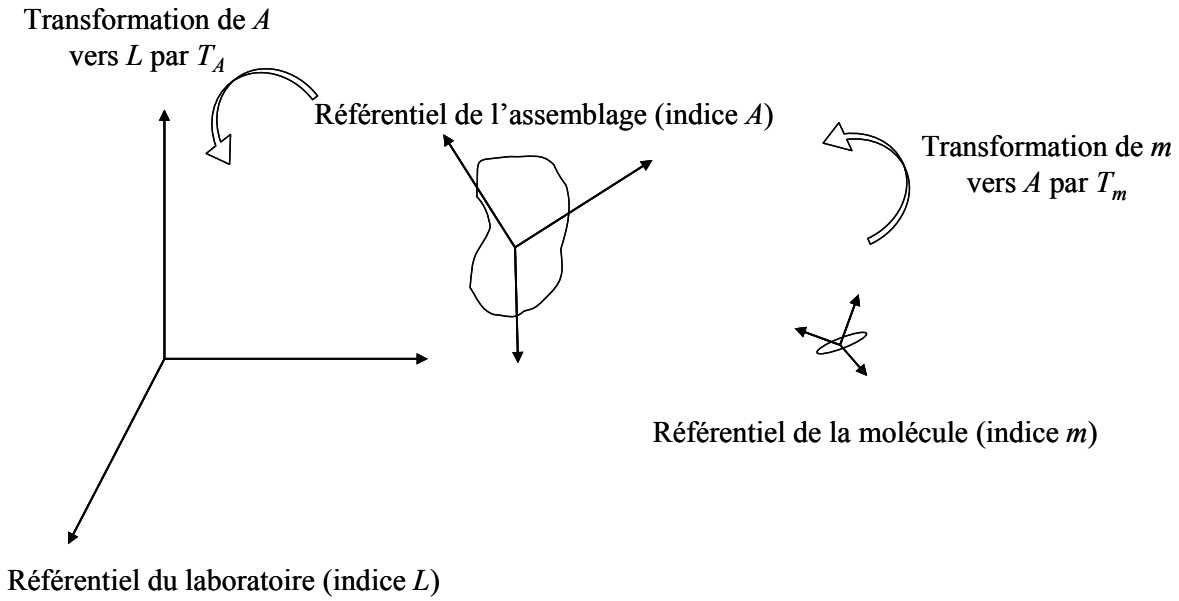


Figure 1 : Changements de référentiels, d'abord de la molécule (indice m) vers l'assemblage (indice A) puis de l'assemblage vers le laboratoire (indice L).

4.3.1 Assemblage quelconque : formalisme général.

Dans le cas général l'amplitude du champ de second harmonique émis par un assemblage de volume V, de densité volumique $\rho_V(\vec{r}_A')$, à la position $\vec{r}^{\,a}$ formé de molécules à la position $\vec{r}\,'$ est :

$$\vec{E}(\vec{r},2\omega)=\frac{4\pi}{\varepsilon_0}\left(\frac{E_\omega n^{(2\omega)}}{\lambda}\right)^2\int_V \rho_V(\vec{r}_L')\left[\left(\hat{h}\times\left(\vec{\vec{\beta}}_L e^{2i\vec{k}.\vec{r}_L'}:\hat{e}\hat{e}\right)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iK|\vec{r}_L-\vec{r}_L'|}}{|\vec{r}_L-\vec{r}_L'|}dV \qquad (4.11)$$

avec, dans notre configuration expérimentale :

$$\hat{e}\hat{e}=\hat{X}\hat{X}\cos^2\gamma+2\hat{X}\hat{Y}\cos\gamma\sin\gamma+\hat{Y}\hat{Y}\sin^2\gamma \qquad (4.12)$$

l'indice L indiquant la prise en compte par rapport au référentiel du laboratoire. L'hyperpolarisabilité dans le référentiel du laboratoire est obtenue par transformation par la matrice d'Euler, voir (2.6). Dans le cas de l'assemblage le passage du référentiel de la molécule à celui du laboratoire nécessite le passage par le référentiel de l'assemblage. L'hyperpolarisabilité dans le laboratoire est donc :

$$\vec{\vec{\beta}}_L=T_A T_m \vec{\vec{\beta}}_m=T_A\vec{\vec{\beta}}_A \qquad (4.13)$$

avec : $\vec{\vec{\beta}}_A=T_m\vec{\vec{\beta}}_m$. L'approximation du champ lointain donne par ailleurs :

$$|\vec{r}-\vec{r}\,'|\simeq\vec{r}-\hat{h}.\vec{r}\,' \qquad (4.14)$$

avec $r\gg r'$. Donc par multiplication par K il vient :

$$\frac{e^{iK|\vec{r}-\vec{r}\,'|}}{|\vec{r}-\vec{r}\,'|}e^{2i\vec{k}.\vec{r}\,'}=\frac{e^{iKr}}{r}e^{-i\vec{K}.\vec{r}\,'}e^{2i\vec{k}.\vec{r}\,'}=\frac{e^{iKr}}{r}e^{i\Delta\vec{k}.\vec{r}\,'} \qquad (4.15)$$

où :

$$\Delta\vec{k} = 2\vec{k} - \vec{K} = 2k\hat{Z} - K\hat{h} = \frac{2\omega}{c}\left(n^{(\omega)}\hat{Z} - n^{(2\omega)}\hat{h}\right) \tag{4.16}$$

Les assemblages sont formés par des molécules de taille nanométrique et n'excèdent généralement pas un rayon de l'ordre de la dizaine de nanomètres. Ainsi :

$$e^{i\Delta\vec{k}.\vec{r}'} = 1 + i\Delta\vec{k}.\vec{r}' \tag{4.17}$$

A partir de (4.11), (4.13), (4.15) et (4.17) l'amplitude du champ de second harmonique s'écrit :

$$\begin{aligned}\vec{E}(\vec{r},2\omega) &= \frac{4\pi}{\varepsilon_0}\left(\frac{E_\omega n^{(2\omega)}}{\lambda}\right)^2\left[\left(\hat{h}\times T_A\left(\int_V \rho(\vec{r}_A')\left(1+i\Delta\vec{k}.\vec{r}_A'\right)\vec{\beta}_A dV : \hat{e}\hat{e}\right)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iKr}}{r} \\ &= \frac{4\pi}{\varepsilon_0}\left(\frac{E_\omega n^{(2\omega)}}{\lambda}\right)^2\left\{\left[\left(\hat{h}\times\vec{p}_{eff,L}\right)\times\hat{h}\right]+\left[\left(\hat{h}\times i\Delta\vec{k}.\vec{q}_{eff,L}\right)\times\hat{h}\right]\right\}\frac{e^{iKr}}{r}\end{aligned} \tag{4.18}$$

où sont introduits le moment dipolaire intégré (effectif) de l'assemblage :

$$\vec{p}_{eff,L} = T_A\int_V \rho_V(\vec{r}_A')\vec{\beta}_A dV : \hat{e}\hat{e} = T_A\vec{\beta}_{eff,A} : \hat{e}\hat{e} \tag{4.19}$$

et le moment quadripolaire intégré (effectif) de l'assemblage :

$$\vec{q}_{eff,L} = T_A\int_V \rho_V(\vec{r}_A')\vec{r}_A'\vec{\beta}_A dV : \hat{e}\hat{e} = T_A\vec{\gamma}_{eff,A} : \hat{e}\hat{e} \tag{4.20}$$

Dans ces relations sont introduits le tenseur effectif d'ordre deux du moment dipolaire :

$$\vec{\beta}_{eff,A} = \int_V \rho_V(\vec{r}_A')\vec{\beta}_A dV \tag{4.21}$$

et le tenseur effectif d'ordre trois du moment quadripolaire :

$$\vec{\gamma}_{eff,A} = \int_V \rho_V(\vec{r}_A')\vec{r}_A'\vec{\beta}_A dV \tag{4.22}$$

Ce dernier tenseur effectif possède quatre indices car c'est le produit tensoriel d'un vecteur et d'un tenseur de rang trois. C'est donc un tenseur de rang quatre mais les règles de transformations restent similaires à celles des tenseurs de rang trois

4.3.2 Assemblages parfaitement ordonnés : cas des molécules alignées.

Un premier cas particulier est celui d'un assemblage où l'alignement de toutes les molécules est parfait. Dans ce cas, le terme $\Delta\vec{k}.\vec{q}_{eff,L}$ est négligeable devant le moment dipolaire de l'assemblage puisqu'il est d'un ordre supérieur en r'/λ. L'amplitude du champ de second harmonique est alors la somme des amplitudes de chacune des molécules d'où :

$$\vec{E}^a(\vec{r},2\omega) = m\,\vec{E}^m(\vec{r},2\omega) \tag{4.23}$$

où $\vec{E}^m$ est l'amplitude du champ de second harmonique d'une seule molécule de cet assemblage et m le nombre de molécules dans l'assemblage. L'intensité de second harmonique est donc :

$$I_{HRS} = \frac{\varepsilon_0 c}{n^{(2\omega)}} m^2 \left\langle \vec{E}^m(\vec{r},2\omega)\vec{E}^{m*}(\vec{r},2\omega)\right\rangle \tag{4.24}$$

A cause de la cohérence locale des molécules, l'intensité dépend ainsi quadratiquement du nombre de molécules contrairement au cas des molécules dispersées dans la solution ou celle-ci varie linéairement avec ce nombre, voir chapitre 2. L'intensité est cependant identique dans sa dépendance envers la polarisation du champ incident au cas de la molécule unique. L'assemblage peut de ce point de vue être considéré comme une seule molécule. L'intensité HRS polarisée selon la direction Γ (verticale ou horizontale) s'écrit alors en fonction de la polarisation γ du champ incident (chapitre 2) :

$$I_{HRS}^{\Gamma} = a^{\Gamma}\cos^4\gamma + b^{\Gamma}\cos^2\gamma\sin^2\gamma + c^{\Gamma}\sin^4\gamma \tag{4.25}$$

avec :

$$b^V = a^V + c^V \tag{4.26}$$

$$2a^H = 2c^H = b^H \tag{4.27}$$

Comme pour la molécule la symétrie de l'assemblage est caractérisée par le facteur de dépolarisation *D* :

$$D = \frac{c^V}{a^V} \tag{4.28}$$

identique à celui de la molécule correspondante. La mesure du facteur de dépolarisation D permettrait de déduire, dans le cas de molécule possédant une symétrie avec peu d'éléments d'hyperpolarisabilité non nuls et indépendant, les éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique de celle-ci. De la même façon, ces éléments pour l'assemblage pourraient êtres obtenues.

4.3.3 Assemblages parfaitement désordonnés : cas des molécules ayant une distribution centrosymétrique.

4.3.3.1 Cas général.

La composante dipolaire de l'amplitude du champ d'un assemblage de molécules dont la distribution est centrosymétrique et dont la taille est négligeable devant les longueurs d'onde fondamentale et harmonique, est simplement :

$$\vec{E}(\vec{r},2\omega)=\frac{4\pi}{\varepsilon_0}\left(\frac{E_\omega n^{(2\omega)}}{\lambda}\right)^2\left[\left(\hat{h}\times T_A\left(\int_V \rho_V(\vec{r}_A')\vec{\beta}_A dV:\hat{e}\hat{e}\right)\right)\times\hat{h}\right]\frac{e^{iKr}}{r} \tag{4.29}$$

L'intégrale étant nulle pour une distribution centrosymétrique, l'intensité HRS doit être portée au second ordre du paramètre r'/λ. L'intensité n'est donc pas nulle mais égale à sa contribution quadripolaire, les ordres supérieurs étant négligés. Dans le cas particulier de notre détection expérimentale à 90° ($\hat{h}=-\hat{Y}$) on a :

$$\Delta\vec{k}=\frac{2\omega}{c}\left(n^{(\omega)}\hat{Z}+n^{(2\omega)}\hat{Y}\right)\approx\frac{2\omega}{c}n\left(\hat{Z}+\hat{Y}\right) \tag{4.30}$$

La dispersion du milieu est ici négligée pour simplifier le calcul. Cet axe de détection particulier limite le nombre d'éléments du tenseur accessible. En effet, le terme quadripolaire, voir (4.20), est :

$$\vec{\Gamma}_{eff,L}=\hat{\kappa}.\vec{\gamma}_{eff,L}:\hat{e}\hat{e} \tag{4.31}$$

en posant $\hat{\kappa}=\Delta\vec{k}/\Delta k$. Avec (4.30), le terme quadripolaire s'écrit :

$$\vec{\Gamma}_{eff,L}=\frac{1}{\sqrt{2}}\left(\hat{Z}+\hat{Y}\right).\vec{\gamma}_{eff,L}:\left(\hat{X}\hat{X}\cos^2\gamma+2\hat{X}\hat{Y}\cos\gamma\sin\gamma+\hat{Y}\hat{Y}\sin^2\gamma\right) \tag{4.32}$$

Les composantes *I=X,Y,Z* du terme quadripolaire dans le référentiel du laboratoire sont données par :

$$\begin{aligned}\Gamma_{eff,L,I}&=\frac{1}{\sqrt{2}}\left[\gamma_{eff,L,ZIXX}\cos^2\gamma+2\gamma_{eff,L,ZIXY}\cos\gamma\sin\gamma+\gamma_{eff,L,ZIYY}\sin^2\gamma\right]\\&+\frac{1}{\sqrt{2}}\left[\gamma_{eff,L,YIXX}\cos^2\gamma+2\gamma_{eff,L,YIXY}\cos\gamma\sin\gamma+\gamma_{eff,L,YIYY}\sin^2\gamma\right]\\&=\tilde{\gamma}_{eff,L,IXX}\cos^2\gamma+\tilde{\gamma}_{eff,L,IXY}\cos\gamma\sin\gamma+\tilde{\gamma}_{eff,L,IYY}\sin^2\gamma\end{aligned} \tag{4.33}$$

où :

$$\tilde{\gamma}_{eff,L,IXX} = \frac{1}{\sqrt{2}}\left[\gamma_{eff,L,ZIXX} + \gamma_{eff,L,YIXX}\right] \tag{4.34}$$

$$\tilde{\gamma}_{eff,L,IXY} = \frac{\sqrt{2}}{2}\left[\gamma_{eff,L,ZIXY} + \gamma_{eff,L,YIXY}\right] \tag{4.35}$$

$$\tilde{\gamma}_{eff,L,IYY} = \frac{1}{\sqrt{2}}\left[\gamma_{eff,L,ZIYY} + \gamma_{eff,L,YIYY}\right] \tag{4.36}$$

Etant donnée notre configuration expérimentale ($\hat{h} = -\hat{Y}$), les composantes du terme quadripolaire accessibles par la mesure sont simplement $\Gamma_{eff,L,X}$ $\Gamma_{eff,L,Z}$. En effet :

$$\left(-\hat{Y} \times \vec{\Gamma}_{eff,L}\right) \times \left(-\hat{Y}\right) = \begin{pmatrix} \Gamma_{eff,L,X} \\ 0 \\ \Gamma_{eff,L,Z} \end{pmatrix} \tag{4.37}$$

On obtient finalement pour les intensités de second harmonique polarisées selon la direction V ou H, lorsque l'absorption est négligée :

$$I_{HRS}^{V} = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} \left(\Delta k\right)^2 \left\langle \Gamma_{eff,L,X} \Gamma_{eff,L,X}^{*} \right\rangle = a^V \cos^4\gamma + b^V \cos^2\gamma \sin^2\gamma + c^V \sin^4\gamma \tag{4.38}$$

$$I_{HRS}^{H} = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} \left(\Delta k\right)^2 \left\langle \Gamma_{eff,L,Z} \Gamma_{eff,L,Z}^{*} \right\rangle = a^H \cos^4\gamma + b^H \cos^2\gamma \sin^2\gamma + c^H \sin^4\gamma \tag{4.39}$$

avec :

$$a^V = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} \left(\Delta k\right)^2 \left\langle \tilde{\gamma}_{eff,L,XXX} \tilde{\gamma}_{eff,L,XXX}^{*} \right\rangle \tag{4.40}$$

$$b^V = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} (\Delta k)^2 \left\langle \tilde{\gamma}_{eff,L,XXX} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,XYY} + \tilde{\gamma}^*_{eff,L,XXX} \tilde{\gamma}_{eff,L,XYY} + \tilde{\gamma}_{eff,L,XXY} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,XXY} \right\rangle \quad (4.41)$$

$$c^V = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} (\Delta k)^2 \left\langle \tilde{\gamma}_{eff,L,XYY} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,XYY} \right\rangle \quad (4.42)$$

$$a^H = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} (\Delta k)^2 \left\langle \tilde{\gamma}_{eff,L,ZXX} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,ZXX} \right\rangle \quad (4.43)$$

$$b^H = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} (\Delta k)^2 \left\langle \tilde{\gamma}_{eff,L,ZXX} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,ZYY} + \tilde{\gamma}^*_{eff,L,ZXX} \tilde{\gamma}_{eff,L,ZYY} + \tilde{\gamma}_{eff,L,ZXY} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,ZXY} \right\rangle \quad (4.44)$$

$$c^H = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} (\Delta k)^2 \left\langle \tilde{\gamma}_{eff,L,ZYY} \tilde{\gamma}^*_{eff,L,ZYY} \right\rangle \quad (4.45)$$

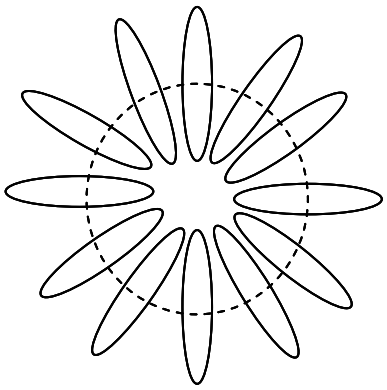
Ces relations ont la même forme générale que celles obtenues pour les molécules libres, voir chapitre 2. Pour calculer la moyenne sur les orientations en fonction des éléments du tenseur $\tilde{\gamma}_{eff,L}$ la relation classique suivante doit être utilisée [10] :

$$\left\langle \gamma^{IJKL}_{eff,L} \gamma^{MNOP*}_{eff,L} \right\rangle = \frac{1}{8\pi^2} \int T_A^{Ii} T_A^{Jj} T_A^{Kk} T_A^{Ll} T_A^{Mm} T_A^{Nn} T_A^{Oo} T_A^{Pp} \gamma^{ijkl}_{eff,A} \gamma^{mnop*}_{eff,A} d\Omega \quad (4.46)$$

L'intensité HRS d'une distribution centrosymétrique de molécules n'est donc pas strictement nulle. Cette intensité est cependant calculable en connaissant explicitement la position et l'orientation de chaque molécule formant l'assemblage.

4.3.3.2 Cas de la sphère.

La sphère est un cas particulier d'un assemblage de molécules possédant une organisation centrosymétrique. Si on admet que la structure moléculaire est dipolaire, le tenseur d'hyperpolarisabilité peut être réduit à un seul élément non nul selon l'axe moléculaire Oz, l'élément $\beta_{m,zzz}$. C'est le cas pour des molécules du type « push-pull » par exemple. La structure est par exemple formée par ces molécules localisées à la surface d'une sphère de rayon *a* telle que l'axe Oz soit normal à la surface de la sphère.



Molécules à la surface d'une sphère, orientés vers le centre.

Figure 2 : Pour un grand nombre de molécules, la résultante dipolaire de molécules disposées à la surface d'une sphère et orientés vers le centre de la sphère est nulle puisque c'est une distribution centrosymétrique de molécules.

La composante dipolaire de cet assemblage est bien entendue nulle. Une autre organisation centrosymétrique est une organisation aléatoire mais ce cas ne sera pas discuté ici explicitement. Puisque seul l'élément $\beta_{m,zzz}$ est pris en compte on a :

$$\beta_{A,IJK} = T_m^{Iz} T_m^{Jz} T_m^{Kz} \beta_{m,zzz} \tag{4.47}$$

et

$$\vec{r}_A' = T_m \vec{r}_m' \tag{4.48}$$

La position des molécules à la surface d'une sphère de rayon *a* permet de définir simplement le vecteur position $\vec{r}\,'$ et d'en déduire le vecteur position $\vec{r}_A\,'$ dans le référentiel de l'assemblage. Dans son référentiel, la molécule est orientée le long de l'axe O*z* de son référentiel et donc $\hat{r}_m\,' = \hat{z}$. Par suite :

$$\begin{pmatrix} r_{A,X}\,' \\ r_{A,Y}\,' \\ r_{A,Z}\,' \end{pmatrix} = T_m \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \tag{4.49}$$

Le calcul des éléments du tenseur $\gamma_{eff,A}$ se fait par intégration sur la sphère à l'aide d'une densité surfacique $\rho_S\left(\vec{r}_A\,'\right)$. On a donc $\theta' \in [0, \pi]$, $\phi' \in [0, 2\pi]$ et :

$$\gamma_{eff,A,Zjkl} = \int_V \rho_S\left(\vec{r}_A\,'\right) r_{A,Z}\,' \beta_{A,jkl} dV \tag{4.50}$$

$$\gamma_{eff,A,Yjkl} = \int_V \rho_S\left(\vec{r}_A\,'\right) r_{A,Y}\,' \beta_{A,jkl} dV \tag{4.51}$$

avec :

$$dV = r^2 \sin\theta dr d\theta d\phi \tag{4.52}$$

L'intégration sur la sphère conduit à :

$$\begin{aligned} \gamma_{eff,A,ZXXX} &= \gamma_{eff,A,YXXX} = \gamma_{eff,A,ZXXY} = \gamma_{eff,A,ZXYY} = \gamma_{eff,A,YXYY} \\ &= \gamma_{eff,A,YZXX} = \gamma_{eff,A,ZZXY} = \gamma_{eff,A,YZXY} = \gamma_{eff,A,YZYY} = 0 \end{aligned} \tag{4.53}$$

$$\gamma_{eff,A,YXXY} = \gamma_{eff,A,ZZXX} = \gamma_{eff,A,ZZYY} = \frac{1}{15} ma\beta_{m,zzz} \tag{4.54}$$

puisque $\rho_S(\vec{r}_A') = m/S$ et $S = 4\pi a^2$. Le rayon de la sphère provient du produit entre l'élément de volume et la coordonnée de la molécule à la surface de la sphère de rayon *a*. *m*, le nombre de molécules dans l'assemblage, est le résultat de l'intégration de la densité surfacique sur le volume. La symétrie sphérique de l'assemblage implique que la matrice de passage du référentiel de l'assemblage au référentiel du laboratoire est la matrice identité puisque la sphère n'a pas d'orientation privilégiée dans son référentiel, donc :

$$\tilde{\gamma}_{eff,L,IJK} = \tilde{\gamma}_{eff,A,ijk} \tag{4.55}$$

Dans le cas de la sphère, les coefficients a^Γ, b^Γ, c^Γ sont :

$$a^V = c^V = 0 \tag{4.56}$$

$$b^V = \frac{4\pi^2 c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 \varepsilon_0 \lambda^4} (\Delta k)^2 \frac{m^2 a^2}{225} \left|\beta^2_{m,zzz}\right| \tag{4.57}$$

$$a^H = c^H = \frac{b^H}{2} = \frac{c\left(n^{(2\omega)}\right)^3}{r^2 {\varepsilon_0}^3 \lambda^4} (\Delta k)^2 \frac{m^2 a^2}{225} \left|\beta^2_{m,zzz}\right| \tag{4.58}$$

Dans le cas d'un assemblage centrosymétrique l'intensité HRS se met donc sous la forme :

$$I^V_{HRS} = b^V \cos^2\gamma \sin^2\gamma \tag{4.59}$$

$$I^H_{HRS} = a^H \tag{4.60}$$

4.4 Le paramètre η.

Un assemblage de molécules complètement alignées correspond au cas d'une molécule seule et dans ce cas les coefficients a^{Γ}, b^{Γ}, c^{Γ} de l'intensité HRS polarisée verticalement suivent la relation :

$$b^{V} = a^{V} + c^{V} \tag{4.61}$$

Pour un assemblage centrosymétrique en revanche, la relation devient :

$$a^{V} = c^{V} = 0 \tag{4.62}$$

A partir de ces deux cas limites on peut définir un paramètre η de telle façon que η=1 pour une réponse purement dipolaire et η=0 pour une réponse purement quadripolaire. Ondéfinit donc le paramètre η tel que :

$$\eta = \frac{a^{V} + c^{V}}{b^{V}} \tag{4.63}$$

Ce paramètre η permet ainsi de quantifier le poids respectif des composantes dipolaire et quadripolaire de l'intensité HRS mesurée. Les mesures d'HRS résolue en polarisation donnant directement accès aux coefficients a^{Γ}, b^{Γ}, c^{Γ}, la valeur du paramètre η est rapidement extraite. Elle permet donc de quantifier la centrosymétrie de la distribution moléculaire de l'assemblage.

4.5 Application.

La mesure de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident pour une solution contenant des assemblages permet une quantification de l'état d'organisation des systèmes à travers ce paramètre η. Le cas d'un

assemblage partiellement ordonné ne permet pas le calcul analytique de l'intensité HRS. Ce calcul nécessite la connaissance exacte des positions de chacune des molécules de l'assemblage. Ce calcul peut être mené pour un nombre de molécules grand pour utiliser des intégrales continues et peser l'évolution des composantes dipolaire et quadripolaire. Dans le cas particulier de molécules à la surface d'une sphère la composante dipolaire s'annule. Dans les cas de surface non centrosymétrique l'intensité est la somme d'une contribution dipolaire et d'une contribution quadripolaire et d'un terme d'interférence. Dans le cas de surfaces non centrosymétriques le paramètre η aura ainsi une valeur comprise entre 0 et 1 caractéristique de la proportion des composantes dipolaire et quadripolaire. Cette mesure pour une solution d'assemblages partiellement ordonnés est une indication à une échelle bien inférieure à la longueur d'onde de l'organisation des assemblages de la solution.

Pour une réponse HRS donnant un paramètre d'ordre compris entre 0 et 1, la réponse peut aussi être considérée comme la superposition incohérente de deux populations d'objets, ceux possédant une réponse uniquement dipolaire et ceux possédant une réponse uniquement quadripolaire. Cette hypothèse est justifiable dans le cas des systèmes micellaires, voir chapitre 3 et 5. Ces système possèdent deux phase. En dessous de la concentration micellaire critique (CMC) les molécules sont libres en solution. Au dessus de la CMC les molécules en excès forment des micelles sphériques. Dans ce cas le système contient deux populations, une d'objets parfaitement ordonnés de réponse purement dipolaire telle que $a_{dip}^{V} + c_{dip}^{V} = b_{dip}^{V}$ et une d'objets centrosymétriques de réponse purement quadripolaire avec $a_{quad}^{V} = c_{quad}^{V} = 0$. Les indices *dip* et *quad* signifie respectivement composante dipolaire et composante quadripolaire. Pour ces systèmes l'intensité sera donc croissante avec la concentration en molécule jusqu'à la CMC. A ce point la composante dipolaire devient constante et la composante quadripolaire augmentera. Elle sera aussi proportionnelle au nombre de molécules puisqu'elle est proportionnelle au nombre d'assemblages. La rupture de pente intervient à la CMC comme cela a été mesuré par Gosh *et al.* [3]. Dans ces mesures, l'intensité au point de transition diminue avant de reprendre une progression linéaire. Ceci peut s'expliquer, lors de la formation des premières micelles, par la disparition de molécules libres. Dans le cadre théorique présenté, la Figure 3 le résultat attendue.

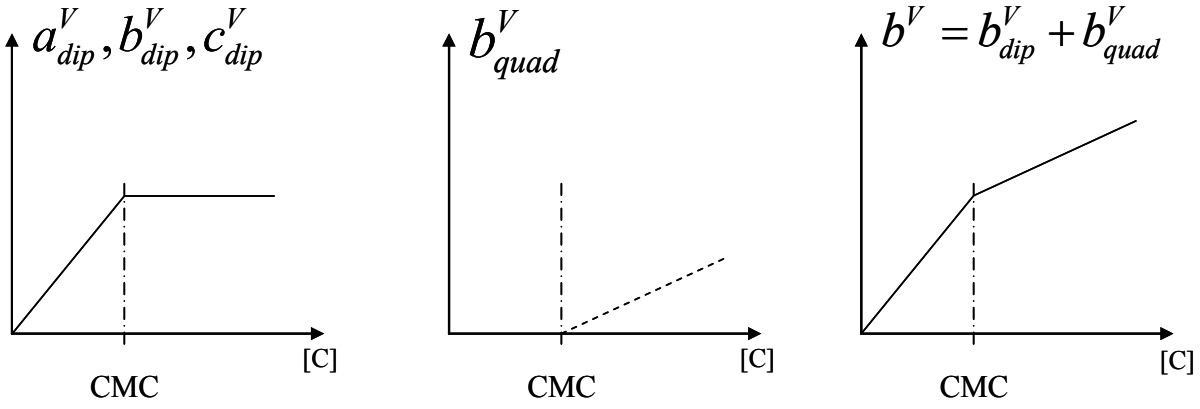


Figure 3 : Réponse HRS d'un système micellaire.

La superposition des deux réponses est de la forme :

$$I^V_{HRS} = a^V_{dip}\cos^4\gamma + \left(b^V_{dip} + b^V_{quad}\right)\cos^2\gamma\sin^2\gamma + c^V_{dip}\sin^4\gamma \qquad (4.64)$$

Cette intensité est la superposition d'une réponse purement dipolaire et purement quadripolaire. Ces intensités polarisées selon V sont reportées sur la Figure 4 sous forme de graphe polaire en fonction de l'angle de polarisation du champ incident.

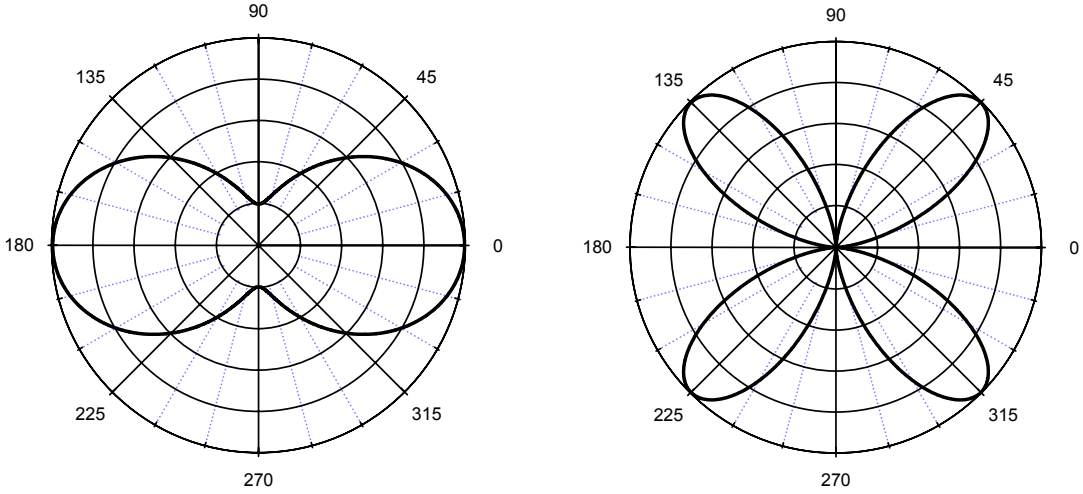


Figure 4 : Intensité HRS polarisé selon V en fonction de la polarisation du champ incident (0°=v). A gauche pour un assemblage parfaitement ordonné (réponse dipolaire), à droite pour un assemblage complètement désordonné (réponse quadripolaire).

Le paramètre η mesuré lors de la superposition de deux signaux vaut donc:

$$\eta = \frac{a_{dip}^{V} + c_{dip}^{V}}{b_{dip}^{V} + b_{quad}^{V}} = \frac{b_{dip}^{V}}{b_{dip}^{V} + b_{quad}^{V}} \tag{4.65}$$

Pour les solutés micellaires, la mesure du paramètre η donne ainsi la proportion respective de la composante dipolaire dans l'intensité HRS. Ce paramètre η donne donc aussi la proportion de micelles formées dans la solution. C'est là tout son intérêt.

4.6 Conclusion.

L'amplitude du champ à la fréquence de second harmonique est constituée de deux termes, un terme dipolaire électrique et un terme quadripolaire électrique. La mesure de l'intensité de diffusion hyper Rayleigh en fonction de la polarisation du champ à la fréquence fondamentale d'une solution contenant des assemblages moléculaires permet d'établir un paramètre η. Ce paramètre caractérise le poids respectif des composantes dipolaire électrique et quadripolaire électrique de l'intensité. Ce modèle est appliqué au cas d'assemblages micellaires qui constituent un parfait exemple d'un système biphasique. Cette mesure permet alors de quantifier la proportion d'assemblages moléculaires donc de micelles et par la suite de déterminer la CMC d'une solution d'un surfactant. La détermination par le paramètre η de l'organisation d'un assemblage moléculaire nécessite un traitement théorique sur la réponse HRS en fonction du nombre de molécules et de leur organisation. La distance entre les molécules devient également un paramètre à étudier pouvant modifier le poids de la composante quadripolaire. Le cas d'un assemblage partiellement organisé possédant à la fois une composante dipolaire et quadripolaire nécessite un développement plus important en menant des calculs explicites en fonction du nombre de molécules pour connaître l'évolution exacte de l'intensité en fonction de l'organisation des assemblages.

Bibliographie

[1] R. W. Terhune, P. D. Maker and C. M. Savage, *Phys. Rev. Lett.*, **14,** (1965) 681

[2] J. Nappa, G. Revillod, G. Martin, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *Recent Res. Devel. Physical. Chem.*, **7,** (2004) 439

[3] S. Ghosh, A. Krishnan, P. K. Das and S. Ramakrishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **125,** (2003) 1602

[4] G. Revillod, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin and P.-F. Brevet, *J. Phys. Chem. B*, **109,** (2005) 5383-5387

[5] R. W. Boyd, *Nonlinear optics*, Academic press, 1992

[6] S. Brasselet and J. Zyss, *J. Opt. Soc. Am. B*, **15,** (1998) 257

[7] P.-F. Brevet, *Surface Second Harmonic Generation*, Presses polytechniques et universitaires romandes, 1997

[8] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, Wiley & sons, New york, 1925

[9] C. F. Bohren and D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, Wiley, New york, 1983

[10] R. Bersohn, Y. H. Pao and H. L. Frisch, *J. Chem. Phys.*, **45,** (1966) 3184

Chapitre 5 : Organisation dans les assemblages moléculaires.

5.1 Introduction.

La technique de diffusion hyper Rayleigh (HRS) permet de caractériser les molécules dans les milieux liquides, voir chapitre 2 et 3. Cette technique permet également de décrire des structures plus complexes comme les assemblages moléculaires, voir chapitre 4. Les assemblages moléculaires de taille nanométrique sont la base de structures rencontrées régulièrement dans la nature. Ce sont aussi des systèmes hétérogènes et dynamiques les structures n'étant pas figées mais évoluant au cours du temps. Le système micellaire est un exemple classique d'assemblage moléculaire, voir chapitre 3 [1]. Les micelles sont constituées d'un nombre de molécules fluctuant au cours du temps mais dont la valeur moyenne est donnée par une relation d'équilibre entre les molécules libres et les molécules formant les micelles. La forme des micelles évolue aussi au cours du temps autour d'une forme d'équilibre, en général sphérique dans la gamme de concentrations que nous considérons. Les mesures HRS permettent ainsi de suivre la formation des micelles [2]. La capacité de suivre l'évolution de structure simple comme ces micelles par HRS permet d'envisager une extension de la technique aux systèmes plus complexes comme les systèmes biologiques. Ces structures sont des assemblages moléculaires hétérogènes en perpétuelle interaction avec leur environnement. Les mesures HRS nous semblent adaptées à ces systèmes.

Comme première étape, ce chapitre se propose d'illustrer le potentiel de la technique. Ainsi, en application du modèle développé au chapitre 4, des mesures par HRS résolue en polarisation ont été menées sur des assemblages moléculaires pour deux molécules. Dans un premier temps, ces molécules ont été caractérisées pour déterminer leurs propriétés de symétrie et d'hyperpolarisabilité. Puis l'environnement de ces molécules a été modifié pour induire l'agrégation de celles-ci soit par mélange de solvant soit par addition d'un composé

co-surfactant, le sodium dodecyl sulfate. Dans tous les cas la mesure du paramètre η, introduit au chapitre 4, en fonction de l'évolution de cet environnement a été réalisée

5.2 Assemblages de DiA

5.2.1 Le DiA : caractérisation.

Le 4 -(4–dihexadecylaminostyryl)-N-methylpyridinium iodide (DiA) est une sonde de fluorescence (Fluo probes, FP66096), voir Figure 1. Cette molécule est insoluble dans l'eau mais soluble dans le méthanol. Le contre ion est I^-. Le spectre d'absorption UV-visible est reporté sur la Figure 2. Le maximum d'absorption se situe à 470 nm et présente une absorption non négligeable à la longueur d'onde du second harmonique de 400 nm. L'absorption à la longueur d'onde fondamentale de 800 nm est par contre négligeable.

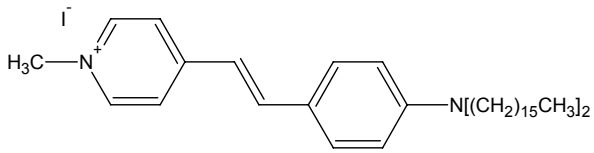


Figure 1 : 4-(4–dihexadecylaminostyryl)-N-methylpyridinium iodide (DiA)

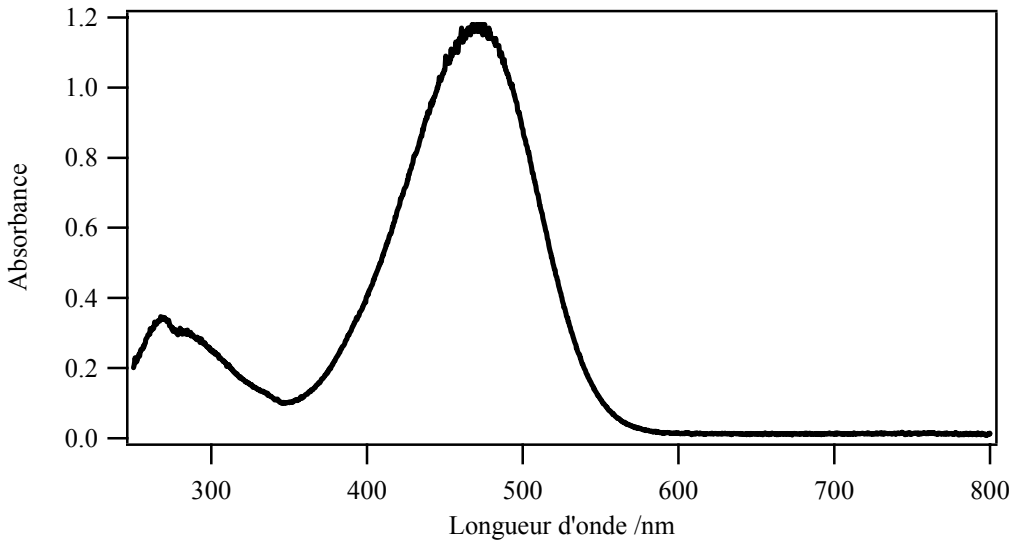
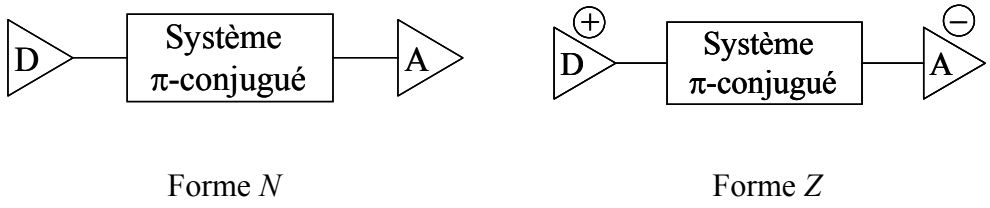


Figure 2: Spectre d'absorption d'une solution de $[DiA] = 31\times10^{-6} M$ *dans le méthanol.*

Le DiA est une molécule amphiphile cationique. Elle possède une tête hydrophile centrée sur la charge positive et une partie hydrophobe formée de deux cycles aromatiques à laquelle sont fixées deux chaînes aliphatiques de 16 carbones. Cette molécule possède une forte réponse non linéaire en raison de sa structure « push-pull », voir Figure 3. Les composés « push-pull » possèdent un groupe donneur et un groupe accepteur d'électrons encadrant un système d'électrons π délocalisés. Le modèle classique décrivant cette réponse non linéaire pour ces composés est celui de deux formes : une forme neutre (*N*) et une forme zwitterionique (*Z*) [3]. La forme *N* est la structure électronique de base où aucun transfert de charge n'a eu lieu tandis que la forme *Z* est celle obtenue après un transfert de charge.



Forme *N* Forme *Z*

Figure 3 : Représentation schématique des deux formes, neutre (N) et zwitterionique (Z) d'un système "push-pull" linéaire. D est un groupe donneur d'électrons, A est un groupe accepteur d'électrons.

La valeur absolue de l'hyperpolarisabilité du DiA dans le méthanol a été mesurée par la méthode de la référence interne en diffusion hyper Rayleigh, voir paragraphe 2.4. L'intensité HRS non polarisée de solution de DiA de différentes concentrations pour une polarisation verticale du champ incident, corrigée de l'absorption à 400 nm et normalisée par l'intensité HRS du méthanol est reportée sur la Figure 4 en fonction de la concentration en DiA. Pour chaque concentration l'intensité est enregistrée afin d'éliminer l'éventuel signal de fond, voir chapitre 3. On rappelle, voir chapitre 2, que l'intensité HRS est de la forme :

$$I_{HRS} = GI^2 \left(N_{MeOH} \left\langle \beta^2_{MeOH} \right\rangle + N_{DiA} \left\langle \beta^2_{DiA} \right\rangle \right) e^{-(2A_\omega + A_{2\omega})} \qquad (5.1)$$

où *G* est une constante, *I* est l'intensité à la longueur d'onde fondamentale, *N* est la concentration, $\left\langle \beta^2 \right\rangle = \left\langle \beta^2_{L,XXX} \right\rangle + \left\langle \beta^2_{L,ZXX} \right\rangle$ est le module de l'hyperpolarisabilité quadratique fonction des éléments du tenseur dans le référentiel du laboratoire et *A* les absorbances aux longueurs d'onde fondamentale et harmonique. On a ici $A_\omega = 0$.

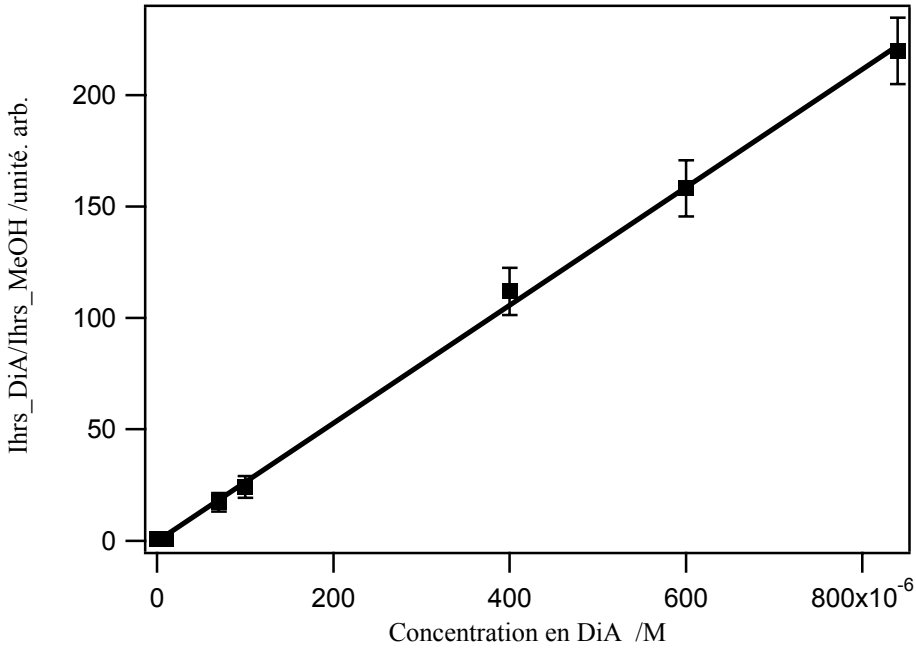


Figure 4 : Intensité HRS du DiA normalisée par l'intensité HRS du solvant (méthanol) en fonction de la concentration de DiA .L'intensité est corrigée de l'absorption.

L'absorption à 400 nm de la diffusion hyper Rayleigh est corrigée en tenant compte du coefficient d'extinction mesuré. Ce coefficient est obtenu par spectroscopie d'absorption, voir paragraphe 2.3.3 et Figure 2, et vaut à 400 nm $\varepsilon = (4100 \pm 200) M^{-1} cm^{-1}$. Ce coefficient est également obtenu par l'ajustement de l'intensité HRS selon la forme (5.1) sur l'intensité expérimentale brute. Dans ce cas, on obtient $\varepsilon = (4400 \pm 200) M^{-1} cm^{-1}$. Les deux mesures sont en excellent accord et permettent d'exclure tout effet perturbatif comme de l'aggrégation par exemple. En tenant compte de l'hyperpolarisabilité quadratique du méthanol de la littérature, $\beta_{MeOH} = 0.69 \times 10^{-30} esu$, l'hyperpolarisabilité quadratique absolue du DiA dans le méthanol à 800 nm vaut $\beta_{DiA} = (1760 \pm 50) \times 10^{-30} esu$ [4].

La molécule de DiA de tenseur d'huperpolarisabilité de symétrie globale C_{2v}, possède un axe principal selon l'axe de ces deux cycles aromatiques. Compte tenu du caractère « push-pull » selon cet axe, un seul élément du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique domine : $\beta_{m,zzz}$. Le second axe Ox contenu dans le plan des cycles implique la prise en compte d'un deuxième élément du tenseur d'hyperpolarisabillité microscopique, $\beta_{m,zxx}$, voir

Figure 5. La résonance étant proche de la fréquence harmonique et le moment de transition aligné selon l'axe Oz, seuls ces deux éléments dominent.

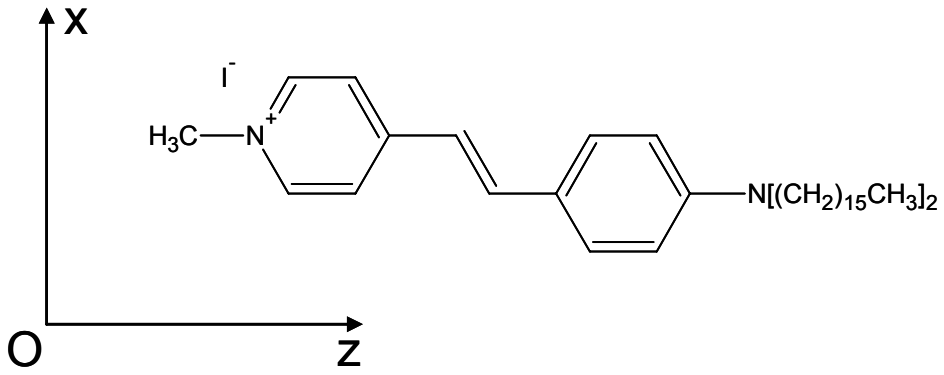


Figure 5: Axes moléculaires principaux de la molécule de DiA.

La mesure du coefficient de dépolarisation permet donc de calculer le rapport des deux éléments du tenseur d'hyperpolarisabillité microscopique. En effet,

$$D = \frac{c^V}{a^V} = \frac{\left\langle \beta^2_{L,ZXX} \right\rangle}{\left\langle \beta^2_{L,XXX} \right\rangle} \tag{5.2}$$

Les coefficients a^Γ et c^Γ défini par la relation (5.3) liant l'intensité HRS polarisée selon Γ avec l'angle de polarisation du champ incident γ sont mesurés.

$$I^\Gamma_{HRS} = a^\Gamma \cos^4\gamma + b^\Gamma \cos^2\gamma \sin^2\gamma + c^\Gamma \sin^4\gamma \tag{5.3}$$

La mesure de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de la polarisation du champ incident conduit à $D = 0.25 \pm 0.01$ pour la valeur du coefficient de dépolarisation avec $a^V = 0.792 \pm 0.008$ et $c^V = 0.197 \pm 0.008$, les coefficient étant normalisés par rapport à $b^V = 1 \pm 0.01$, voir Figure 6. Le coefficient D vaut 0,2 dans le cas d'une molécule ne possédant qu'un seul élément d'hyperpolarisabilité microscopique, voir chapitre 2. La déviation du facteur de dépolarisation de cette valeur s'explique par la présence du second élément du tenseur microscopique qui n'est pas négligeable. L'utilisation d'une longueur d'onde harmonique à 400 nm proche de la résonance de la molécule à 470 nm en est la raison.

Dans le cas d'une solution de molécules, l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident est attendue sous la forme de deux lobes et correspond à la réponse harmonique d'un dipôle ponctuel. De cette courbe, on tire :

$$\eta = \frac{a^V + c^V}{b^V} = 0.99 \pm 0.02 \qquad (5.4)$$

en parfait accord avec le modèle d'une collection d'objets ponctuels parfaitement dispersés. Par ailleurs, l'intensité HRS polarisée horizontalement est constante comme attendu, voir chapitre 2 et 4. Nous avons montré au chapitre 4 qu'un assemblage parfaitement ordonné contenant m molécules alignées selon le même axe aurait la même réponse à un facteur d'intensité $m \times q$, si q est le nombre d'assemblages. Compte tenu de la condition d'un alignement stricte nécessaire, il est peu probable que la solution soit en fait formée par de tels assemblages.

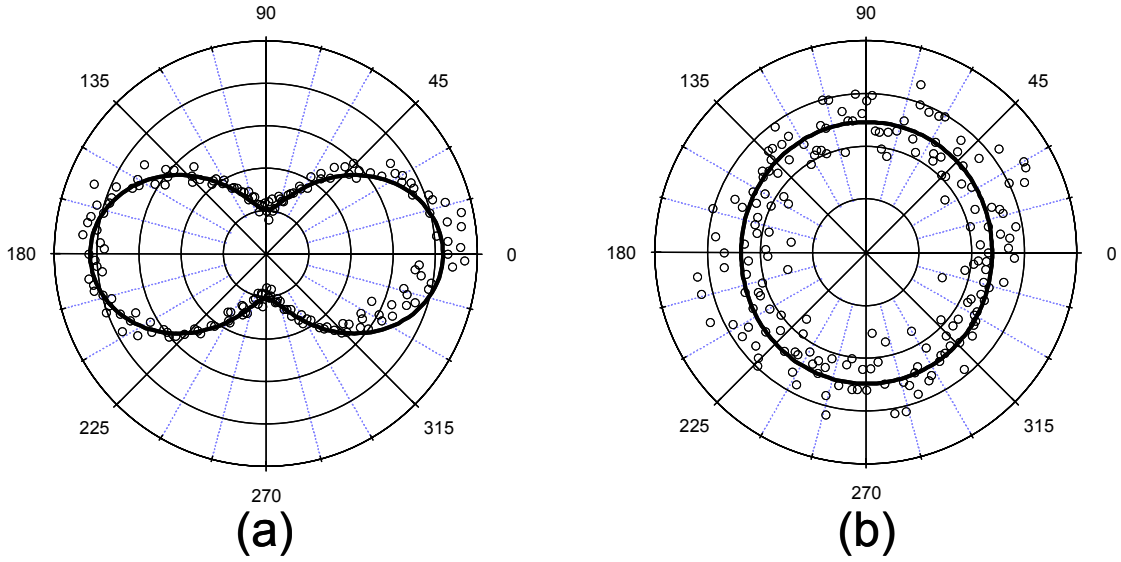


Figure 6 : Graphe polaire de l'intensité HRS polarisé (a) verticalement, (b) horizontalement, du DiA en fonction de l'angle de la polarisation du champ incident (0°=verticale).L'ajustement est effectué par la relation (5.3).[DiA]=12,5.10^{-6} M.

5.2.2 Assemblages de DiA induit par un solvant eau/MeOH.

L'insolubilité du DiA dans l'eau est utilisé pour former des assemblages de DiA. La solubilisation dans l'eau d'une solution de DiA préparée dans le méthanol permet en effet d'induire une agrégation du DiA. L'intensité HRS, polarisée verticalement en fonction de l'angle de polarisation du champ incident, pour une solution de DiA ([DiA]=12,5.10^{-6} M) dans un mélange de solvant eau/méthanol 5:1 v/v est reportée sur la Figure 7. L'ajustement de cette intensité par la relation (5.3) donne : $a^V = 0.463 \pm 0.008$, $c^V = 0.127 \pm 0.008$. Les coefficients sont normalisés par $b^V = 1 \pm 0.01$. La formation d'assemblages est alors caractérisée par la mesure du paramètre η qui est très différent de 1 et vaut : $\eta = 0.59 \pm 0.02$. La déviation par rapport au cas d'une solution de molécules dispersées, η=1, indique qu'une contribution quadripolaire non nulle est observée. On peut ainsi conclure que le DiA forme des assemblages dans une solution mixte eau-méthanol. La question est donc de déterminer leur structure.

Deux cas peuvent être distingués : la solution contient une seule population d'assemblages partiellement ordonnés ou bien deux populations, l'une d'assemblages parfaitement ordonnées et l'autre de molécules libres. Dans le premier cas il est difficile de définir l'arrangement exact des molécules puisque différents arrangements peuvent conduire à la même valeur du paramètre η et à un poids relatif des contributions dipolaire et quadripolaire identique. Dans le cas de deux populations le paramètre η donne la proportion de chaque contribution, dipolaire et quadripolaire, et donc la proportion d'assemblages moléculaires parfaitement ordonnées et de molécules libres. Ce second cas est raisonnable pour des molécules amphiphiles qui ont la propriété de former des micelles. Dans ce cas la solution est constituée de molécules libres et de micelles et est caractérisé par leur concentration micellaire critique (CMC), voir chapitre 3. Les micelles sont des assemblages possédant une réponse dipolaire nulle en raison de l'organisation des molécules à la surface d'une sphère avec la partie hydrophobe dirigée vers le centre de la sphère. Pour $\eta = 0.59 \pm 0.02$, le poids de la composante dipolaire est de 59%, donc 59% du signal provient des molécules libres, et le poids de la composante quadripolaire est de 41%, donc 41% du signal provient des micelles.

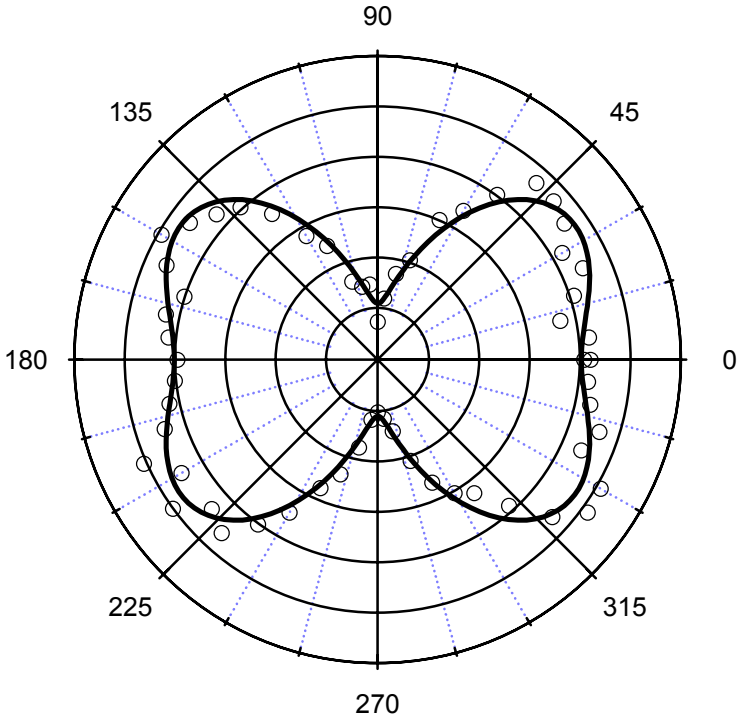


Figure 7 : Graphe polaire de l'intensité HRS du DiA polarisée verticalement en fonction de l'angle de la polarisation du champ incident (0°=verticale) pour un solvant eau/méthanol 5 :1 v/v. L'ajustement est effectué par la relation (5.3). [DiA]=12,5.10^{-6} M.

5.2.3 Assemblages de DiA en présence de SDS.

Pour modifier la répartition entre les deux populations de DiA, libres et en micelles, des assemblages de DiA obtenue dans le mélange de solvant eau/méthanol 5:1 v/v le co-surfactant sodium dodecyl sulfate (SDS) est ajouté à la solution. Cette molécule est amphiphile comme le DiA mais chargée négativement, voir chapitre 3. La différence de charge entre les deux molécules favorise un assemblage par interactions électrostatiques avec le DiA. L'intensité HRS du SDS seul étant indétectable par notre système expérimental, voir chapitre 3, seul l'intensité HRS de la molécule de DiA est détectée. Ainsi, seules les modifications de structure du DiA seront visibles. Toutes les mesures sur le mélange DiA-SDS sont réalisées dans un mélange de solvant eau/méthanol 5:1 v/v. On rappelle enfin que le SDS étant une molécule amphiphile, il forme des micelles au dessus de 8 mM à 25°C dans

l'eau. Deux expériences sont réalisées, une pour des concentrations en SDS du même ordre de grandeur que celle de DiA et une pour des concentrations de SDS en excès par rapport à celle du DiA.

5.2.3.1 Faible concentration de SDS.

L'intensité HRS polarisée verticalement, en fonction de l'angle de polarisation du champ incident, pour une solution de DiA et SDS ([DiA]=12,5.10^{-6} M) dans un mélange de solvant eau/méthanol 5:1 v/v est enregistrée pour différentes concentrations de SDS, respectivement 0, 0.02, 1, 5, 10, 20 µM, c'est-à-dire des concentrations du même ordre de grandeur que celle de DiA. Pour chacune de ces courbes le paramètre d'ordre η est calculé. η est reporté en fonction de la concentration de SDS sur la Figure 9.

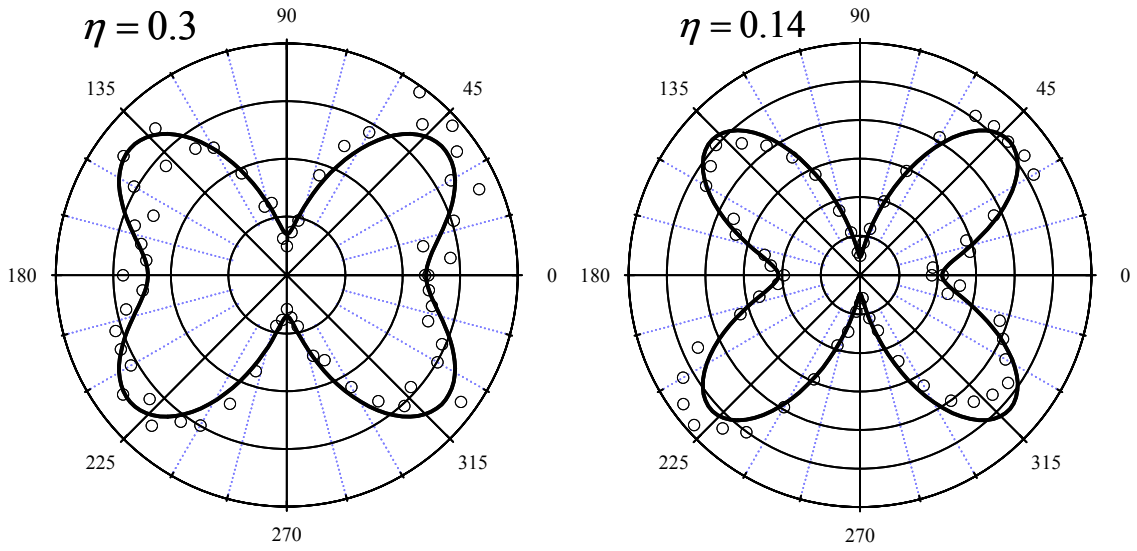


Figure 8 : Intensité HRS polarisée verticalement en fonction de la polarisation de l'onde incidente pour un mélange de $[DiA] = 12.5 \times 10^{-6} M$ *et* $[SDS] = 5 \times 10^{-6} M$ *(à gauche) ou* $[SDS] = 20 \times 10^{-6} M$ *(à droite) dilué dans un solvant eau/méthanol de rapport 5:1 (v/v). L'ajustement en trait plein est effectué avec la relation (5.3).*

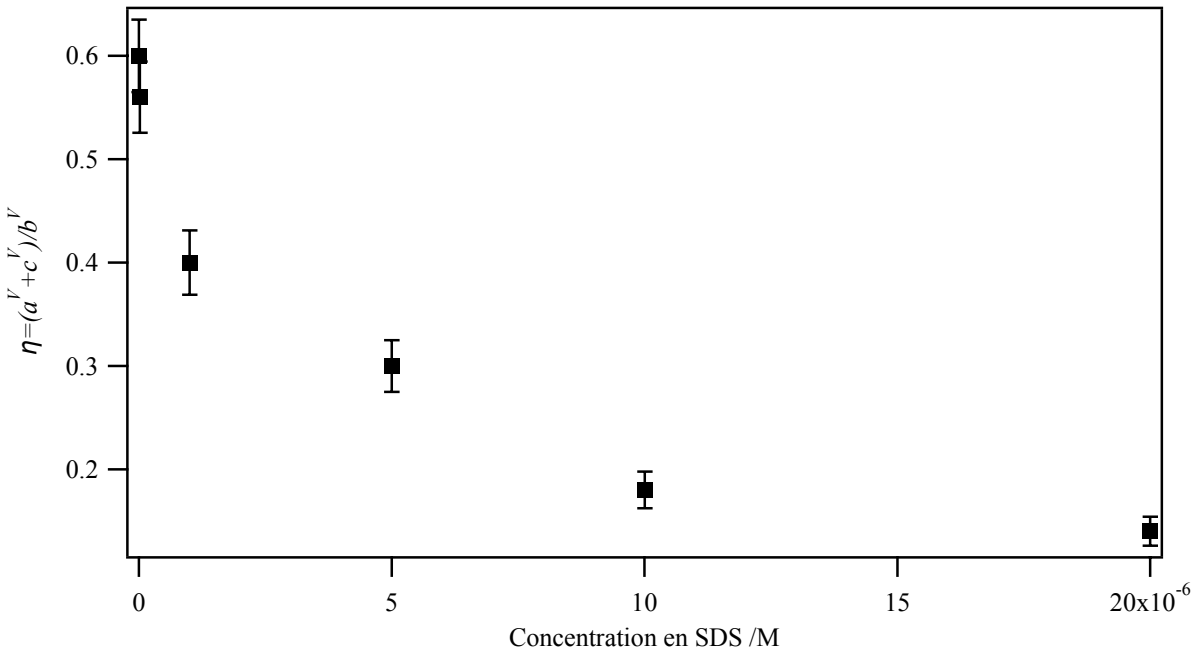


Figure 9 : Paramètre d'ordre η en fonction de la concentration en SDS pour une solution de DiA et SDS dans un solvant eau/méthanol 5:1 v/v. [DiA]=12,5.10^{-6} M.

L'addition régulière de SDS correspond à une décroissance du paramètre η indiquant donc une augmentation de la composante quadripolaire dans l'intensité HRS. Ceci peut être expliqué par l'augmentation d'assemblages mixtes DiA-SDS centrosymétriques. En effet, les molécules de DiA et de SDS sont amphiphiles et charges opposées. Elles forment donc des assemblages micellaires mixtes, sphériques aux faibles concentrations utilisées. Le nombre de molécules de DiA est toujours suffisamment grand dans chaque micelles pour que celles-ci soient homogènes et donc centrosymétriques. Dans le cadre du modèle développé au chapitre 4 pour le cas d'assemblages centrosymétriques, l'intensité HRS générée par ces micelles possèdent uniquement une composante quadripolaire proportionnelle au carré du rayon de la micelle et du nombre de molécules. L'intensité HRS polarisée verticalement dépend donc de trois coefficients a^V, b^V, c^V, voir (5.3). Dans le cas des assemblages centrosymétriques seul le coefficient b^V est non nul. L'intensité HRS produite par *q* micelles de *m* molécules et de rayon *a* est donc de la forme :

$$I_{micelles} = b^V \cos\gamma \sin\gamma \propto qm^2a^2 \cos\gamma \sin\gamma \qquad (5.5)$$

Les coefficients a^V et c^V mesurés, reportés sur la Figure 10, ne sont pas nuls. Cette mesure indique que l'intensité HRS possède toutefois une composante dipolaire qui doit être attribuées aux de molécules libres de DiA dans la solution. En effet, la solution contient deux populations : des molécules de DiA libres générant uniquement une composante dipolaire et des micelles centrosymétriques générant uniquement une composante quadripolaire.

Les deux premières additions de SDS induisent une diminution des coefficients a^V et c^V. Le changement du spectre d'absorption ne suffit pas à expliquer cette diminution par l'augmentation de l'absorbance à 400 nm, voir 5.2.3.2. Cette chute s'explique toutefois par un effet de sursaturation en DiA. Lorsque le SDS est ajouté, une partie des molécules de DiA libres sont intégrées aux micelles de DiA. Cette période de transition est suivi par une stabilisation des valeurs des coefficients a^V et c^V et donc à une stabilisation du nombre de molécules libres en solution. Le rapport de dépolarisation est reporté sur la Figure 11. Ce rapport constant indique que les molécules libres de DiA ne subissent plus de changements notables de symétrie.

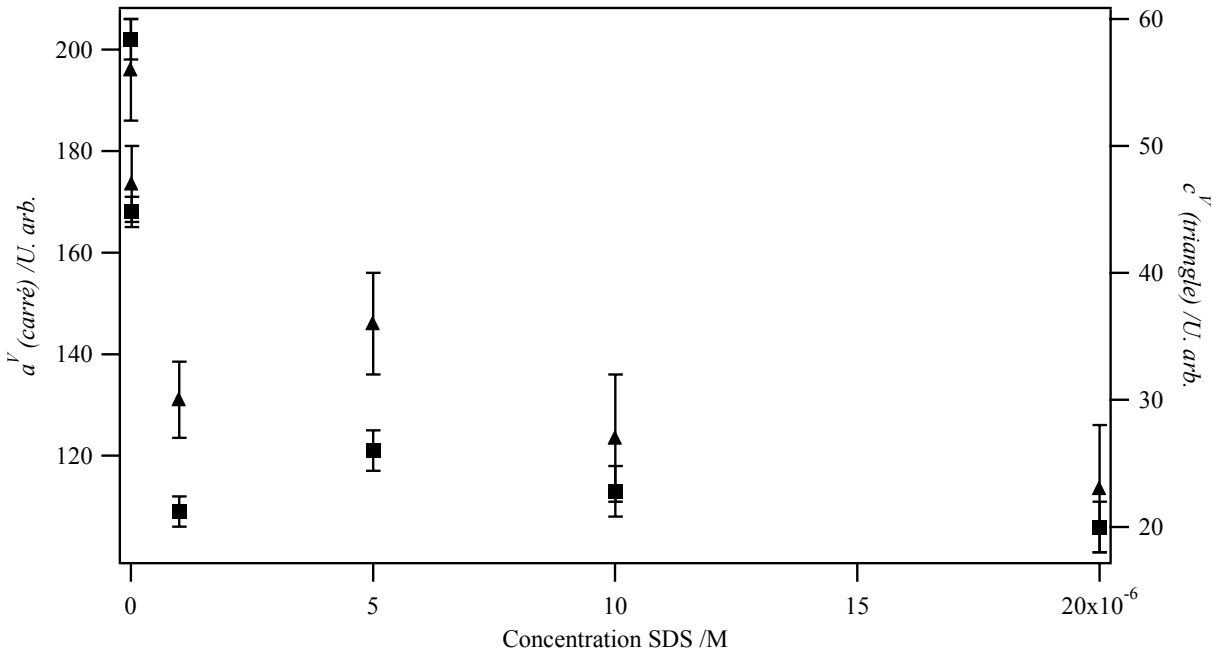


Figure 10 : Coefficients a^V (carré) et c^V (triangle) de l'intensité HRS en fonction de la concentration en SDS pour une solution de DiA et SDS dans un solvant eau/méthanol 5:1 v/v. [DiA]=12,5.10^{-6} M.

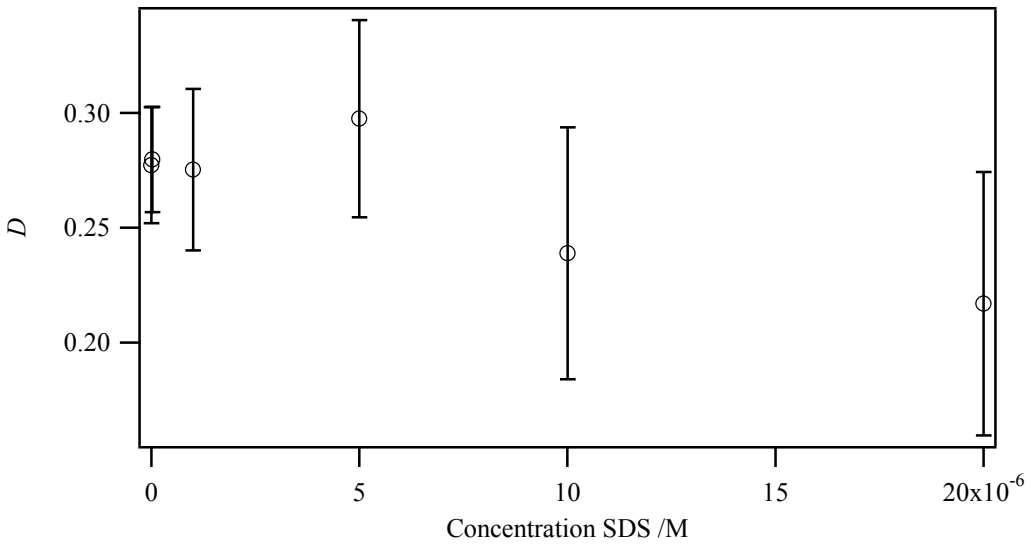


Figure 11 : Rapport de dépolarisation $D = c^V / a^V$ *en fonction de la concentration en SDS pour une solution de DiA et SDS dans un solvant eau/méthanol 5:1 v/v. [DiA]=12,5.10*$^{-6}$ *M.*

La valeur du coefficient b^V de l'intensité HRS de la solution, reporté sur la Figure 12, est en revanche la somme du coefficient b^V de la composante dipolaire et du coefficient b^V de la composante quadripolaire. Les coefficients a^V, b^V et c^V de la composante dipolaire correspondant aux molécule libres de DiA en solution suivent de plus la relation $b^V = a^V + c^V$. Le coefficient expérimental total b^V de la solution diminue jusqu'à [SDS]=1 µM ce qui correspond à la diminution des paramètres a^V et c^V. Au dessus de cette concentration le coefficient b^V de la composante dipolaire est constant puisque a^V et c^V sont approximativement constant, voir Figure 10. L'augmentation du coefficient b^V est alors uniquement due à l'augmentation de la composante quadripolaire de l'intensité HRS de la solution.

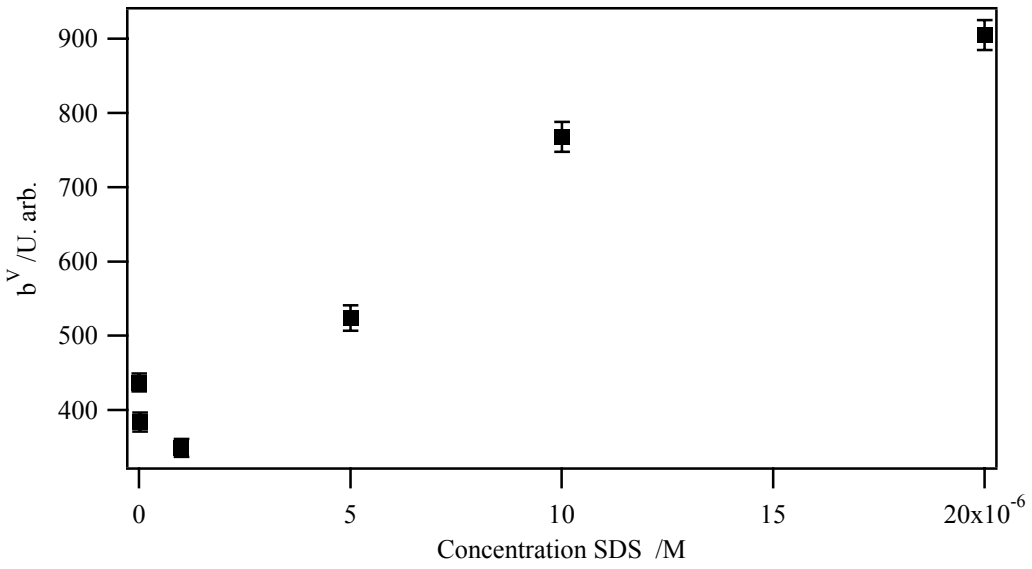


Figure 12 : Coefficient b^V de l'intensité HRS en fonction de la concentration en SDS pour une solution de DiA et SDS dans un solvant eau/méthanol 5:1 v/v. [DiA]=12,5.10^{-6} M.

Dans la solution les micelles sont constituées de SDS et de DiA. La concentration en DiA est constante et seule celle de SDS augmente. Dans un premier temps les molécules de DiA sont majoritaires. Le coefficient b^V augmente. Si le nombre de micelles augmente, les molécules de DiA sont diluées proportionnellement dans les micelles, donc d'après la relation (5.5) l'intensité décroît puisqu'elle est dépend du nombre de micelles et du carré du nombre de molécules par micelle. Un autre phénomène possible est que le nombre de micelles formées n'augmente pas mais que ces micelles contiennent de plus en plus de SDS à cause de l'interaction électrostatique. Aux faibles concentrations de SDS, la charge totale des assemblages riche en DiA favorise l'incorporation de SDS plutôt que l'augmentation du nombre de micelles. Dans ce cas la composante quadripolaire augmente par le facteur *a* à la puissance deux d'après la relation (5.5). Ce facteur *a* n'augmente pas linéairement avec la concentration à cause de l'effet de charge des micelles. Plus la micelle contient de SDS et plus les charges des molécules de DiA sont écrantées. La croissance non linéaire avec la concentration observée sur la Figure 12 est la compétition entre ces deux phénomènes. Donc, en admettant un nombre de micelles constant entre 1 et 20 µM en SDS, l'intensité HRS n'augmente donc d'un rapport de 3 qu'en raison d'une augmentation de la taille. Avec (5.5) on en déduit une augmentation du rayon d'un facteur $\sqrt{3}$ environ. Une modélisation est cependant nécessaire pour rendre compte quantitativement des observations expérimentales.

5.2.3.2 Fortes concentrations de SDS.

L'intensité HRS non polarisée pour une polarisation du champ incident verticale a aussi été enregistrée pour de fortes concentrations en SDS, Figure 13. La mesure correspondant a une concentration en SDS nulle est aussi indiquée. Cette intensité est constante et égale à la somme des coefficients a^V et $a^H = c^V$. Elle est aussi égale à celle mesurée aux faibles concentrations de SDS.

Les spectres d'absorption UV-visible correspondant sont reportés, avec celui obtenu pour une concentration en SDS nulle, sur la Figure 14. Le changement d'absorption à 400 nm induit une diminution faible de l'intensité qui n'influence pas le changement d'intensité dû à l'effet de sursaturation en DiA, voir paragraphe 5.2.3.1.

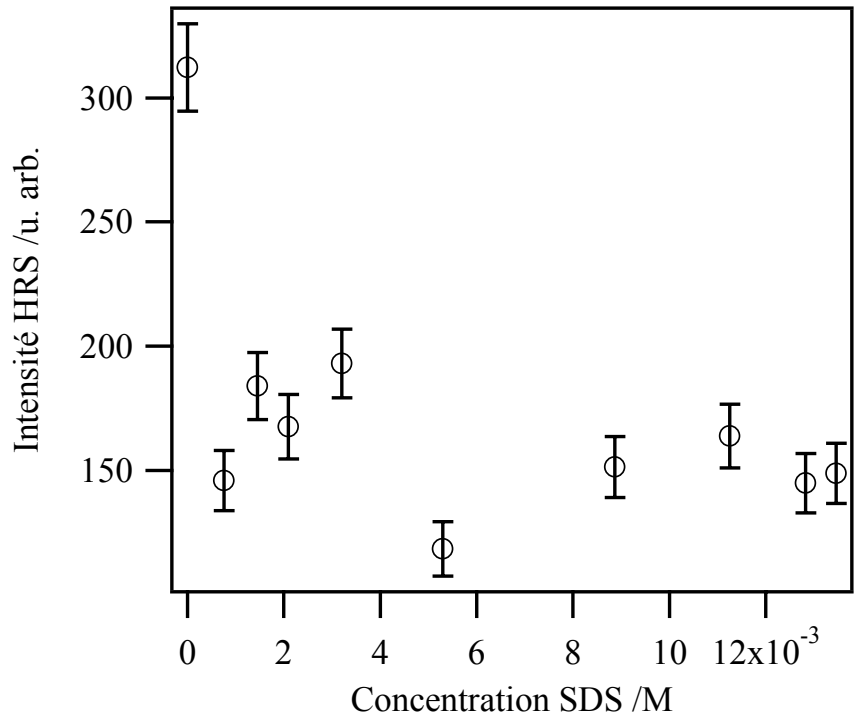


Figure 13 : Intensité HRS non polarisée en fonction de la concentration en SDS pour une solution de DiA et SDS dans un solvant eau/méthanol 5:1 v/v. [DiA]=12,5.10^{-6} M.

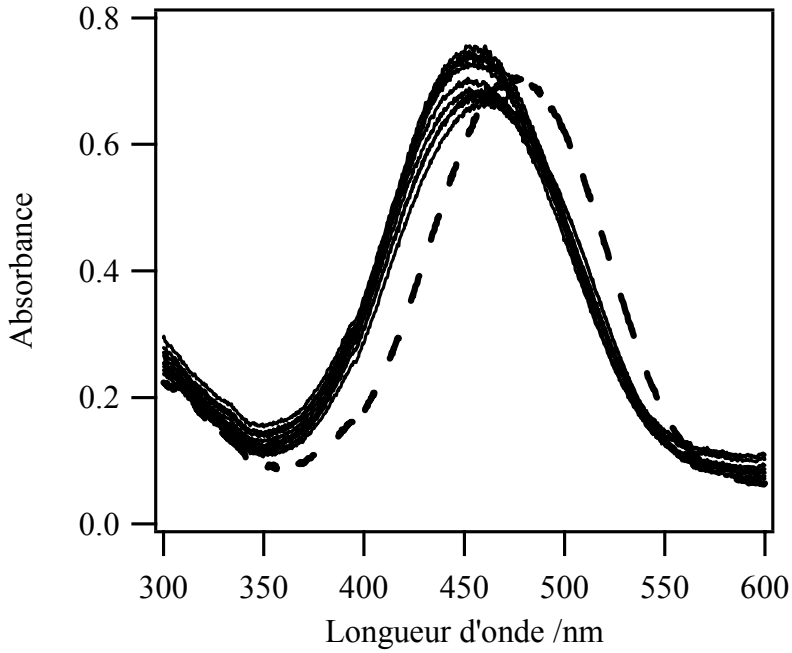


Figure 14 : Spectre d'absorption UV-visible en fonction de la concentration en SDS. Le spectre en pointillés correspond à la concentration nulle en SDS.

L'intensité HRS polarisée en fonction de la polarisation du champ incident a été enregistrée pour deux points de concentrations de SDS, respectivement 3 et 13 mM, respectivement Figure 16 et Figure 17. L'ajustement obtenu avec la relation (5.3) pour la concentration de 3 mM en SDS donne $a^V = 0.061 \pm 0.008$, $b^V = 1 \pm 0.01$ et $c^V = 0.013 \pm 0.008$ et le facteur de dépolarisation vaut : $D = 0.2 \pm 0.1$. Il est proche de celui obtenu à faibles concentrations de SDS. Le paramètre η vaut maintenant : 0.07 ± 0.04. La proportion de la réponse quadripolaire atteint ainsi 93% et donc, le rayon des micelles a augmentée. Comme l'intensité de b^V est 8 fois supérieure au point de départ de l'accroissement, la taille des micelles à augmentée d'un facteur $\sqrt{8}$.

L'ajustement obtenu avec la relation (5.3) pour la concentration en SDS de 13 mM donne enfin $a^V = 0.218 \pm 0.008$, $b^V = 1 \pm 0.01$ et $c^V = 0.046 \pm 0.008$. Le facteur de dépolarisation vaut encore : $D = 0.2 \pm 0.1$. Il reste constant par rapport aux mesures faites à faibles concentrations de SDS, n'indiquant aucune modifications particulières des interactions entre les molécules de DiA et de SDS. En revanche, le paramètre η vaut : 0.26 ± 0.05. Le poids de la composante dipolaire a à nouveau augmenté, de 7% à 3 mM de SDS à 26% pour 13 mM de SDS. On peut envisager maintenant une dilution du DiA dans les micelles. La grande quantité de SDS à induit la dilution des molécules de DiA dans plus de micelles.

Comme l'intensité du quadripôle varie en fonction du nombre de micelles multiplié par le carré du nombre de molécules par micelles, cette intensité décroît avec la dilution des molécules de DiA dans les micelles. En ce qui concerne le rayon, les micelles sont mixtes et comme le montre la Figure 15 la molécule de SDS est plus petite que la molécule de DiA. Lorsque la concentration de SDS augmente la proportion de SDS par micelles augmente et donc celle de DiA diminue. La taille des micelles diminue. Au total, la valeur du coefficient b^V décroît.

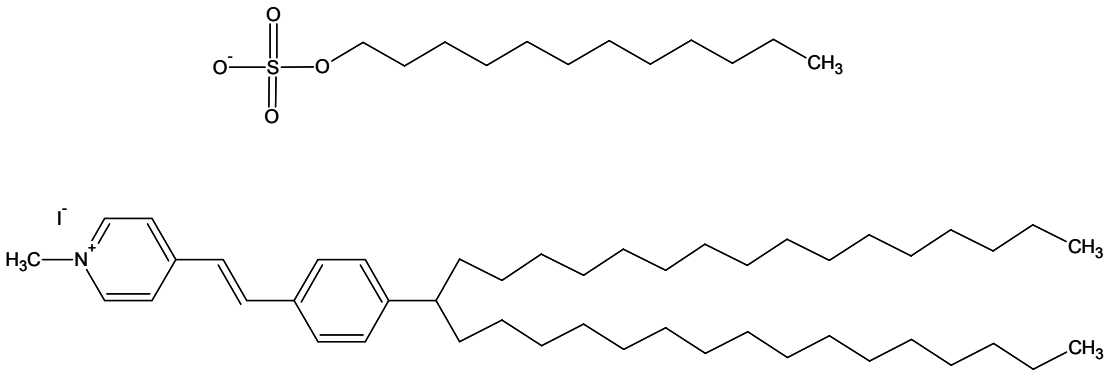


Figure 15 : comparaison de taille entre le SDS (en haut) et le DiA (en bas).

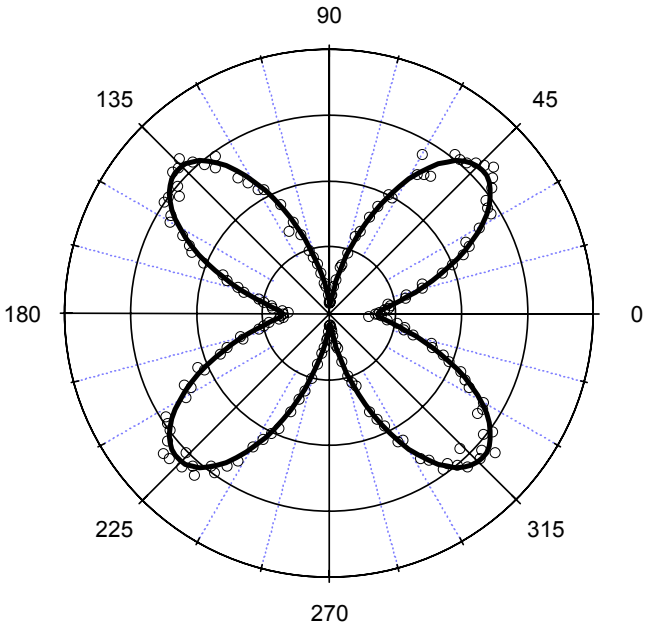


Figure 16 : Intensité HRS polarisée verticalement en fonction de la polarisation de l'onde incidente pour un mélange de $[DiA] = 12.5 \times 10^{-6} M$ *et* $[SDS] = 3 \times 10^{-3} M$ *dilué dans un solvant eau/méthanol de rapport 5:1 (v/v). L'ajustement en trait plein est effectué avec la relation (5.3).*

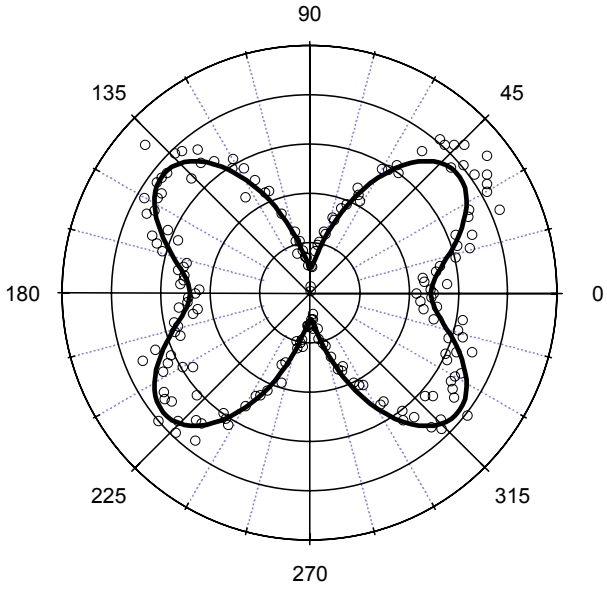


Figure 17: Intensité HRS polarisée verticalement en fonction de la polarisation de l'onde incidente pour un mélange de $[DiA] = 12.5 \times 10^{-6} M$ *et* $[SDS] = 13 \times 10^{-3} M$ *dilué dans un solvant eau/méthanol 5:1 (v/v). L'ajustement en trait plein est effectué avec la relation (5.3).*

En dehors d'un effet de sursaturation de molécules de DiA libres initialement, la présence des molécules de SDS ne modifient que la structure des assemblages moléculaires mixtes DiA-SDS. La compétition entre la taille et le nombre d'assemblages permet d'expliquer les observations expérimentales.

5.3 Assemblages de MT04.

5.3.1 Le MT04 : caractérisation.

Le MT04 est un composé à forte réponse optique non linéaire synthétisé par l'équipe de photonique moléculaire dirigée par Mireille Blanchard-Desce à l'université de Rennes 1. Cette molécule est conçue, tout comme le DiA, sur une structure « push-pull » linéaire, voir 5.2.1. Son caractère amphiphile lui permet aussi de s'insérer dans les micelles mais sa chaîne hydrophobe est plus courte que celle du DiA. Son caractère ionique positivement chargé en

solution favorise aussi les interactions électrostatiques avec le SDS négativement chargé. Un effet identique au DiA est attendu.

Le spectre d'absorption UV-visible est reporté sur la Figure 19. Il présente deux maxima d'absorption à 300 et 550 nm. L'absorption de la longueur d'onde fondamentale à 800 nm est négligeable, et celle à 400 nm est faible, faisant de cette molécule un bon candidat pour des mesures SHG résonantes.

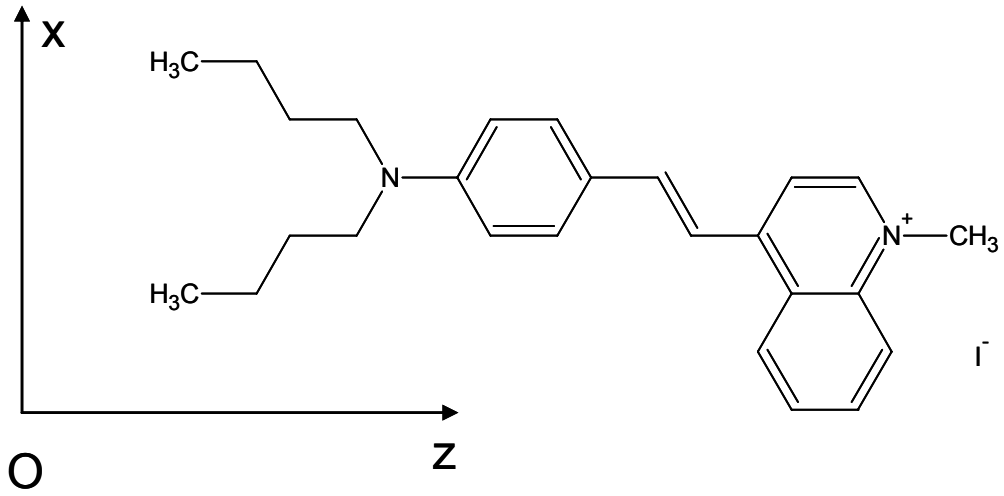


Figure 18 : La molécule MT04 et son contre ion I^-.

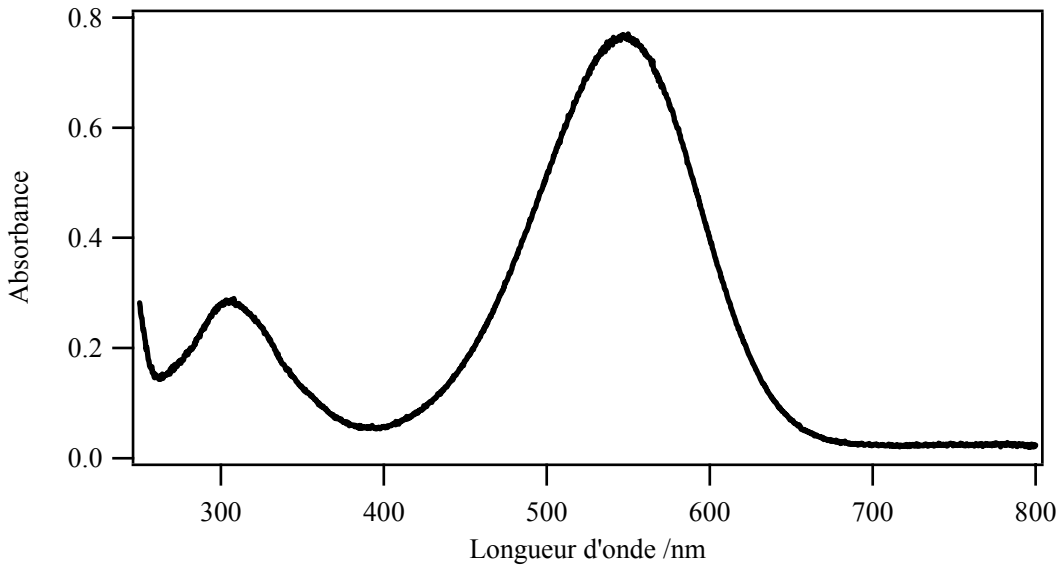


Figure 19 : Spectre d'absorption d'une solution de $[MT04] = 21\times10^{-6} M$ dans le méthanol.

Les propriétés optiques non linéaires du MT04 sont définies par son hyperpolarisabilité quadratique ainsi que le graphe de son intensité HRS en fonction de la polarisation du champ incident, donnant ainsi accès à la symétrie de la molécule. La mesure de la valeur absolue de l'hyperpolarisabilité quadratique est obtenue par dilutions successives d'une solution de MT04 dans du méthanol et est extraite par la méthode de référence interne, voir paragraphe 2.4.1. Pour chaque point de cette dilution la raie HRS est enregistrée pour extraire l'intensité HRS du fond de luminescence. L'intensité HRS mesurée puis normalisée par l'intensité HRS du méthanol, est reporté sur la Figure 20 et est ajustée par la relation (5.1). L'hyperpolarisabilité quadratique du méthanol valant $\beta_{MeOH} = 0.69 \times 10^{-30} esu$, l'hyperpolarisabilité quadratique absolue du MT04 dans le méthanol à 800 nm vaut $\beta_{MT04} = (1970 \pm 40) \times 10^{-30} esu$ très proche de la valeur obtenue pour le DiA.

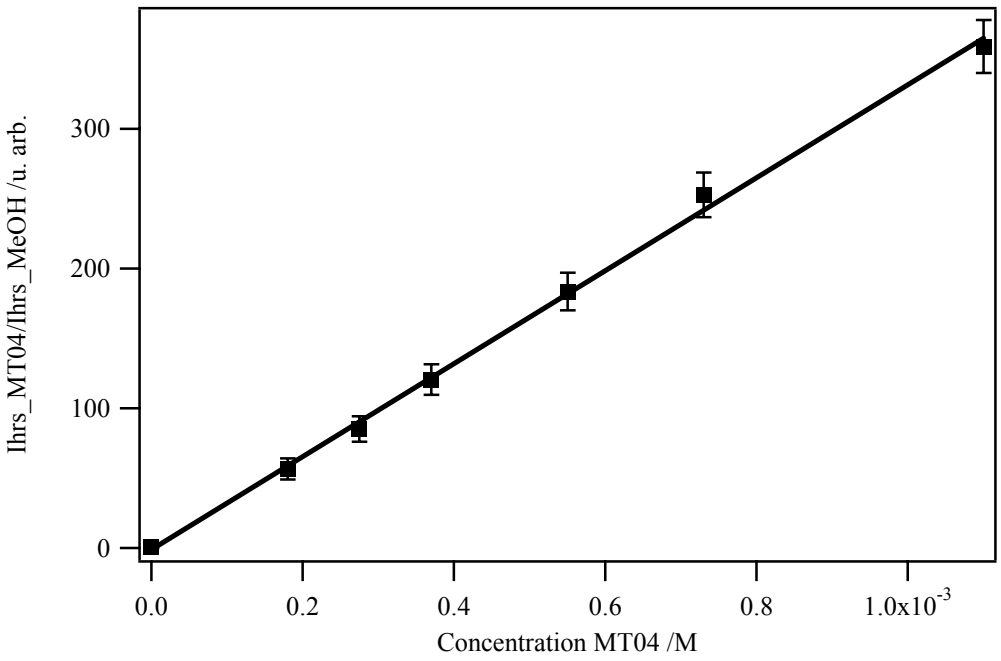


Figure 20 : Rapport mesuré entre l'intensité HRS d'une solution de MT04 dans le méthanol et l'intensité d'une solution de méthanol pur en fonction de la concentration en MT04. La mesure est corrigée de l'absorption à 400 nm.

L'intensité HRS polarisé verticalement en fonction de la polarisation incidente d'une solution de MT04 dans le méthanol pour $[MT04] = 1 \times 10^{-3} M$ est reporté sur la Figure 21.

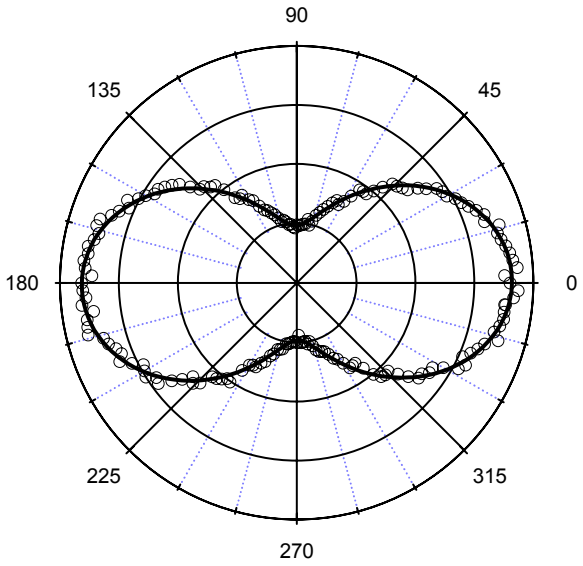


Figure 21 : Graphe polaire de l'intensité HRS du MT04, dans le méthanol, polarisée verticalement en fonction de l'angle de la polarisation du champ incident (0°=verticale). $[MT04] = 1 \times 10^{-3} M$ *. L'ajustement est effectué par la relation (5.3).*

Les coefficients a^V, b^V, c^V mesurés, normalisés par rapport à b^V valent : $a^V = 0.79 \pm 0.01$, $b^V = 1 \pm 0.009$, $c^V = 0.21 \pm 0.02$. Le paramètre η vaut donc : 1 ± 0.04. Un paramètre η égal à 1 signifie que les molécules sont libres en solution, sans agrégation induisant l'émergence d'une composante quadripolaire. Le facteur de dépolarisation défini par la relation (5.2) vaut : $D = 0.27 \pm 0.01$. Le MT04 est une molécule plane possédant un axe principal. La déviation du facteur de dépolarisation, par rapport à la valeur $D = 0.2$ indique la présence d'autres éléments non nuls du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique. Compte tenu de la Figure 18, ce second élément dominant est probablement $\beta_{m,zxx}$, comme pour le DiA, la présence du double cycle aromatique renforce l'effet selon le second axe Ox.

5.3.2 Assemblages de MT04.

Selon le même principe que pour le DiA, les assemblages de MT04 sont formés par l'ajout de SDS à une solution de MT04. Le même rapport de solvant eau/méthanol de 5:1 v/v est utilisé, voir 5.2.2. La concentration de SDS évolue de part et d'autre de la concentration micellaire critique (CMC) du SDS dans l'eau, CMC de 8 mM, voir 3.2.2. La mesure de l'intensité HRS non polarisée d'un mélange de MT04 et de SDS dans le solvant eau/méthanol de 5:1 v/v en fonction de la concentration en SDS est reportée sur la Figure 22. La concentration en MT04 reste constante et vaut : $[MT04] = 21\times10^{-6} M$. Pour chaque point les spectres d'absorption UV-visible sont reportés sur la Figure 23.

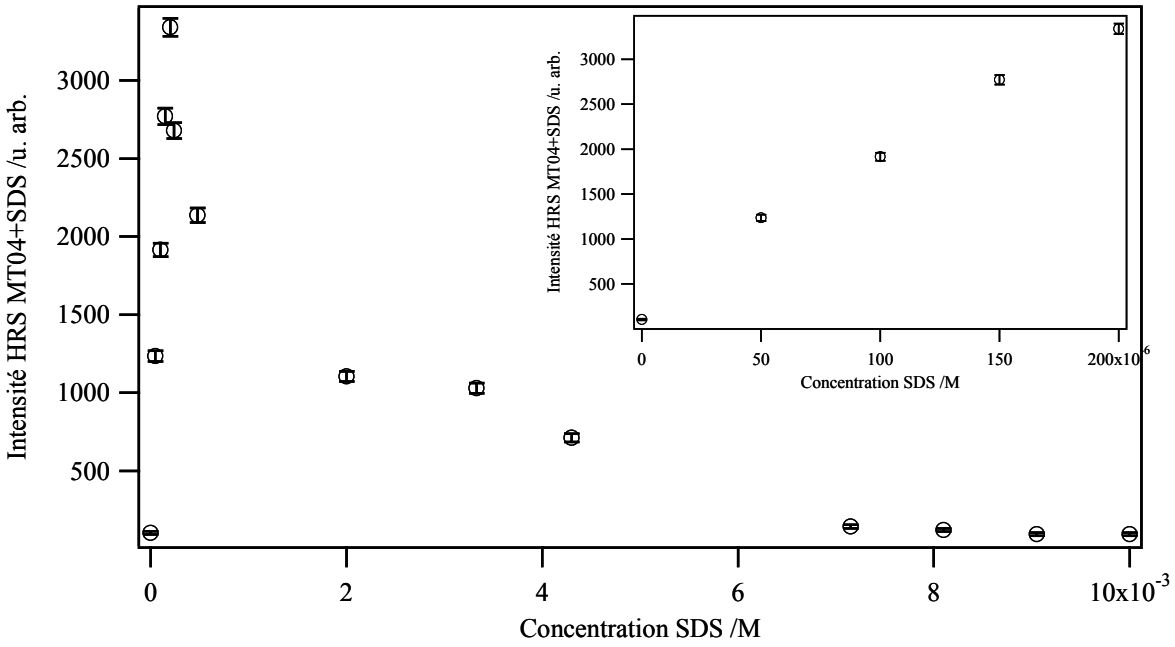


Figure 22 :Intensité HRS non polarisée pour une polarisation verticale du champ incident d'une solution MT04+ SDS dilué dans un solvant eau/méthanol de 5:1 (v/v) en fonction de la concentration en SDS, avec $[MT04] = 21\times10^{-6} M$ *. L'encart est un zoom sur les cinq premiers points.*

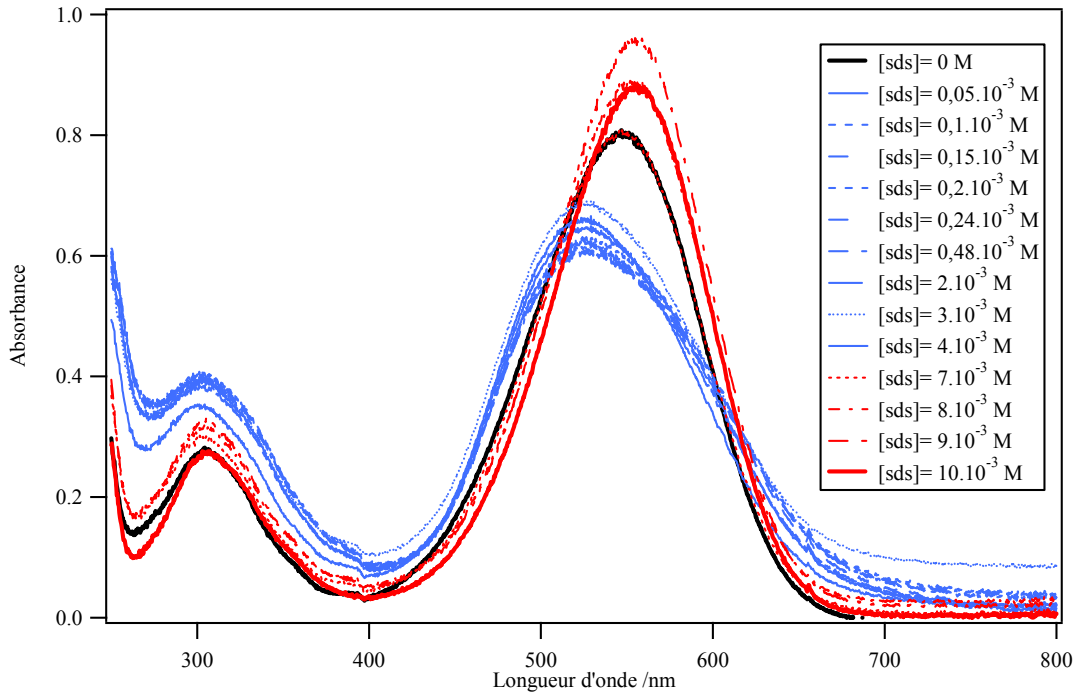


Figure 23 : Spectre d'absorption UV-visible pour chaque solution mixte de MT04 et de SDS dont l'intensité HRS est reportée sur la Figure 22. Trait noir [SDS]=0 M. Traits bleus : $0.05\times10^{-3}M \le [SDS] \le 4\times10^{-3}M$ *. Traits rouges :* $7\times10^{-3}M \le [SDS]$.

L'intensité HRS augmente fortement avec les premières additions de SDS. L'intensité maximum enregistrée est seize fois plus forte que l'intensité sans SDS. Cette intensité, mesuré sans analyseur, est la somme des coefficients a^V et a^H. Le modèle utilisé pour décrire l'intensité HRS est le même que pour le DiA. Deux systèmes sont considérés lors de la formation d'assemblages : les molécules libres de MT04 dont l'intensité HRS possède uniquement une composante dipolaire ($a^V + c^V = b^V$) et des assemblages centrosymétriques dont l'intensité HRS possède uniquement une composante quadripolaire ($a^V = c^V = 0$). Ces assemblages mixtes sont sous forme de micelles en raison des propriétés amphiphiles des molécules de SDS et de MT04 et sont donc considérés comme centrosymétriques. Dans ce cas, le nombre de molécules libres peut être considéré comme constant comme tout système micellaire, et l'augmentation d'intensité n'est due qu'au coefficient a^H et donc à l'augmentation de la composante quadripolaire.

Comme dans le cas du DiA, les molécules de MT04 sont agrégées dans un mélange de solvant eau/méthanol 5:1 v/v en l'absence de SDS, comme le montre la mesure de l'intensité polarisée verticalement en fonction de la polarisation du champ incident reportée sur la Figure 24.

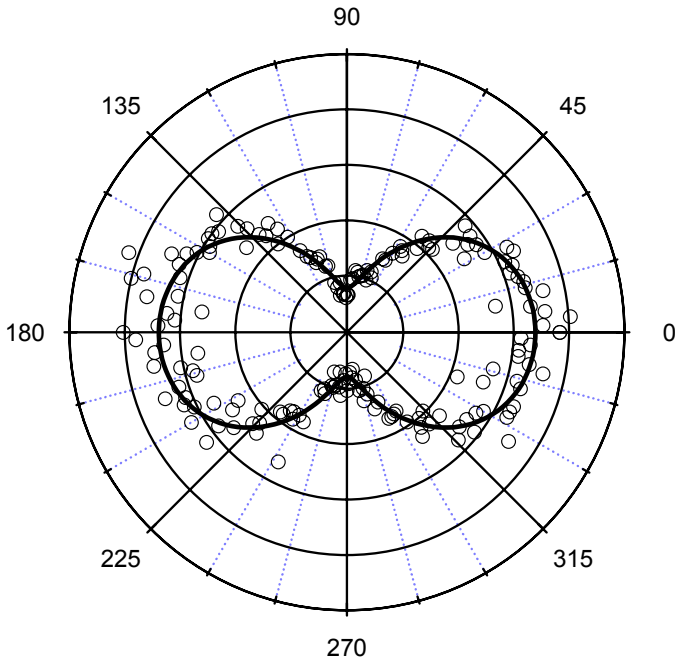


Figure 24 : Graphe polaire de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de l'angle de la polarisation du champ incident (0°=verticale) d'une solution de MT04 dans un mélange eau/méthanol 5:1 (v/v). L'ajustement est effectué par la relation (5.3).Cette mesure correspond au point [SDS]=0 M de la Figure 22.

Les coefficients mesurés pour la solution sans SDS valent : $a^V = 0.618 \pm 0.008$, $b^V = 1 \pm 0.01$, $c^V = 0.146 \pm 0.008$. Le facteur de dépolarisation, $D = 0.24 \pm 0.08$, est identique à celui du MT04 dans le méthanol, il n'y a pas de modification majeur de la symétrie de la molécule. Comme pour le DiA, les assemblages sont induit par le mélange de solvant car le paramètre η vaut : 0.76 ± 0.06. Ainsi le poids des assemblages de MT04 est de 24%.

L'addition de SDS induit la formation d'assemblages mixtes de SDS et de MT04. L'intensité HRS augmente alors en fonction de la concentration en SDS. Comme pour le DiA, l'augmentation de la contribution quadripolaire s'explique par une augmentation de la taille des micelles. L'effet est ici assez violent avec un facteur 3 à 4 sur le rayon des micelles.

La décroissance de l'intensité aux concentrations de SDS plus importantes est ensuite attribuée à la dispersion des molécules de MT04 dans les micelles. La décroissance est donc interprétée comme une disparition des assemblages mixtes centrosymétriques en raison d'une distribution non homogène, par exemple parce que le nombre de molécules de MT04 par micelles est trop faible. Cette analyse est basée sur la mesure de l'intensité polarisée verticalement en fonction de la polarisation du champ incident pour une concentration de SDS élevée (10 mM) reportée sur la Figure 25. Dans cette zone de concentration de SDS l'intensité

HRS est similaire à l'intensité sans SDS. De plus, les coefficients mesurés valent : $a^V = 0.763 \pm 0.008$, $b^V = 1 \pm 0.01$, $c^V = 0.197 \pm 0.008$. Le facteur de dépolarisation vaut $D = 0.26 \pm 0.04$. D correspond toujours à la symétrie initiale de la molécule de MT04. Le paramètre η vaut : 0.96 ± 0.05. La solution ne contient donc que des molécules libres en solution car le paramètre η tend vers un. Les molécules libres sont alors soit libres soit insérées dans une micelle mais seule.

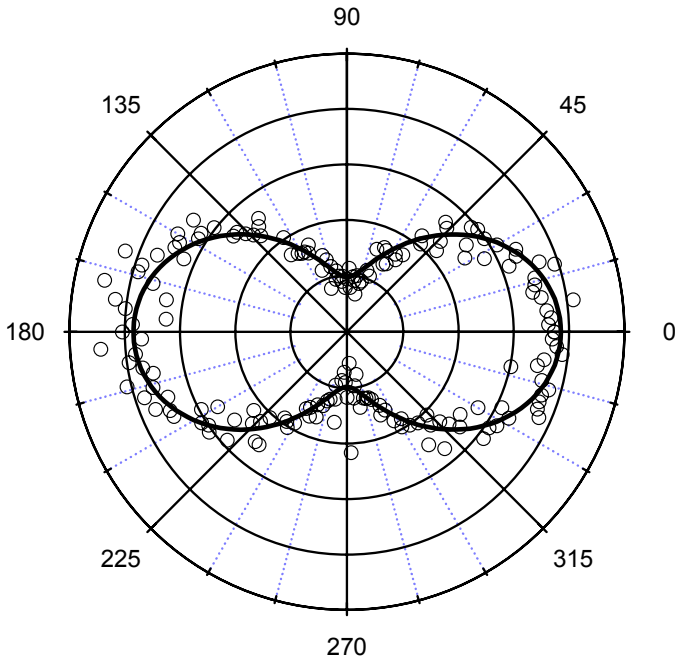


Figure 25 : Graphe polaire de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de l'angle de la polarisation du champ incident (0°=verticale) d'une solution de MT04+SDS dans un mélange eau/méthanol 5:1 (v/v). L'ajustement est effectué par la relation (5.3).Cette mesure correspond au point [SDS]=10 mM de la Figure 22.

Dans la zone de concentration en SDS où les assemblages mixtes induisent une très forte exaltation de l'intensité HRS une mesure de l'intensité polarisée verticalement en fonction de la polarisation du champ incident à une concentration de SDS de 1 mM est enregistrée et reportée sur la Figure 26. L'intensité enregistrée possède quatre lobes caractéristiques d'une émission quadripolaire dominante. Cependant l'intensité observée présente des lobes symétrique deux à deux et non pas identiques comme attendue pour un assemblage centrosymétrique décrit dans le chapitre 4. L'intensité est décrite par la relation générale :

$$I_{HRS}^{\Gamma} = a^{\Gamma}\cos^4\gamma + b^{\Gamma}\cos^2\gamma\sin^2\gamma + c^{\Gamma}\sin^4\gamma + d^{\Gamma}\cos^3\gamma\sin\gamma + e^{\Gamma}\cos\gamma\sin^3\gamma \qquad (5.6)$$

avec des coefficients *d* et *e* toujours nuls à cause de la symétrie cylindrique du problème. De tels coefficients ont cependant été introduits dans le modèle de réponse HRS de nanoparticules métalliques [5]. En effet, dans le cas des particules métalliques il faut tenir compte, pour le champ à la fréquence fondamentale, d'un champ de cavité dans les particules dû aux propriétés de délocalisation de charge dans toute la nanoparticule. Ce champ interne à la nanoparticule se calcule alors par la théorie de Mie [6]. Ce champ de cavité possède donc une composante d'espace selon la direction de propagation contrairement au cas moléculaire où le champ est dans le plan (*OXY*) décrit dans le chapitre 4. C'est cependant la composante selon cet axe qui introduit les coefficients *d* et *e*. Pour les assemblages mixtes de MT04 et SDS la nécessité de tenir compte des coefficients *d* et *e* implique l'existence d'interactions entre les molécules de MT04 et induisant une délocalisation des charges suffisante. Les interactions entre molécules sont à l'origine de l'apparition d'une seconde bande d'absorption à 520 nm visible sur les spectres d'absorption de la zone d'intensité HRS exaltée par l'addition de SDS, voir Figure 23. L'ajustement par la relation (5.6) de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de la polarisation du champ incident à une concentration de SDS de 1 mM donne pour les coefficients : $a^V = 0.029 \pm 0.008$, $b^V = 1 \pm 0.01$, $c^V = 0.020 \pm 0.008$, $d^V = -0.070 \pm 0.008$, $e^V = -0.130 \pm 0.008$. La valeur de a^V obtenue confirme que l'augmentation de l'intensité mesurée et reportée Figure 22 est bien due au moment quadripolaire de l'intensité à travers le coefficient a^H. Enfin on en déduit $\eta = 0.05 \pm 0.03$, soit une contribution quadripolaire dominante.

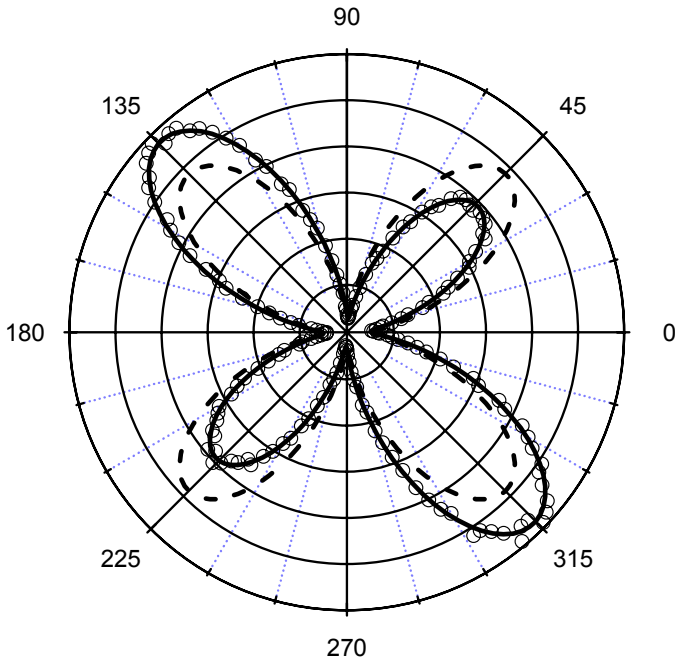


Figure 26 : Graphe polaire de l'intensité HRS polarisée verticalement en fonction de l'angle de la polarisation du champ incident (0°=verticale) d'une solution de MT04+SDS dans un mélange eau/méthanol 5:1 (v/v). L'ajustement en trait pointillé est effectué par la relation (5.3). L'ajustement en trait plein est effectué par la relation (5.6). Cette mesure correspond au point [SDS]=0.48 mM de la Figure 22.

5.4 Conclusion.

La diffusion hyper Rayleigh résolue en polarisation permet la caractérisation des assemblages moléculaire qui ont par ailleurs une taille caractéristique bien inférieure à la longueur d'onde. En particulier nous avons observé l'évolution de la taille des micelles. Ces mesures nécessitent la connaissance de l'intensité, donc des coefficients a^{Γ}, b^{Γ} et c^{Γ} de l'intensité HRS décrite dans le chapitre 4. Le modèle présenté consiste à ne tenir compte que de deux populations dans le système, une ayant une réponse purement dipolaire et une autre ayant une réponse purement quadripolaire. Dans le premier cas présenté du DiA, le modèle du chapitre 4 permet une estimation de l'évolution de la taille des assemblages formés dans la solution et d'observer un effet de sursaturation des molécules libres avant l'introduction du

SDS. Les mesures, à la fois sur le DiA et le MT04, permettent une distinction entre des populations de molécules libres et en agrégation. La diffusion harmonique de lumière est donc une excellente technique pour la caractérisation des assemblages. Dans le cas du MT04 les assemblages imposent des modifications du modèle. Dans ce cas, le formalisme se rapproche de celui introduit précédemment pour les nanoparticules métalliques.

Bibliographie

[1] D. Myers, *Surfactant Science and Technology*, VCH Publishers, New York, 1992

[2] S. Ghosh, A. Krishnan, P. K. Das and S. Ramakrishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **125,** (2003) 1602

[3] M. Barzoukas, A. Fort and M. Blanchard-Desce, *New J. Chem.*, **21,** (1997) 309

[4] K. Clays and A. Persoons, *Phys. Rev. Lett.*, **66,** (1991) 2980

[5] J. Nappa, *Diffusion hyper Rayleigh de nanoparticules métalliques*, Université Claude Bernard-Lyon 1, Lyon, 2004

[6] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, Wiley & sons, New york, 1925

Chapitre 6 : Assemblages moléculaires à l'interface air-liquide.

6.1 Introduction.

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, la génération de second harmonique est un processus impossible, dans l'approximation dipolaire électrique, dans un milieu possédant un centre d'inversion. Cette propriété fait de la génération de seconde harmonique un outil adapté à l'étude d'interfaces séparants des milieux possédant un centre de symétrie comme un gaz ou un liquide [1-4]. C'est le cas des membranes cellulaires qui séparent le cytoplasme du milieu extérieur. Le cytoplasme est le milieu liquide interne à la cellule contenant tous les éléments nécessaires à son fonctionnement, voir Figure 1.

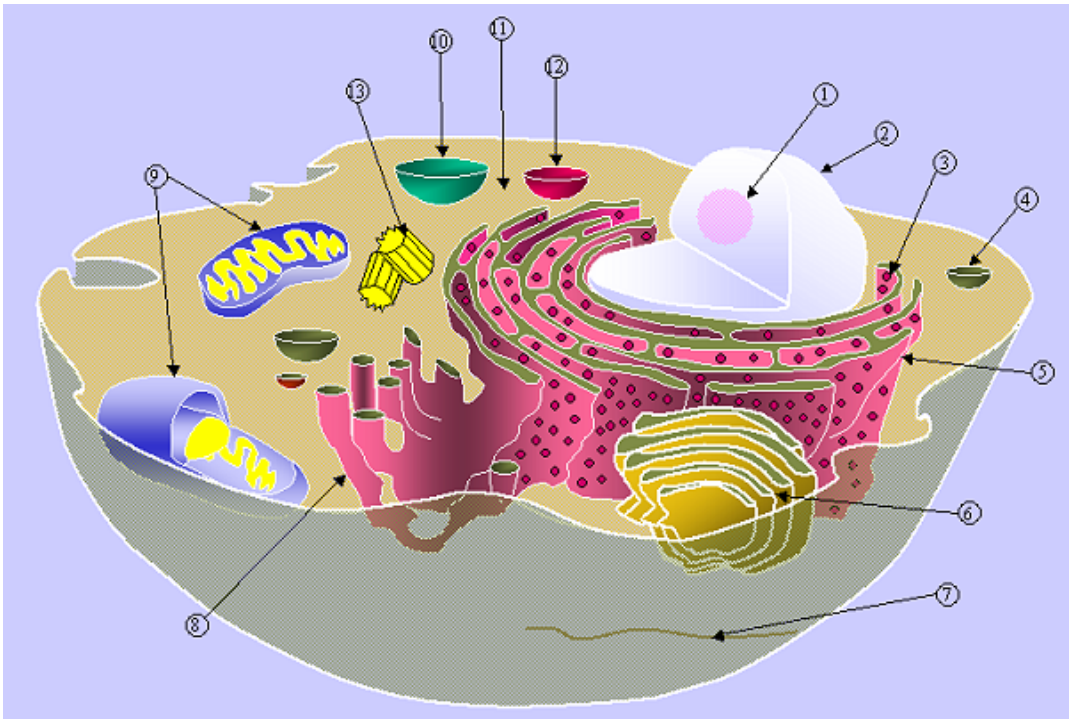


Figure 1 : Organisation d'une cellule eucaryote typique. 1:Nucléole. 2:Noyau. 3:Ribosome. 4:Vésicule. 5:Réticulum endoplasmique granuleux. 6:Appareil de Golgi. 7:Microtubule. 8:Réticulum endoplasmique lisse. 9:Mitochondrie. 10: Vacuole. 11:Cytoplasme. 12:Lysosome. 13:Centriole. (http://fr.wikipedia.org/wiki/Cellule_(biologie))

La cellule est entourée de liquide. La membrane extérieure de la cellule est un assemblage moléculaire organisé principalement composé de protéines et de lipides assemblés en bicouche [5]. Les protéines présentes dépendent de l'activité de la cellule puisqu'elles régulent les passages vers l'intérieur et vers l'extérieur de la cellule. Les lipides sont classifiés en cinq catégories : les acides gras, les triglycérides, les phosphoglycérides, sphingolipides et les stérols [5]. Les trois dernières catégories sont extrêmement majoritaires dans les membranes biologiques. Les membranes reconstituées sont généralement uniquement formées avec certains de ces éléments. Les lipides utilisés pour reconstituer les membranes sont des molécules composées de deux éléments, une tête hydrophile et une queue hydrophobe. La queue hydrophobe est constituée de chaînes carbonées. La membrane en bicouche est formée par deux rangées de molécules lipidiques ayant leur queue hydrophobe dirigée vers l'intérieur de la bicouche. La membrane ainsi formée a les têtes hydrophiles en contact avec les milieux liquides extérieurs et intérieurs. Cette membrane est constituée de différentes molécules lipidiques dont la proportion dépend de la cellule elle-même et de sa fonction. Dans cette membrane lipidique sont fixées de multiples protéines assurant les fonctions de la cellule et les transferts entre l'intérieur et l'extérieur des éléments participants au fonctionnement de la cellule. Les protéines membranaires sont classifiées en deux grandes catégories : Les protéines intrinsèques et les protéines extrinsèques. Les protéines intrinsèques sont intégrées à la membrane et donc très fortement liées. Les protéines extrinsèques sont liées à la surface de la membrane par des ancres, des chaînes lipidiques, qui s'insèrent dans la membrane. Les protéines sont des assemblages d'acides aminés, voir Tableau 1.

Dans le cadre d'un projet pluridisciplinaire, nous nous sommes intéressés à la régulation par la membrane cellulaire de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline d'intestin de bœuf (PAIB) à ancre glycosylphosphatidyl-inositol (GPI). Cette protéine catalyse l'hydrolyse des monoesters d'acide phosphorique. L'activité enzymatique de cette protéine doit permettre d'obtenir les métabolites nécessaires au fonctionnement cellulaire. La PAIB est fixée à la membrane par les chaînes lipidiques de son ancre GPI. Notre objectif est donc de savoir si cet ancrage à la membrane induit la dépendance de l'activité enzymatique de la protéine en fonction de la composition de la membrane.

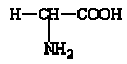
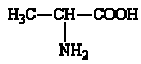
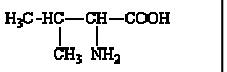
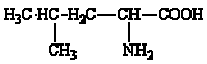
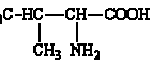
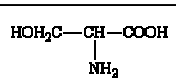
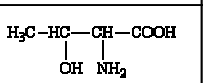
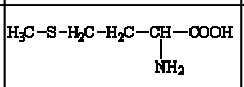
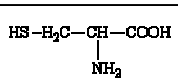
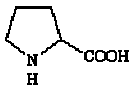
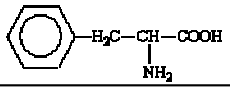
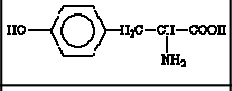
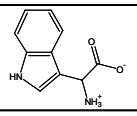
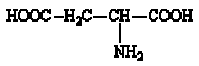
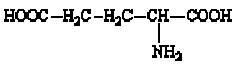
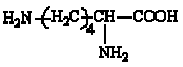
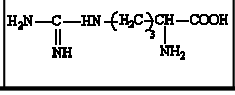
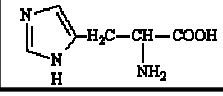
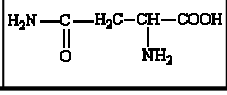
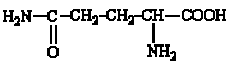
glycine ou glycocolle	Alanine	Valine	Leucine	Isoleucine
				
Sérine	Thréonine	Méthionine	Cystéine	Proline
				
Phénylalanine	Thyrosine	Tryptophane	acide Aspartique	acide Glutamique
				
Lysine	Arginine	Histidine	Asparagine	Glutamine
				

Tableau 1 : Acides aminés et leur formule chimique.

Pour suivre cette activité enzymatique, la technique proposée est le couplage de la génération de seconde harmonique de surface et de la fluorescence à deux photons (SHG/TPEF) [6, 7]. Les acronymes anglais de ces techniques sont : SSHG pour Surface Second Harmonic Generation et TPEF pour Two Photon Excited Fluorescence. Cette dualité permet de sonder deux parties distinctes de la membrane avec la même excitation laser. L'éclairement de la membrane par l'unique source laser génère deux réponses optiques non linéaires de second ordre que l'on peut détecter par analyse spectrale de la lumière collectée. La SHG provient uniquement de l'interface et permet de suivre l'évolution de la protéine ancrée à la couche lipidique à travers ses acides aminés. Les acides aminés qui servent de sonde sont ceux possédant une hyperpolarisabilité quadratique non négligeable. Ils contiennent un cycle de carbone entre un groupe donneur et un groupe accepteur d'électrons, et possèdent donc une réponse optique non linéaire plus forte, voir chapitre 5. Ces acides aminés, essentiellement le tryptophane et la tyrosine, sont des sondes SHG intrinsèques à la protéine.

La TPEF provient du volume excité et donc de l'interface ainsi que des molécules hydrolysées par la protéine qui se situe dans le milieu liquide environnant la protéine inaccessible par SHG à cause de la centrosymétrie. Pratiquement, au laboratoire l'activité de la PAIB est mesurée en suivant l'hydrolyse d'un monoester de phosphate synthétique, le

para-nitrophenylphosphate (*p*NPP), voir Figure 7. Pour ce projet des monoesters de phosphate spécifique à l'optique non linéaire seront synthétisés. En choisissant le produit de la réaction d'hydrolyse par la protéine comme étant inactif en TPEF (ou l'inverse) la mesure de TPEF permet de suivre la disparition (ou l'apparition) du produit de la réaction d'hydrolyse et donc d'obtenir l'activité enzymatique de la protéine. Il suffit ensuite de faire cette mesure en faisant évoluer la composition de la membrane.

Le point de départ est la présentation du système biologique complet avec d'abord la PAIB-GPI, puis la membrane, et enfin la réaction d'hydrolyse de la protéine sur le *para*-nitrophénylphosphate (*p*NPP). La cuve de Langmuir, qui permet de faire des mesures aux interfaces air-liquide et donc sur la membrane, est ensuite présentée. Pour les résultats expérimentaux préliminaires, les molécules utilisées comme sondes dans le système biologique sont caractérisées par diffusion hyper Rayleigh. Ensuite le montage SHG/TPEF est détaillé puis les mesures sont réalisées sur une molécule test, le DiA, déjà utilisée dans les assemblages moléculaires en milieu liquide, voir chapitre 4.

6.2 Le système biologique

6.2.1 La PAIB-GPI

La phosphatase alcaline (PA) est présente dans différents tissus vivants. Celle que l'on étudie en particulier est extraite de l'intestin de bœuf (PAIB) mais elle se retrouve aussi dans les tissus humains. La structure des protéines est hiérarchisée en quatre sous structures, voir Figure 2. La structure primaire est une séquence d'acides aminés appelée polypeptide. Un peptide est une protéine simple formée d'une séquence de quelques acides aminés. Certaines parties de la chaîne d'acides aminés adoptent une structure régulière appelée structure secondaire. On reconnaît deux grands types de structure secondaire : L'hélice alpha et le feuillet bêta. Dans la structure dite en hélice alpha, la chaîne d'acides aminés prend la forme d'un tire-bouchon. Les différentes spires sont stabilisées par des liaisons hydrogène. Dans un feuillet bêta, il se forme des liaisons hydrogène entre certains segments de la chaîne disposés parallèlement les uns par rapport aux autres. L'ensemble a un arrangement plissé. Une protéine est donc faite d'hélices alpha et de feuillets bêta reliés par des segments qui n'ont pas

de structure secondaire particulière. La forme finale de la chaîne d'acides aminés, c'est à dire la structure tridimensionnelle finale qu'adopte la chaîne d'acides aminés, constitue la structure tertiaire de la protéine, voir Figure 2. La structure quaternaire de la protéine est la structure finale d'une protéine résultant de l'assemblage des différentes chaînes polypeptidique constituant la protéine.

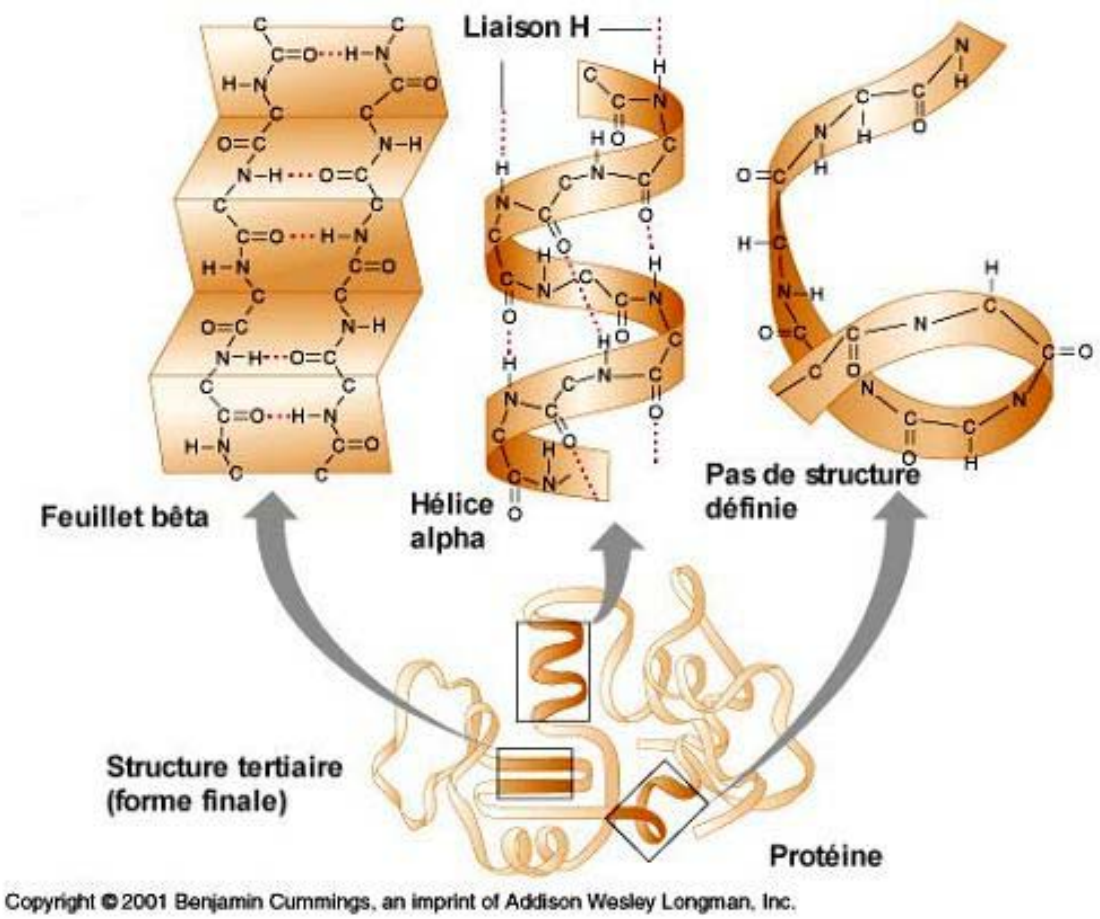


Figure 2 : Structure tertiaire d'une protéine avec ses structures secondaires types : l'hélice alpha et le feuillet bêta liés pas des chaînes polypeptidiques sans structures spécifique.

La PAIB possède deux sites actifs permettant l'hydrolyse des monoesters de phosphate. Les deux sites actifs sont symétriques. Ce sont deux cavités formées par la structure tertiaire de la PAIB. Le tryptophane (Trp) et la tyrosine (Tyr) sont parmi les acides aminés recensés dans la PAIB. Ces acides aminés permettent d'envisager la détection de la phosphatase alcaline par des méthodes optiques sans modifier la protéine en incluant un marqueur optique, ce qui évite ainsi toute modification de l'activité enzymatique recherchée. Comme pour toutes les enzymes, la forme des sites actifs détermine le type de molécules

pouvant s'insérer dans le site et donc réagir avec la protéine. C'est une reconnaissance géométrique bien connue dans le cas des récepteurs membranaires. Il existe plusieurs types de PA, chacune ayant des sites actifs propres. La particularité de la PAIB que nous étudions est son ancre qui se fixe aux membranes cellulaires. Cette ancre est double et symétrique. La Figure 3 donne la structure de cette ancre qui s'insère dans la membrane grâce à ses résidus d'acide gras. Cette fixation à la membrane peut être la cause de l'évolution de l'activité enzymatique de la PAIB en fonction de la constitution de la membrane mais est proche de celle de la PA placentaire dont la structure 3D connue est présentée dans la Figure 4 [8].

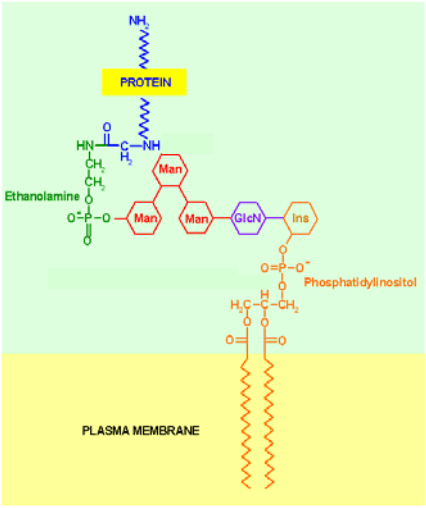


Figure 3 : Ancre glycosylphosphatidyl-inositol (GPI), avec : Man=mannose, GlcN=glucosamine et Ins=inositol.

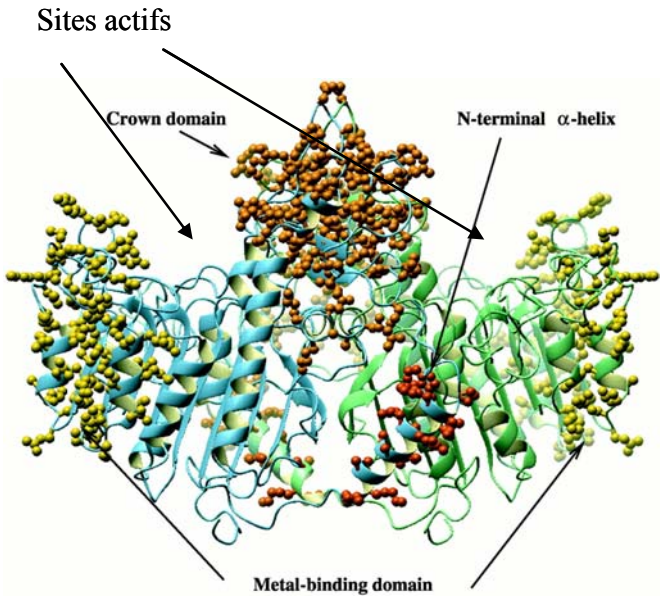


Figure 4 : Structure quaternaire de la PA placentaire.

6.2.2 La membrane

La membrane est constituée d'une bicouche lipidique incluant des protéines. Ces lipides peuvent êtres de différente nature en fonction du type de la cellule. Dans notre système la membrane reconstituée est essentiellement constitué par des phospholipides, par exemple : le POPC (palmitoyloléylphosphatidylcholine) de formule $C_{42}H_{82}NO_8P$, voir Figure 5, ou le DOPC (dioléoylphosphatidylcholine).

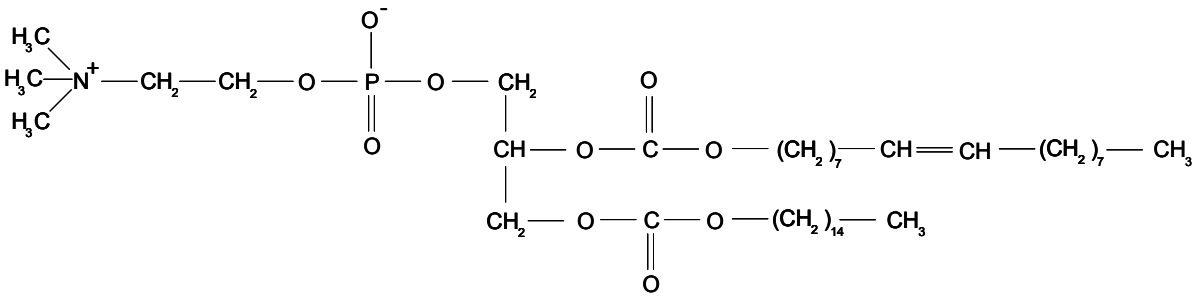


Figure 5: Formule du palmitoyloléylphosphatidylcholine (POPC).

Notre but est de mesurer l'activité enzymatique de la protéine dans une membrane biomimétique de son environnement naturel. Dans un premier temps l'expérience sera faite avec un seul phospholipide, le POPC. Il est le plus représentatif des membranes biologiques où la PAIB est insérée. Le premier paramètre évolutif de nos membranes est concentré sur les autres éléments lipidiques de la membrane, le cholestérol et les sphingomyélines. Les membranes sont constituées principalement de ces trois éléments sous la forme de radeaux lipidiques, voir Figure 6, dans lesquels les protéines extrinsèques se fixent comme la PAIB grâce à son ancre GPI.

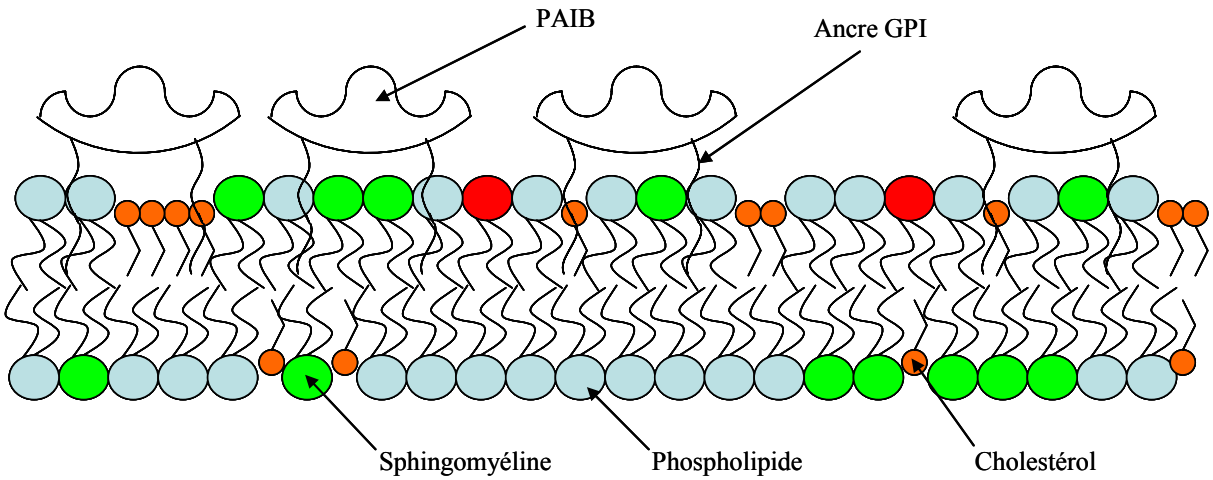


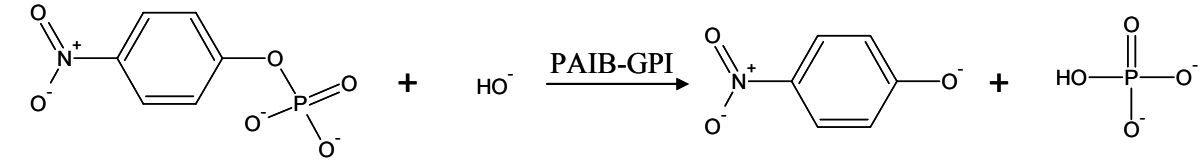
Figure 6 : Schéma d'un radeau lipidique type formé par des phospholipides, sphingomyéline et cholestérol. La PAIB est ancrée dans les radeaux par les chaînes grasses de son ancre GPI.

Les membranes ainsi reconstituées sont hétérogènes. Les divers lipides se regroupent en formant des zones plus denses de certains éléments. Ce constat implique une réflexion sur l'influence de ces zones hétérogènes sur l'activité enzymatique de la PAIB ainsi que sur sa capacité à se fixer à la membrane en fonction de cette hétérogénéité. L'utilisation des sondes du même type que les lipides de la membrane permettent d'obtenir des informations sur l'hétérogénéité de la membrane, en particulier par des mesures dynamiques. Des molécules adaptées à cette intégration à la membrane sont les molécules amphiphiles du même type que les lipides, une queue hydrophobe et une tête hydrophile. Pour réaliser ces expériences il faut insérer la sonde en quantité infime dans la membrane, moins de 1%, pour éviter de modifier le comportement de la membrane. Ces sondes amphiphiles doivent donc avoir une forte réponse optique non linéaire pour les mesures SHG/TPEF comme le DiA utilisé dans les assemblages moléculaires au cours du chapitre 5.

6.2.3 Les monoesters de phosphate

Comme nous l'avons déjà précisé, la PAIB-GPI catalyse l'hydrolyse de monoesters de phosphate. Pour faciliter les mesures par optique non linéaire, des sondes seront utilisées comme substrat de l'enzyme. Ces molécules seront constituées d'un système « push-pull » fortement polarisable associé à une fonction ester de phosphate. Cette synthèse chimique fait

partie d'une collaboration autour de ce projet de mesure d'activité enzymatique. Dans un premier temps de test, en particulier pour valider les techniques d'extraction de la PAIB, le monoester de phosphate utilisé est le *para*-nitrophenylphosphate (*p*NPP) qui se transforme par hydrolyse en *para*-nitrophenolate (pNP), jaune en solution, voir Figure 7. Le déplacement en longueur d'onde de la réponse optique entre le substrat et le produit de la réaction permet une analyse visuelle pour les vérifications de la présence de la PAIB dans les solutions extraites des intestins de bœuf mais surtout une mise en œuvre simple d'une mesure de l'activité enzymatique de la PAIB par détection spectrale.



para-nitrophénylphosphate (*p*NPP)

para-nitrophénolate (*p*NP)

Figure 7 : Réaction d'hydrolyse du para-nitrophenylphosphate (pNPP) en *para*-nitrophenolate (pNP).

6.3 Le système biomimétique dans une cuve de Langmuir-Blodgett

6.3.1 La cuve de Langmuir-Blodgett

La cuve de Langmuir-Blodgett est un système très utilisé pour la formation d'assemblages contrôlés à l'interface air liquide. La cuve de Langmuir est formée d'un bassin en téflon à la surface duquel deux barrières peuvent se déplacer sur une surface déterminée, voir Figure 8 et Figure 9.

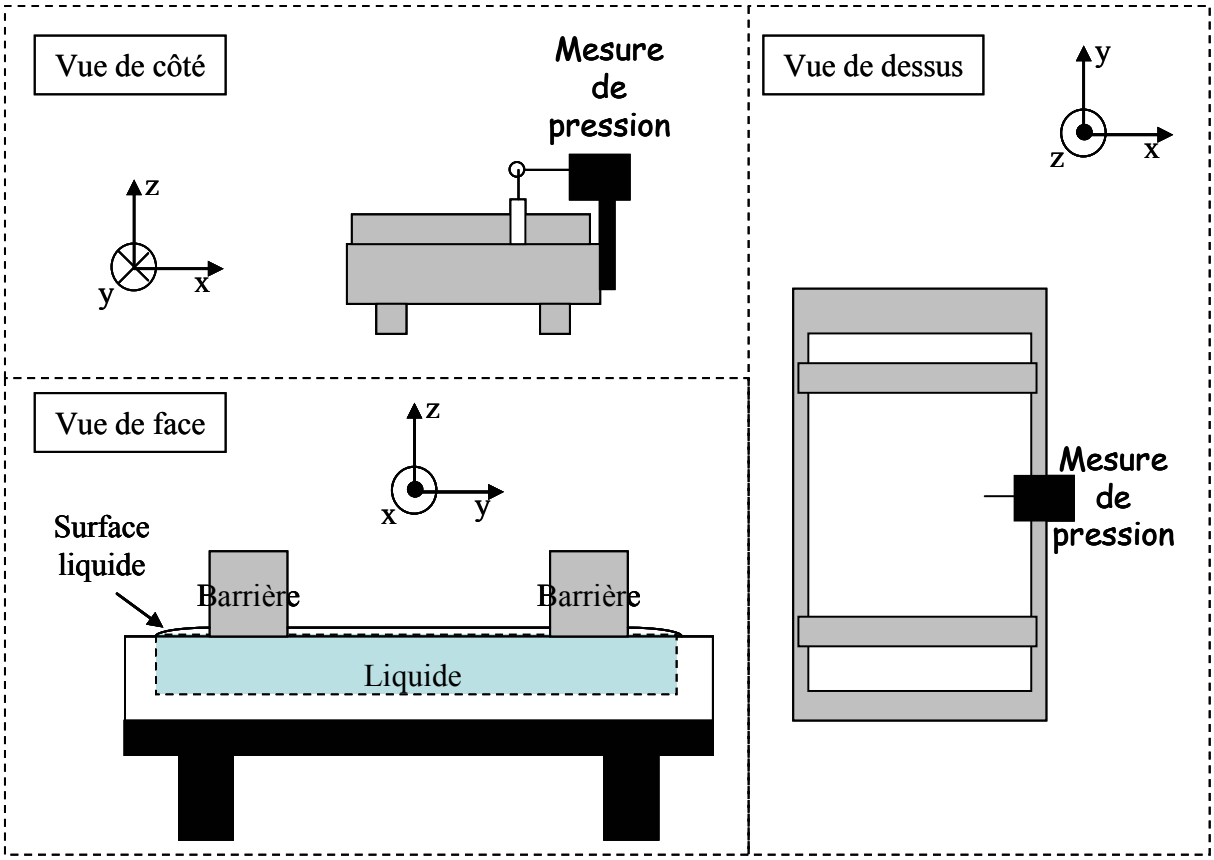


Figure 8 : Cuve de Langmuir-Blodgett avec mesure de pression de surface à l'interface air liquide.

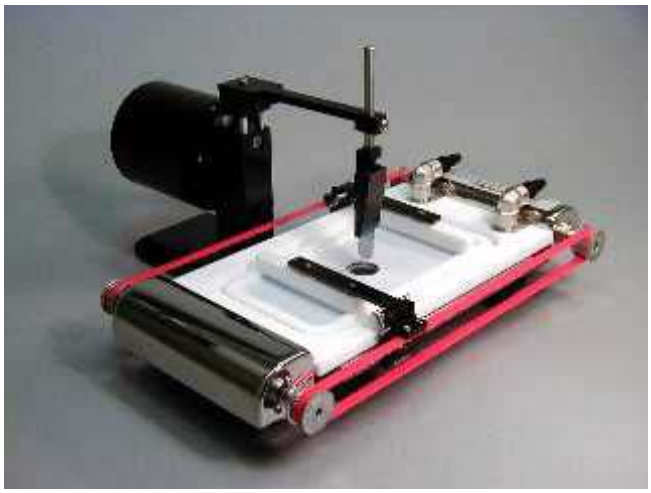


Figure 9 : Photo de la Cuve de Langmuir-Blodgett.

Notre cuve a une surface totale de 100 cm² et est munie de deux barrières à mouvement symétrique et simultané (Model 112D, NIMA technology). Le déplacement des barrières est motorisé et permet un contrôle de l'aire entre les barrières et la vitesse de

déplacement minimale des barrières est 1 cm²/min. La cuve utilisée est munie d'un capteur de pression de surface composé d'un dynamomètre auquel est suspendu un papier Wattman trempant à la surface. Le système complet de la cuve de Langmuir avec son logiciel permet d'enregistrer des isothermes pour la surface étudiée, c'est-à-dire d'enregistrer la pression de surface en fonction de l'aire délimitée par les barrières et donc de l'aire occupée par les molécules. Cette donnée est précieuse puisqu'elle permet d'avoir des informations immédiates sur l'état de la surface en particulier lorsque l'on atteint les points de rupture de surface pour lesquels la pression chute brutalement. L'isotherme contient un certain nombre de régions distinctes, voir Figure 10. Ces régions correspondent aux phases des molécules présentes à la surface. Ces régions sont identifiables par les discontinuités de l'isotherme. Le comportement de ces phases est lié à la couche déposée à la surface de la cuve, ses propriétés physique et chimique. Lorsque les barrières sont grandes ouvertes les molécules de la surface sont dans l'état gazeux (G). Au fur et à mesure de la compression l'état de la surface passe par une phase liquide expansé (L_1) et une phase liquide condensée (L_2). Pour des compressions supérieures, la monocouche passe dans un état solide. Au dessus de cet état, la compression induit un collapse de la monocouche qui conduit à une chute de la pression de surface.

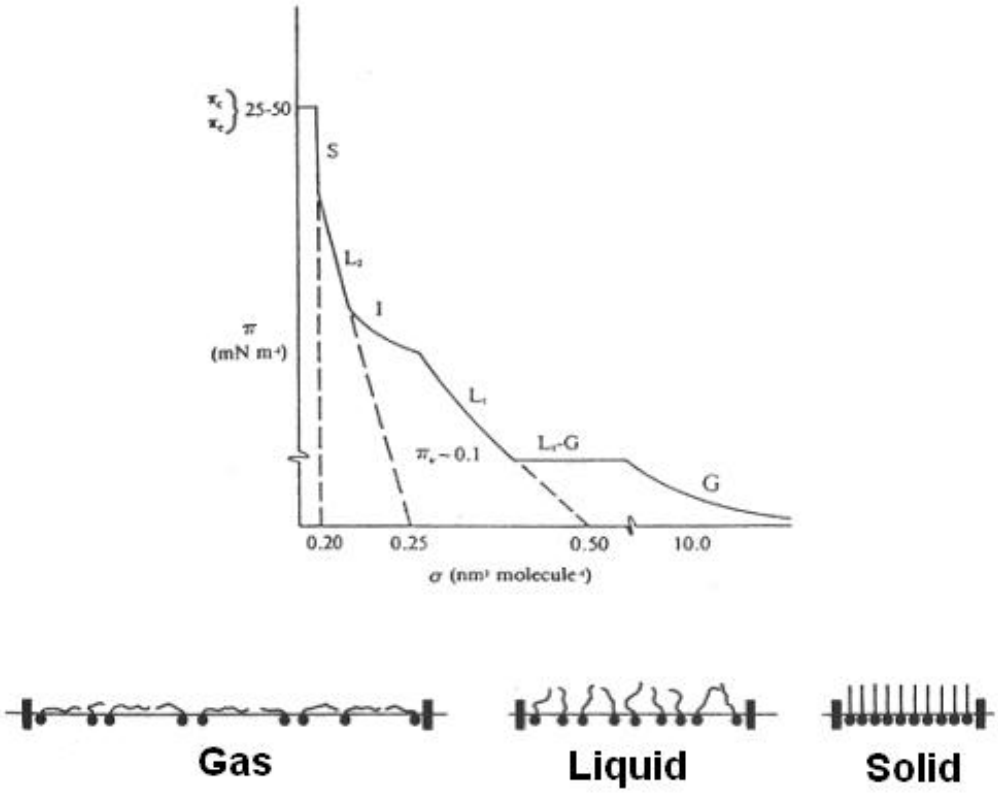


Figure 10: Transitions de phases d'une monocouche à la surface d'une cuve de Langmuir mesurées par une isotherme. KSV instruments (http://www.ksvltd.com).

La mesure de pression permet de se placer à une valeur mimant celle des membranes biologiques c'est-à-dire à 30 mN/m². La cuve est thermostatée grâce à un système de régulation de température par circulation d'eau. Cette thermostatisation de la cuve est primordiale pour des mesures dans des conditions biomimétiques, la température devant être supérieure à la température ambiante.

6.3.2 Méthode de dépôt des solutions en surface.

Des mesures d'isothermes sur des surfaces de cholestérol et de POPC pur sont faites pour étalonner notre cuve de Langmuir par rapport aux expériences menées dans le laboratoire de biochimie de F. Besson qui prépare le système biomimétique. Les isothermes enregistrés, reportés sur la Figure 11, sont faits pour un dépôt à partir de solutions de concentration 0.545 mM à la fois pour le POPC et le cholestérol dans un solvant hexane/éthanol 9:1 v/v. Cette concentration de lipides est optimale afin d'effectuer les dépôts en une fois sur la surface de 80 cm² de notre cuve de Langmuir. Un volume de 15 µL de la solution de POPC soit 8.2 nmol, et un volume de 40 µL pour la solution de cholestérol soit 21.8 nmol, est déposé à la surface pour atteindre la pression de surface membranaire de 30 mN/m² avec notre cuve de Langmuir. La transition de phase de l'état gazeux ($P = 0\ mN.m^{-2}$) vers un état liquide est enregistrée à une aire d'environ 90 Å²/molécule et 40 Å²/molécule pour respectivement le POPC et le cholestérol. La molécule de POPC a deux chaînes hydrophobes et le cholestérol une seule. Les molécules de POPC occupent plus d'espace lorsqu'elles sont partiellement couchées à la surface ce qui explique la transition plus longue entre la phase liquide et la phase solide jamais atteinte ici.

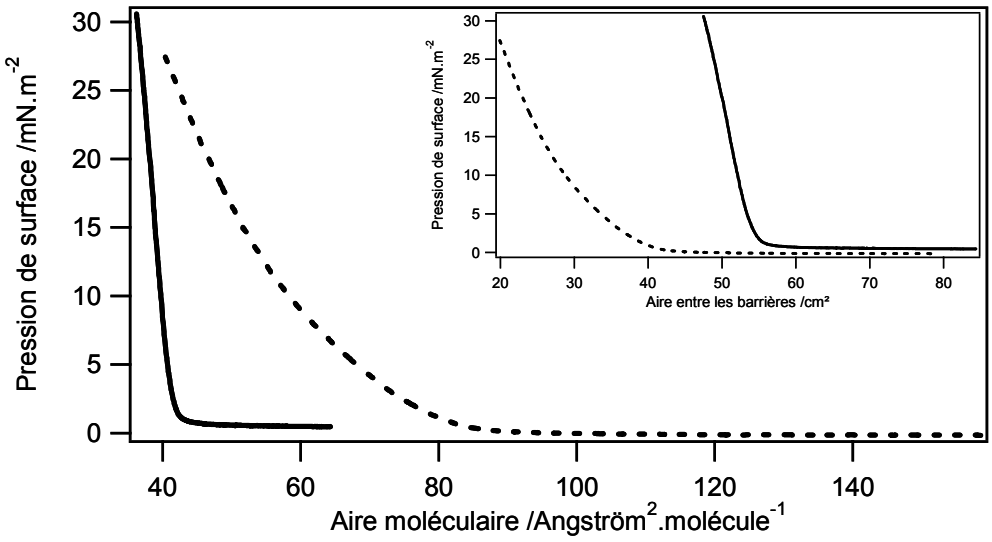


Figure 11 : Isothermes d'une solution pure de POPC (tirets) et de cholestérol (trait plein) en fonction de l'aire moléculaire. L'encart contient les mêmes isothermes mais en fonction de l'aire entre les barrières.

Dans un premier temps la cuve doit être remplie par le liquide désiré en formant un ménisque d'environ 1 mm pour permettre aux barrières de comprimer la surface. Cela correspond à un volume de 60 cm^3. Les barrières sont maintenues ouvertes au maximum pour une aire ici d'environ 80 cm^2. Dans le cas de la formation des membranes biomimétiques, le liquide remplissant la cuve de Langmuir est une solution tampon. La composition du tampon Tris utilisé pour notre système est : 10 mM Tris, 150 mM NaCl, 15 mM $MgCl_2$ pour un pH de 8.5. La solution de POPC (ou cholestérol) est déposée à la surface à l'aide d'une seringue. La seringue doit contenir impérativement toute la solution à déposer pour éviter de former des bicouches sur la surface en rajoutant une partie de la solution sur un précédent dépôt. A l'aide de la seringue la solution est déposée goutte à goutte en prenant soin de déposer chaque goutte en différents endroits de la surface. Il faut former chaque goutte au bout de l'aiguille et la mettre en contact avec le liquide de la surface sans toutefois plonger l'aiguille dans la surface. Ensuite une attente de 20 minutes est nécessaire pour une diffusion des molécules à la surface et pour l'évaporation du solvant des lipides avant de commencer la compression. L'isotherme est ensuite enregistré pour une vitesse de fermeture des barrières d'environ 5 cm^2/min La progression des barrières est arrêtée avant de dépasser la pression biomimétique de membranes biologiques (30 mN/m^2). Il faut noter que pour effectuer des membranes à plusieurs constituants il suffit de préparer une solution contenant les constituants désirés et de déposer cette solution de la même façon.

Pour nettoyer convenablement les ustensiles en contact avec les produits utilisés il faut respecter le protocole suivant. La cuve, le papier du capteur de pression ainsi que la seringue des protéines doivent être nettoyés par les solvants eau pure (H_2O), éthanol (EtOH) et dichlorométhane (CH_2Cl_2) dans l'ordre suivant : H_2O, EtOH, CH_2Cl_2, EtOH, H_2O. Et les seringues contenant les lipides dans l'ordre suivant : CH_2Cl_2, EtOH, H_2O, EtOH, CH_2Cl_2.

6.3.3 Le système complet

La finalisation de notre projet impliquera alors l'addition de la PAIB-GPI sous la monocouche lipidique à l'interface air-eau et la vérification de l'insertion de la protéine par mesure de l'isotherme et en mesurant leurs sondes naturelles que sont les acides aminés type tryptophane ou tyrosine. Ensuite la solution de substrat sera ajoutée à la sous phase contenant le tampon. Le système permettant l'étude de l'activité enzymatique est ainsi complet avec toutes les sondes nécessaires au suivi par génération de seconde harmonique et fluorescence à deux photons des éléments essentiels. La présence d'une sonde amphiphile de type DiA en interaction avec les lipides de la monocouche pourra également montrer l'insertion de la protéine. Les monoesters en solution, substrat de l'enzyme, avec comme exemple le *p*NPP qui pourra être remplacé par des sondes spécifiques à ce système biologique et ayant une plus forte réponse optique non linéaire de second ordre. Le système complet est schématiquement résumé par la Figure 12.

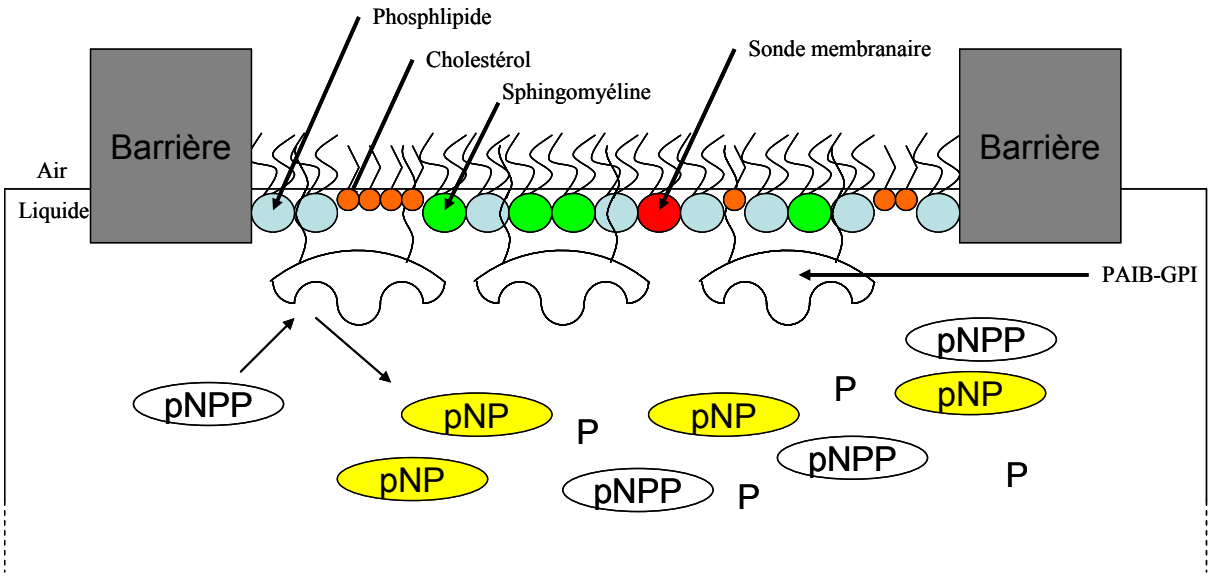


Figure 12 : Schéma du système biologique complet à la surface d'une cuve de Langmuir-Blodgett.

6.4 Caractérisation par HRS des molécules sondes du système.

Les molécules sondes de base du système ont été caractérisées par HRS pour obtenir les propriétés intrinsèque des sondes moléculaires utilisées par la suite. Ces mesures sont faites de la manière décrite dans le chapitre 2. Les trois molécules étudiées sont le *para*-nitrophenylphosphate (pNPP), le tryptophane (Trp) et le DiA à chaînes courtes (sDiA). Le pNPP est le substrat de synthèse classiquement utilisé pour la phosphatase alcaline afin de reproduire la réaction d'hydrolyse par de la PAIB. Le Trp est un acide aminé présent dans la chaîne peptidique composant la PAIB. C'est une sonde naturelle potentielle de la protéine en optique non linéaire. Détecter la protéine par son biais permettrait de ne pas modifier la structure de la PAIB par adjonction de chromophores et donc de ne pas dénaturer son action. Le sDiA enfin est baptisé ainsi pour « short DiA » : c'est une molécule similaire au DiA mais possédant une chaîne carbonée hydrophobe plus courte, 5 carbones au lieu de 16 pour le DiA. C'est une sonde moléculaire soluble dans l'eau qui se répartit donc entre la surface et le volume de la solution.

L'hyperpolarisabilité du *p*NPP est extraite par la méthode de référence interne au cours d'expérience de dilution. L'intensité HRS normalisée par l'intensité HRS mesurée de l'eau pure en fonction de la concentration en pNPP est reportée sur la Figure 13. Aucune fluorescence n'est observée. L'hyperpolarisabilité mesurée est $\beta_{pNPP} = \sqrt{\langle \beta^2_{L,ZXX} \rangle + \langle \beta^2_{L,XXX} \rangle}$ $= (120 \pm 10) \times 10^{-30} esu$. Cette hyperpolarisabilité est relativement faible comparé à des systèmes « push-pull » synthétisés pour l'optique non linéaire ou comme le DiA dont l'hyperpolarisabilité vaut : $\beta_{DiA} = (1760 \pm 50) \times 10^{-30} esu$. C'est pourquoi une sonde plus spécifique à la génération de second harmonique et remplissant la même fonction que ce substrat doit être synthétisée dans le cadre des mesures du système biomimétique.

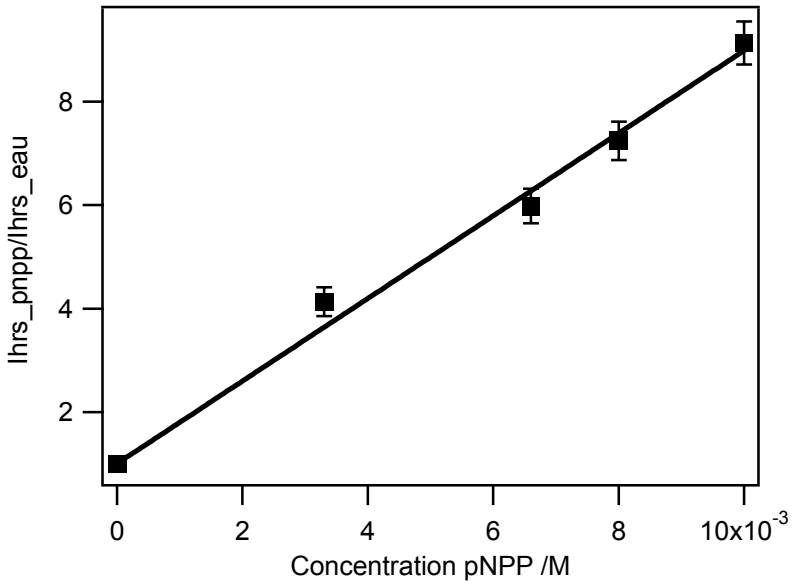


Figure 13: Intensité HRS normalisée par la mesure HRS de l'eau en fonction de la concentration en pNPP.

La même mesure a été effectuée ensuite pour une solution de tryptophane dans l'eau. L'intensité de fluorescence à 400 nm est reportée en plus de l'intensité HRS sur la Figure 14. La mesure d'intensité HRS est constante en fonction de la concentration en Trp. Cette mesure traduit l'impossibilité dans notre configuration expérimentale de détecter le Trp par HRS. Elle permet aussi de fixer une limite supérieure à l'hyperpolarisabilité du Trp. En admettant une sensibilité à une variation de 10% du signal de l'eau pure, on obtient une limite supérieure, $\beta_{\text{sup}} \sim 5\times10^{-30} esu$. Par ailleurs, la fluorescence du tryptophane est parfaitement linéaire avec la concentration ce qui confirme bien la présence du Trp en solution. L'impossibilité d'obtenir un signal HRS à cette longueur d'onde excitatrice s'explique par le caractère non résonant de l'expérience, la fréquence harmonique étant trop loin du maximum d'absorption situé à 280 nm environ.

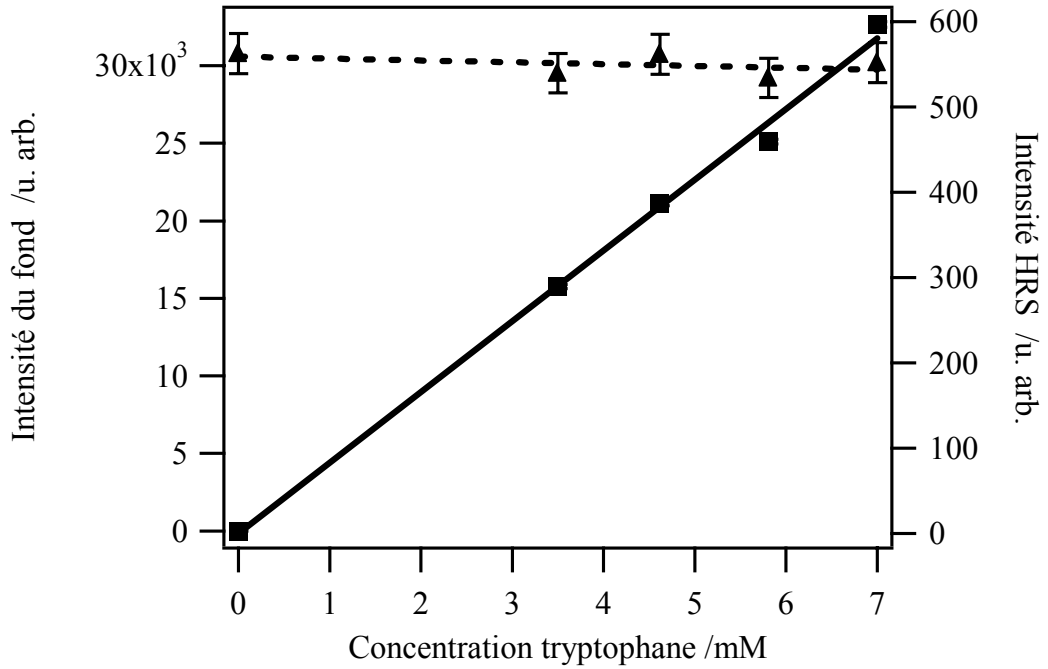


Figure 14: Intensité HRS (triangle) et fluorescence à 400 nm (carré) en fonction de la concentration en tryptophane.

Enfin, le DiA a chaîne courte, appelé sDiA, possède un chromophore non linéaire identique à celui du DiA présenté au chapitre 4. Il en diffère par sa double chaîne de cinq carbones au lieu de quinze dans le DiA. Cette chaîne plus courte permet au sDiA d'être soluble dans l'eau. La mesure de l'intensité HRS normalisée par la mesure de l'intensité de l'eau et corrigée de la réabsorption à 400 nm est reportée en fonction de la concentration en sDiA sur la Figure 15. La valeur de l'hyperpolarisabilité déduite par ajustement est $\beta_{sDiA} = \sqrt{\langle \beta_{L,ZXX} \rangle^2 + \langle \beta_{L,XXX} \rangle^2} = (1630 \pm 60) \times 10^{-30} esu$. Cette valeur est en bon accord avec la valeur du chapitre 4 pour le DiA de $\beta_{DiA} = \sqrt{\langle \beta_{L,ZXX} \rangle^2 + \langle \beta_{L,XXX} \rangle^2} = (1760 \pm 50) \times 10^{-30} esu$ compte tenu de la différence de solvant pour la mesure. Cette mesure indique aussi que les modifications apportées sur les chaînes hydrophobes ne jouent pas de rôle majeur.

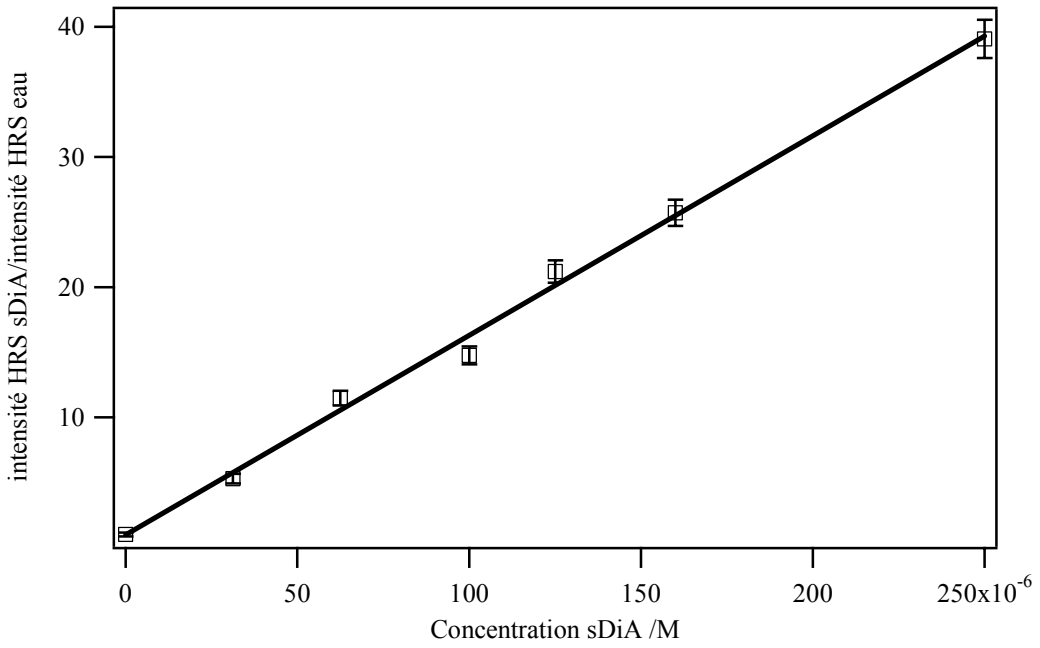


Figure 15: Intensité HRS normalisée par l'intensité de l'eau en fonction de la concentration en sDiA. L'intensité est corrigé de l'absorption à 400 nm

6.5 Les mesures par SHG/TPEF couplées.

6.5.1 Le montage expérimental.

L'intérêt de réaliser un montage couplé SHG/TPEF réside dans la localisation différente de l'interaction photons-matière pour ces deux processus. Pour la SHG, la localisation est exclusivement surfacique alors qu'elle est à la fois surfacique et volumique pour la TPEF. La source laser unique utilisé dans ce montage est ici un laser à impulsion femtoseconde, voir chapitre 2 pour les détails. Le faisceau est envoyé après filtrage et hachage sur un miroir dichroïque réfléchissant la longueur d'onde de 800 nm du laser. Le faisceau est en incidence normale à la surface liquide à l'aide d'un périscope. Il est focalisé avec un objectif de microscope ayant une ouverture numérique de 0.32 et un grossissement de $\times 16$. Cette ouverture numérique correspond à un angle de collection de 18°. Les intensités de SHG et de TPEF sont collectées par l'objectif. Les deux réponses sont cette fois transmises par le miroir dichroïque et envoyées dans la détection décrite au chapitre 2. Le faisceau incident est polarisé linéairement.

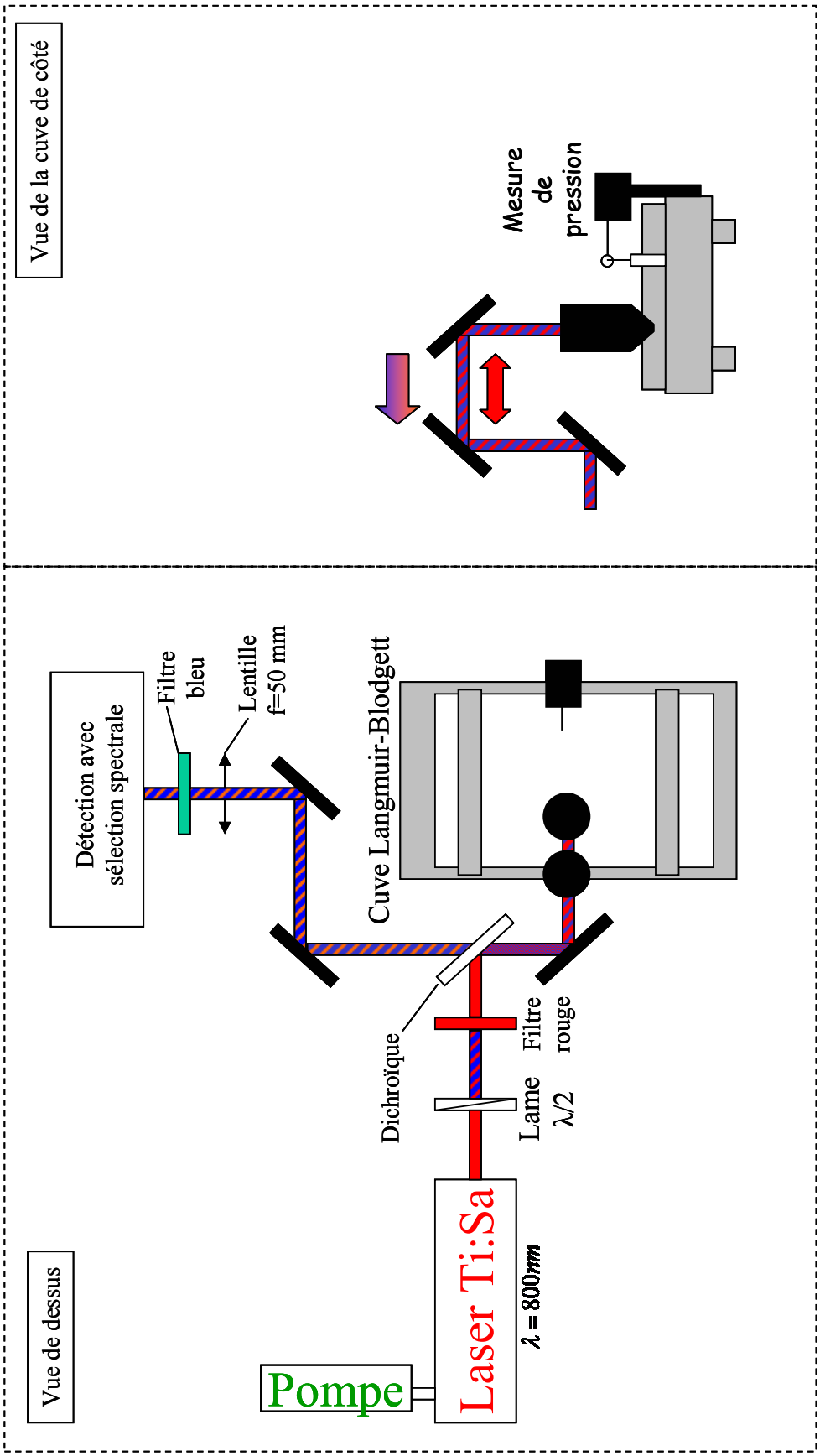


Figure 16 : Montage expérimental en incidence normale du couplage SHG/TPEF à la surface d'une cuve de Langmuir-Blodgett.

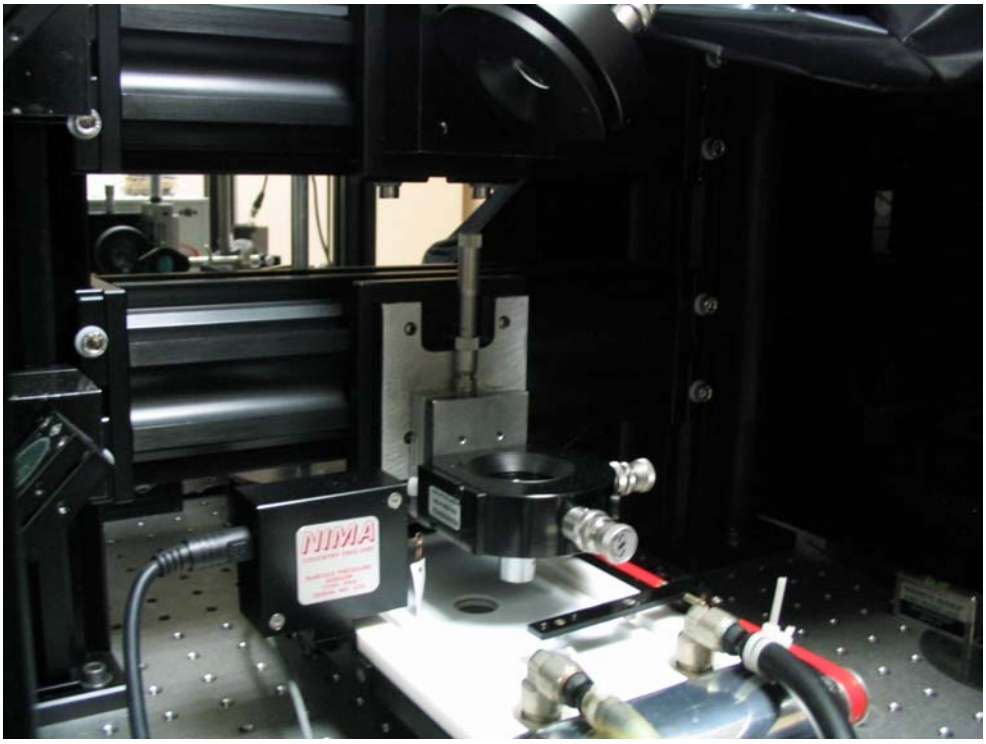


Figure 17 : Photo du montage expérimental en incidence normale du couplage SHG/TPEF à la surface d'une cuve de Langmuir-Blodgett.

L'émission globale collectée par le système de détection est distinguée spectralement par le monochromateur afin d'enregistrer alternativement l'intensité SHG à 400 nm et l'intensité de fluorescence à deux photons entre 400 et 800 nm.

6.5.2 Le principe de la mesure de SHG et TPEF

La technique de TPEF est déjà largement répandue en imagerie du vivant [9-13]. Elle s'est imposée après la technique de FCS, acronyme anglais de Fluorescence Correlation Spectroscopy, très utilisée depuis les années soixante dix [14, 15] et les techniques de microscopie confocale appliquées à la FCS qui permettent des mesures 3D de diffusion [16-18]. L'utilisation d'une excitation à deux photons permet de réduire le volume excité et ainsi de réaliser une imagerie sur des cellules biologiques avec des résolution de l'ordre de 1 μm^3 [19]. De plus la TPEF fait appel à des longueurs d'onde d'excitation entre 700 et 1200 nm beaucoup moins dommageables pour les tissus biologiques que l'UV.

La SHG est un processus à trois photons faisant intervenir un niveau virtuel ou réel sans dépôt d'énergie, voir Figure 18. La réponse SHG de la membrane est donc parfaitement cohérente ce qui se traduit par une réflexion spéculaire par rapport à l'angle d'incidence en tenant compte toutefois d'un léger décalage dû à la dispersion du milieu. On a en effet la relation :

$$n(\omega)\sin\theta_{incident} = n(2\omega)\sin\theta_{réfléchi} \qquad (6.1)$$

Ce décalage de l'ordre du centième de degré reste peu visible dans les expériences menées ici. La réponse de second harmonique est de plus proportionnelle au carré du nombre de molécules en raison de son caractère cohérent, voir chapitre 4 [20, 21]. La technique en surface, permet des études sur tout type d'interface : air-liquide, liquide-liquide, solide-liquide [22-28]. Par contre, la fluorescence à deux photons est un processus d'absorption impliquant simultanément deux photons suivi d'une émission spontanée le plus souvent à une longueur d'onde décalée vers le rouge par rapport à la longueur d'onde d'émission de la second harmonique [29]. Ce processus implique donc éventuellement une décorrélation entre l'excitation et l'émission et donc une émission dans tout l'espace.

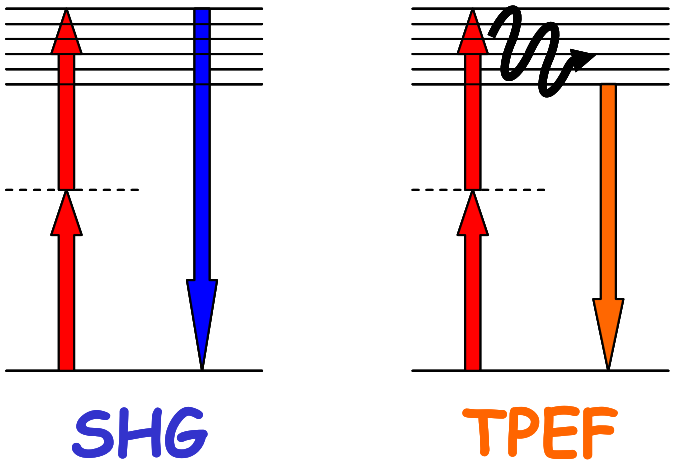


Figure 18 : Schéma énergétique de la génération de second harmonique (SHG) et de la fluorescence à deux photons (TPEF).

Cette dualité permet d'obtenir des informations provenant de la surface par SHG et provenant du milieu liquide proche de la surface et de la surface par TPEF. Dans le cadre de

ce projet sur des membranes reconstituées, deux processus permettent donc de cumuler des informations provenant des protéines ancrées à la surface et des produits et substrats situés dans le volume et provenant de la réaction d'hydrolyse. En effet le volume du point focal défini par l'objectif contient à la fois la membrane et le milieu liquide proche de la membrane, voir Figure 19.

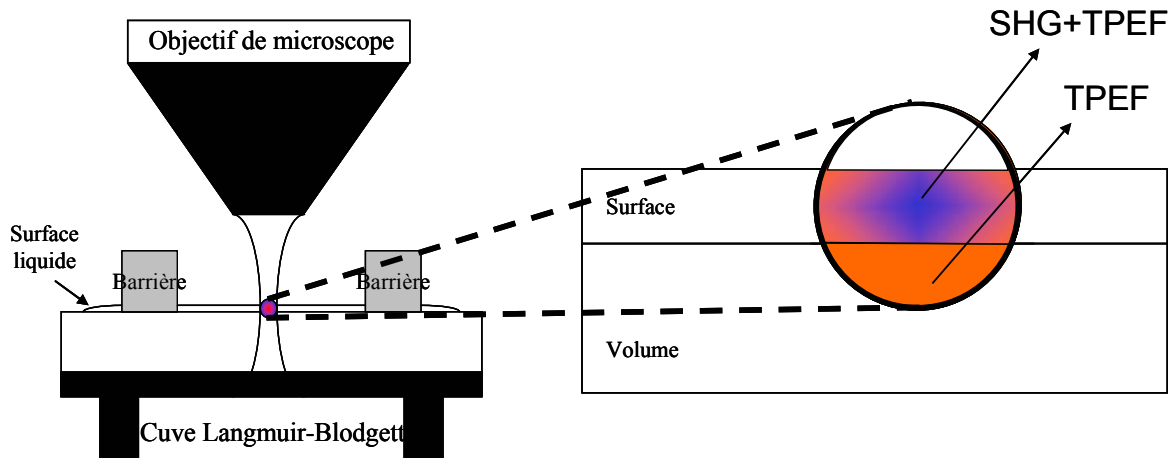


Figure 19 : Schéma de la source des émissions de SHG et TPEF en fonction de la focalisation de l'objectif.

Le processus de SHG permet d'obtenir des informations structurelles de par sa nature cohérente. La génération de second harmonique n'est possible que lors d'une rupture de la centrosymétrie comme c'est le cas pour une interface air-liquide. Dans ce cas c'est la membrane entière qui possède une réponse non linéaire de deuxième ordre exprimée par le tenseur de susceptibilité $\chi^{(2)}$. Dans l'approximation dipolaire, la polarisation non linéaire à la fréquence harmonique induite par la surface est donc de la forme :

$$\vec{P}(\vec{r},2\omega) = \varepsilon_0 \overleftrightarrow{\chi}^{(2)} : \vec{E}(\vec{r},2\omega)\vec{E}(\vec{r},2\omega)\,\delta(Z) \qquad (6.1)$$

Le modèle le plus souvent utilisé pour décrire la génération de deuxième harmonique est celui d'une feuille de polarisation non linéaire comprise entre deux milieux linéaire [2], d'une épaisseur variable tendant vers zéro [30]. Une autre approche légèrement modifiée, plus phénoménologique, peut aussi être utilisée. La feuille de polarisation est plongée dans un milieu linéaire qui représente l'interface [31, 32]. Le modèle permet d'introduire des propriétés optiques linéaires différentes des deux phases volumiques. Les coefficients de

Fresnel permettent alors de tenir compte de la réflexion et de la réfraction aux diverses interfaces. Ce modèle de la feuille de polarisation plongée dans un milieu linéaire est représenté sur la Figure 20 [33]. L'onde fondamentale traverse le milieu linéaire (2) avec les lois classiques de l'optique linéaire. La feuille de polarisation, située en z=0 radie une onde de deuxième harmonique dont le passage vers le milieu linéaire (1) ou vers le milieu linéaire (3) est assuré par les coefficients de Fresnel.

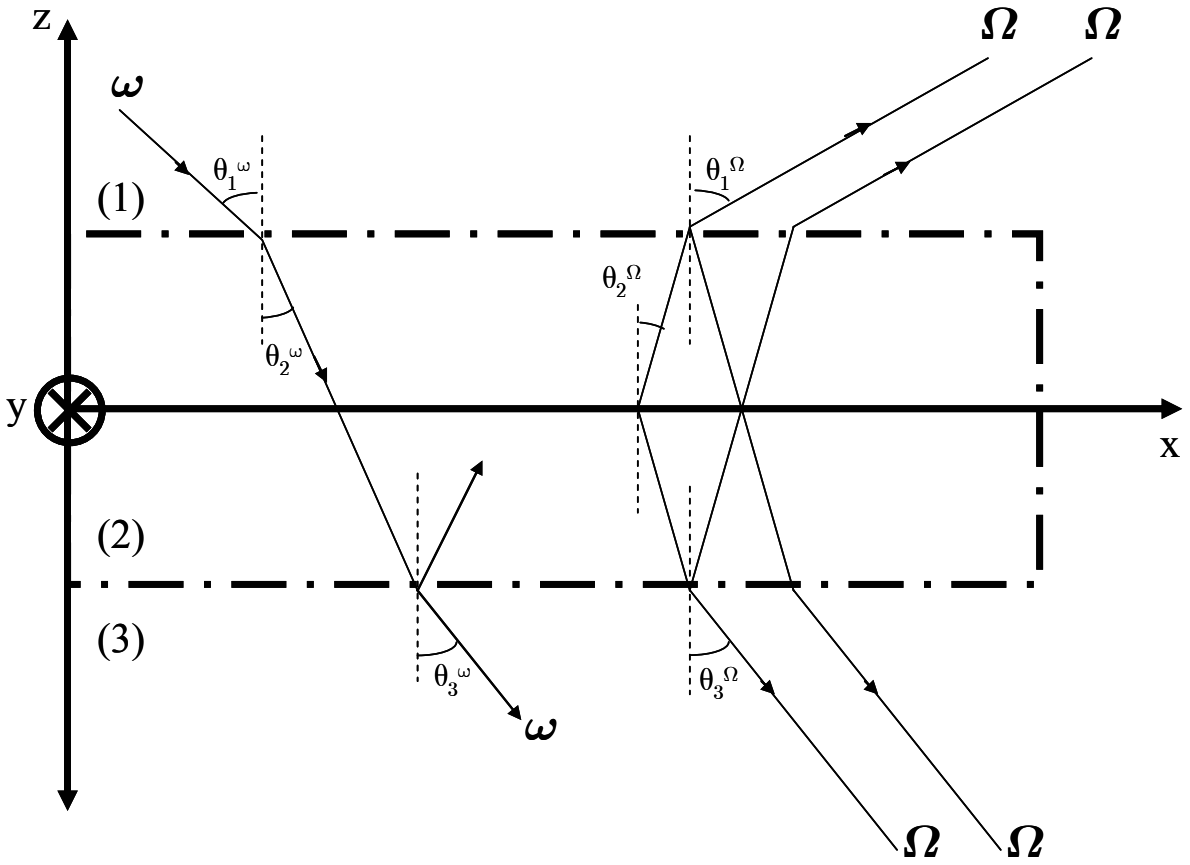


Figure 20 : Génération de second harmonique par une interface située en Z=0, modèle de la feuille de polarisation plongée dans un milieu linéaire.

L'intensité SHG obtenue par ce modèle, avec :

$$I = \frac{1}{2}\sqrt{\frac{\varepsilon_0}{\mu_0}}\,\mathrm{Re}\left(\sqrt{\varepsilon}EE^*\right) \tag{6.2}$$

conduit pour l'intensité harmonique réfléchie à [33]:

$$I_1^{\Omega} = \frac{1}{2}\frac{\omega^2}{\varepsilon_0 c^3}\frac{\mathrm{Re}\left(\sqrt{\varepsilon_1^{\Omega}}\right)}{\mathrm{Re}^2\left(\sqrt{\varepsilon_1^{\omega}}\right)}\frac{1}{\left|\sqrt{\varepsilon_2^{\Omega}}\cos\theta_2^{\Omega}\right|^2}\left|A\right|^2\left(I_1^{\omega}\right)^2 \tag{6.3}$$

avec :

$$\begin{aligned} A &= a_1\chi^{(2)}_{S,XXZ}e^{i\delta}\sin 2\gamma\sin\Gamma \\ &+\left(a_2\chi^{(2)}_{S,XXZ}+a_3\chi^{(2)}_{S,ZXX}+a_4\chi^{(2)}_{S,ZZZ}\right)e^{2i\delta}e^{i\Delta}\cos^2\gamma\cos\Gamma \\ &+a_5\chi^{(2)}_{S,ZXX}e^{i\Delta}\sin^2\gamma\cos\Gamma \end{aligned} \tag{6.4}$$

où a_1, a_2, a_3, a_4 *et* a_5 sont des fonctions de l'angle d'incidence et des indices optiques [34]. γ *et* Γ sont respectivement les angles de polarisation de l'onde incidente et de l'onde harmonique (polarisation v (ou V) pour $\gamma\left(ou\ \Gamma\right)=0$), δ *et* Δ sont respectivement les phases de l'onde incidente et de l'onde harmonique, $\delta\left(ou\ \Delta\right)=0$ pour une polarisation linéaire qui correspond à notre système expérimental. Cette relation lie l'intensité SHG de surface à l'angle d'incidence du faisceau fondamental et à l'angle de la molécule à travers les éléments non nuls du tenseur de susceptibilité de second ordre [33, 34]:

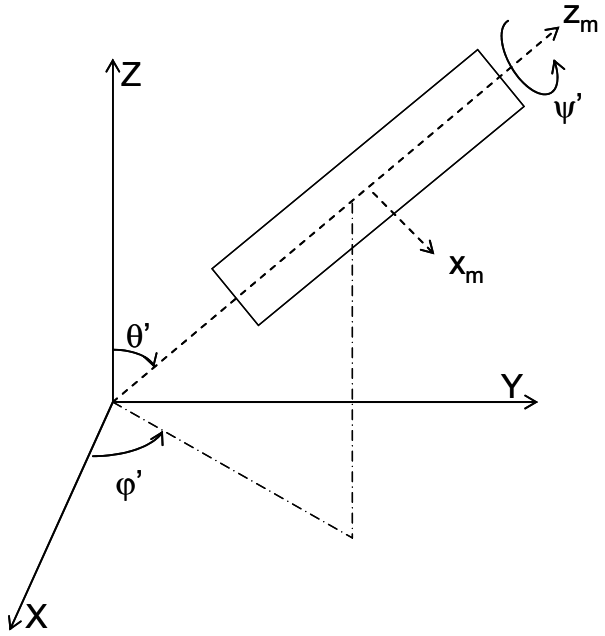


Figure 21: Angles d'Euler pour une molécule à l'interface.

Dans le cas des molécules utilisées, DiA et sDiA, dont la symétrie est C_{2v}, les éléments du tenseur de susceptibilité macroscopique dépendent des trois éléments non nuls du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique de la molécule selon les relations (6.5)-(6.7). En réduisant à un seul élément non nul du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique $\beta_{m,zzz}$ les realtions sont relativement simples :

$$\chi^{(2)}_{S,XXZ} = \frac{1}{2}\frac{N_S}{\varepsilon_0}\left\langle \cos\theta \sin^2\theta \right\rangle \beta_{m,zzz} \tag{6.5}$$

$$\chi^{(2)}_{S,ZXX} = \frac{1}{2}\frac{N_S}{\varepsilon_0}\left\langle \cos\theta \sin^2\theta \right\rangle \beta_{m,zzz} \tag{6.6}$$

$$\chi^{(2)}_{S,ZZZ} = \frac{N_S}{\varepsilon_0}\left\langle \cos^3\theta \right\rangle \beta_{m,zzz} \tag{6.7}$$

N_S est la densité surfacique moléculaire. Nous avons vu en effet au cours des chapitres précédent que l'élément $\beta_{m,zzz}$ dominait pour le DiA et le sDiA.

L'intensité SHG est reportée pour deux cas particuliers de cette expérience, voir Figure 22 et Figure 23. Dans le premier cas, les molécules sont orientées perpendiculairement à la surface, θ=0°, ce qui induit la nullité de deux des trois éléments de la susceptibilité macroscopique. L'intensité SHG est reportée ainsi que l'intégrale de cette intensité en fonction de l'angle d'incidence pour rendre compte de l'effet de l'ouverture numérique de l'objectif de focalisation. Le deuxième cas est obtenu pour des molécules orientées à 45° par rapport à la surface liquide. Dans les deux cas on se place dans la configuration expérimentale où le faisceau incident est polarisé linéairement. Un troisième cas particulier obtenue pour les molécules couchées parallèlement à la surface n'est pas représenté mais correspond à une intensité SHG nulle.

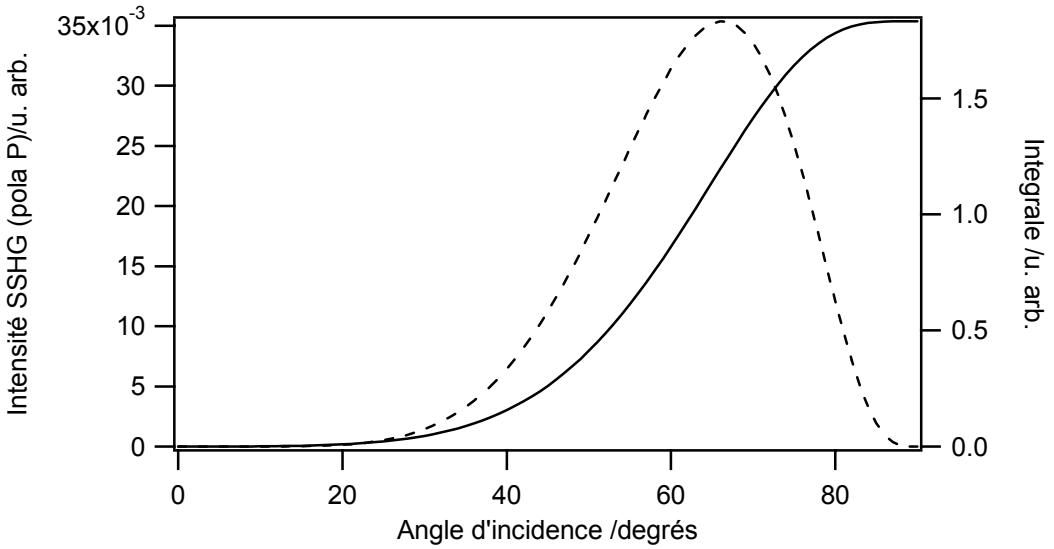


Figure 22: Intensité SSHG théorique d'une surface de molécules perpendiculaires à la surface ayant un seul élément d'hyperpolarisabilité microscopique non nul (trait pointillé) et l'intégrale de cette intensité SSHG (trait plein).

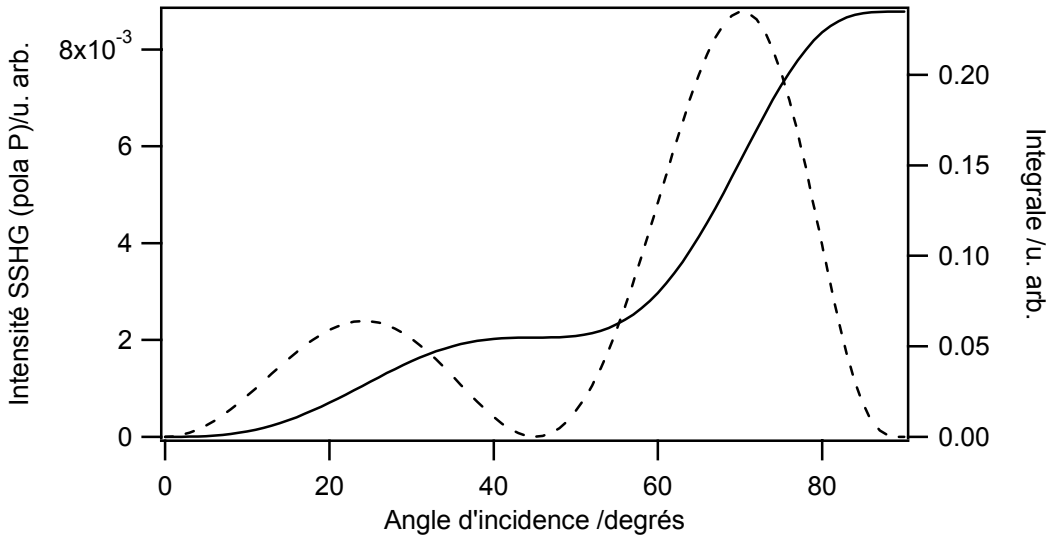


Figure 23: Intensité SSHG théorique d'une surface de molécules orientées à 45°par rapport à la surface et ayant un seul élément d'hyperpolarisabilité microscopique non nul (trait pointillé) et l'intégrale de cette intensité SSHG (trait plein).

Dans tous les cas une incidence purement normale donne une réponse de SHG nulle. Seule la possibilité d'intégrer sur l'angle d'incidence par l'objectif permet une mesure en incidence normale de l'intensité SHG. Notre objectif possède un angle de collection de 18° (N.A.=0.3) seulement et il serait donc possible d'optimiser fortement l'intensité générée en

augmentant cette ouverture numérique. Il est intéressant toutefois de noter l'existance d'un plateau dans le second cas ce qui permet de définir des conditions intéressante en fonction de l'ouverture numérique de l'objectif.

Dans un cas plus général l'hyperpolarisabilité microscopique conserve deux éléments non nuls. Les éléments du tenseur de susceptibilité dépendent alors de deux paramètres, l'angle θ de la molécule par rapport à la normale à la surface et le rapport entre les deux éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité microscopique. Comme le montre la Figure 21 l'angle de rotation autour de l'axe Oz moléculaire est défini si la molécule possède un plan particulier. Aux températures ambiantes utilisées, la valeur prise par cet angle est aléatoire.

6.5.3 Mesures préliminaires sur des molécules sondes : DiA et sDiA.

6.5.3.1 SHG/TPEF sur une monocouche de DiA.

Les mesures préliminaires permettent de tester le montage expérimental pour le couplage SHG/TPEF. Pour cela on utilise la molécule sonde déjà utilisée en milieu liquide : le DiA. Cette molécule étant amphiphile, et présentant donc une chaîne carbonée hydrophobe et une tête polaire hydrophile, elle mime le comportement des lipides membranaires en formant une couche ordonnée à la surface de la cuve de Langmuir, voir Figure 30. Chaque molécule ayant une forte réponse non linéaire contrairement aux lipides membranaires, les premières mesures permettent de faire des mesures de compression et d'observer la dépendance en nombre de molécules au carré pour l'intensité. Dans un premier temps, on dépose 5 nmol de DiA à la surface de la cuve de Langmuir remplie d'eau ultra pure, la surface étant comprimée jusqu'à obtenir une aire de 50 cm² entre les barrières. Cette concentration permet d'obtenir un signal suffisamment fort pour dans un premier temps enregistrer l'intégralité du spectre d'émission entre 380 et 680 nm, voir Figure 24.

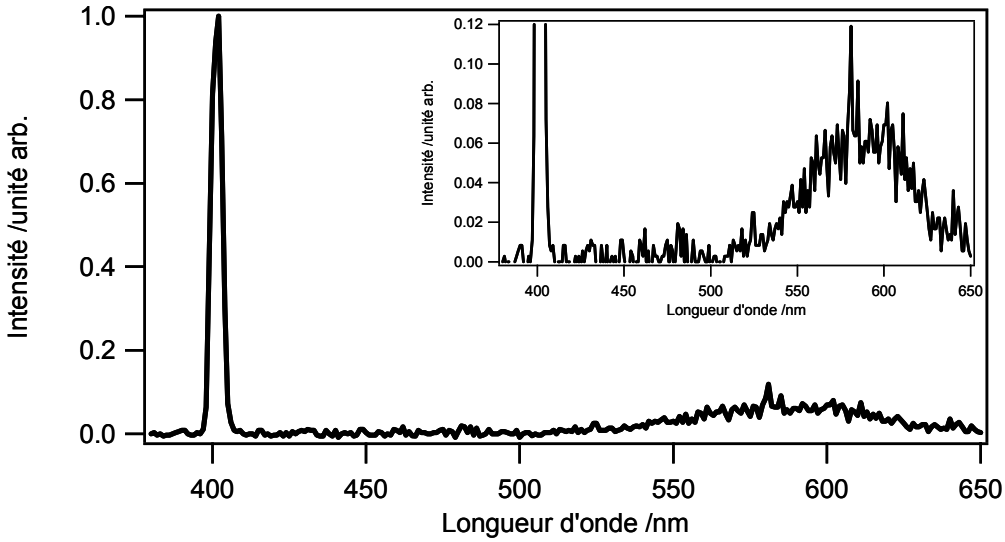


Figure 24 : Spectre d'émission, pour une excitation à 800 nm, d'une surface de DiA de 5 nmol pour une aire de 50 cm² déposée sur l'interface air-eau d'une cuve de Langmuir. L'encart est identique mais avec un changement de l'échelle des ordonnées adapté à l'intensité de TPEF.

Pour une excitation unique avec le laser à 800 nm, la raie SHG est bien enregistrée à 400 nm et la bande large de fluorescence du DiA dans les longueurs d'ondes rouges attendues pour cette molécule. Pour cette concentration déposée à la surface, les intensités de SHG et de TPEF sont enregistrées alternativement pour différentes compressions de la surface. Les barrières de la cuve de Langmuir sont fermées à une vitesse de 10 cm²/min jusqu'à chaque position où ces spectres sont enregistrés. Cette position est maintenue quelques minutes avant d'enregistrer les deux intensités SHG et TPEF avec le monochromateur fixé respectivement à 400 et 590 nm. L'intensité de TPEF est reportée en fonction du nombre de mole de DiA par mm², le dépôt 5 nmol et la surface entre les barrières étant connus, voir Figure 26. L'intensité de SHG est reportée en fonction du carré de cette concentration pour mettre en évidence le comportement linéaire de l'intensité SHG en fonction du nombre de molécules au carré Figure 27. Un isotherme est également enregistré et reporté sur la Figure 25.

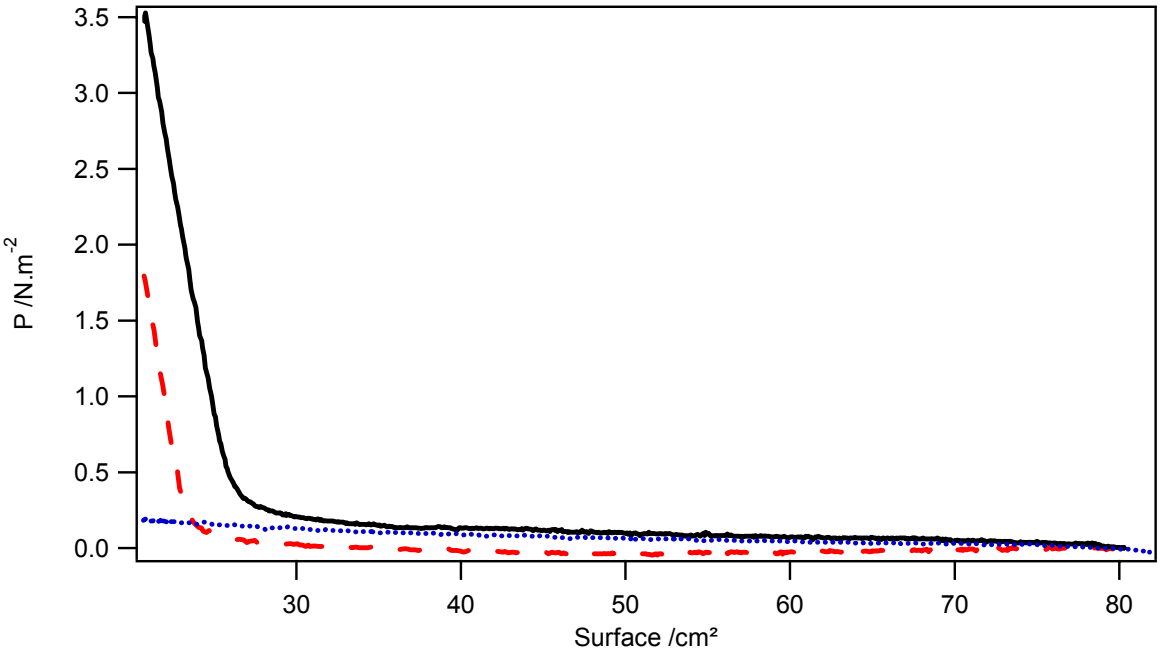


Figure 25 : Isotherme d'une interface air-liquide, avec une cuve de Langmuir rempli d'une solution de sDiA et un dépôt à la surface d'une solution de DiA (trait plein noir), avec une cuve de Langmuir rempli d'une solution de sDiA (points bleu), un dépôt à la surface d'une solution de DiA (trait pointillé rouge).

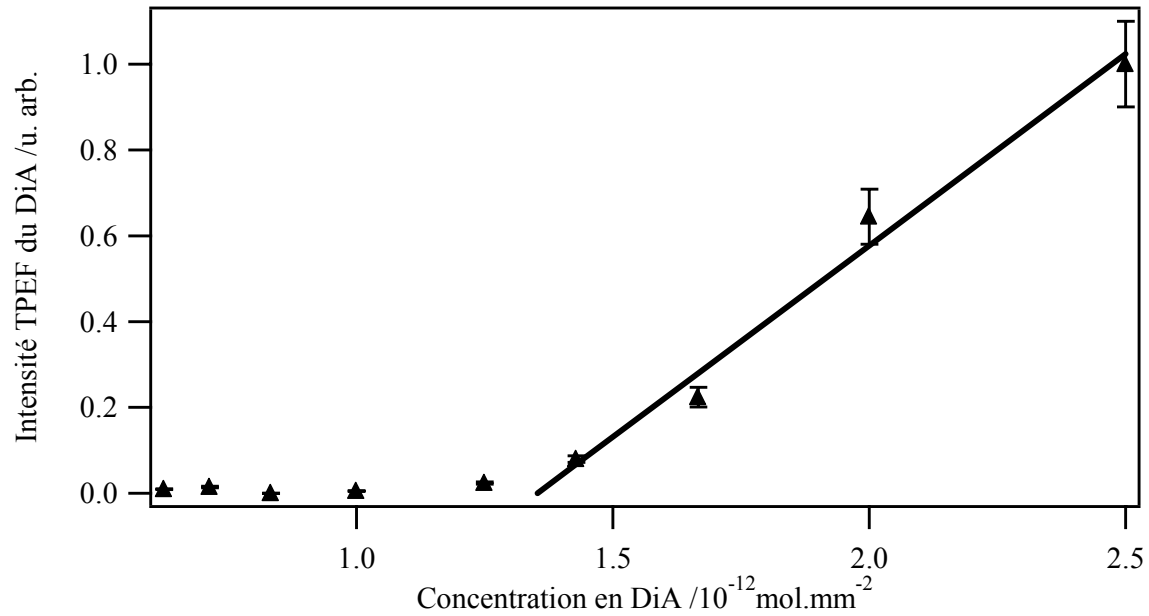


Figure 26: Intensité TPEF à 590 nm d'une surface de DiA en fonction de la concentration.

L'intensité de TPEF obtenue pour le DiA suit un comportement croissant avec la concentration en DiA. Le comportement attendu pour une monocouche de molécules figées en orientation est un accroissement linéaire de la fluorescence à deux photons en fonction de la concentration. La droite attendue doit alors passer par l'origine. Expérimentalement, l'intensité TPEF présente un seuil à 1.3 pmol/mm². En dessous l'intensité est très faible alors qu'en dessus on observe une forte augmentation linéaire avec la densité surfacique. Le résultat est compatible avec une réorientation pour cette concentration critique. Un effet identique est observé pour l'intensité SHG. Cependant, la transition est progressive.

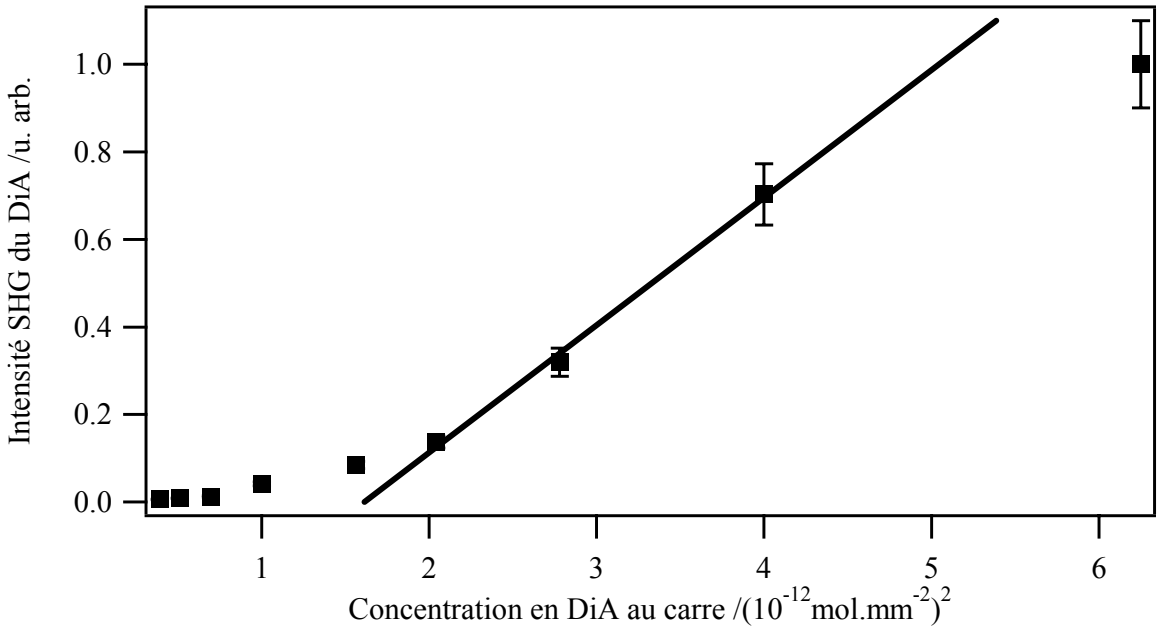


Figure 27: Intensité SHG à 400 nm d'une surface de DiA en fonction de la concentration au carre.

6.5.3.2 SHG/TPEF d'une solution de sDiA.

Pour étudier les effets conjoints d'une molécule en surface et d'une en solution, un équivalent au DiA, le sDiA, est utilisé. Il possède une chaîne hydrophobe plus courte de 5 carbones au lieu de 15 pour le DiA. Cette molécule étant soluble dans l'eau il n'y a pas de dépôt fait à la surface mais la cuve de Langmuir est directement remplie avec une solution de sDiA de $25\times10^{-6}M$. Les intensités à 400 et 590 nm sont enregistrées de la même manière que pour la surface de DiA et reportées en fonction de l'inverse de la surface entre les barrières, voir Figure 28 et Figure 29. Pour une molécule parfaitement soluble dans l'eau la

réponse SHG attendue doit être constante en fonction de la compression en l'absence de toute transition d'orientation en surface, voir Figure 30.

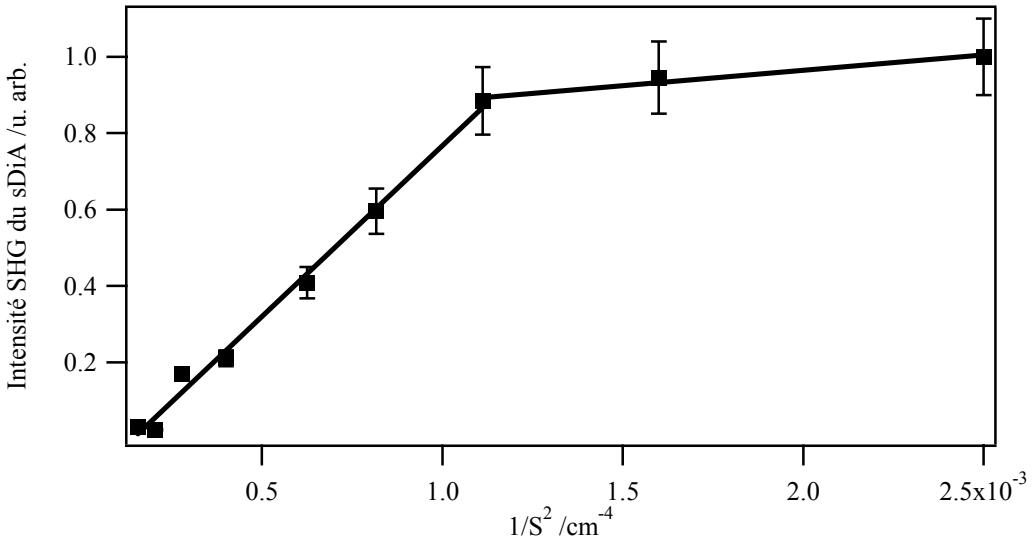


Figure 28 : Intensité SHG à 400 nm d'une interface air-liquide avec une cuve de Langmuir rempli d'une solution de sDiA en fonction de l'inverse de la surface au carré.

L'intensité SHG obtenue sur la Figure 28 n'est pas constante mais linéaire croissante avec l'inverse de la surface au carré. On observe de plus une rupture de pente à 1.2 cm^{-4}. Cette croissance s'explique par la présence du sDiA à la fois en volume et en surface. Les propriétés amphiphiles du sDiA ne sont en effet pas négligeables. La rupture de pente indique un changement d'orientation à la surface du liquide. L'intensité TPEF est la somme de deux contributions : le sDiA en surface et le sDiA en volume. En l'absence de la contribution de surface, la contribution de volume est constante. Les variations sont donc attribuées à la contribution de surface. Compte tenu de la faiblesse du signal de volume, il est même possible de distinguer la réorientation des sDiA en surface par une rupture de pente pour la même valeur que celle obtenue pour l'intensité SHG. L'intensité du signal de fluorescence montre que le signal de TPEF de la surface se trouve sur un fond du au volume, Figure 29. On peut estimer à au plus 20% le signal de volume seulement ce qui met en avant une certaine sensibilité de surface du signal de TPEF.

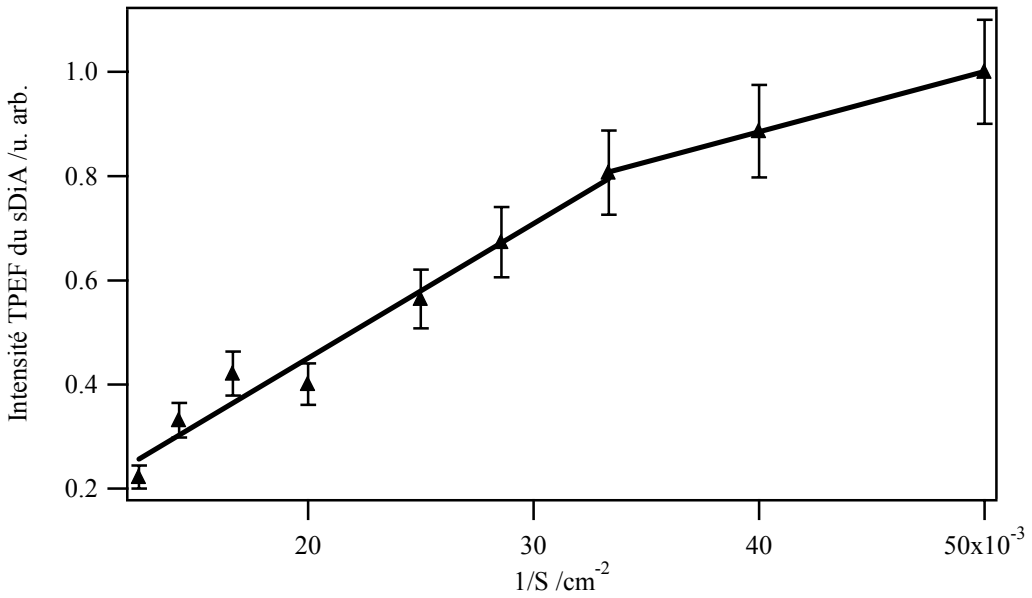


Figure 29: Intensité TPEF à 590 nm d'une interface air-liquide avec une cuve de Langmuir rempli d'une solution de sDiA en fonction de l'inverse de la surface.

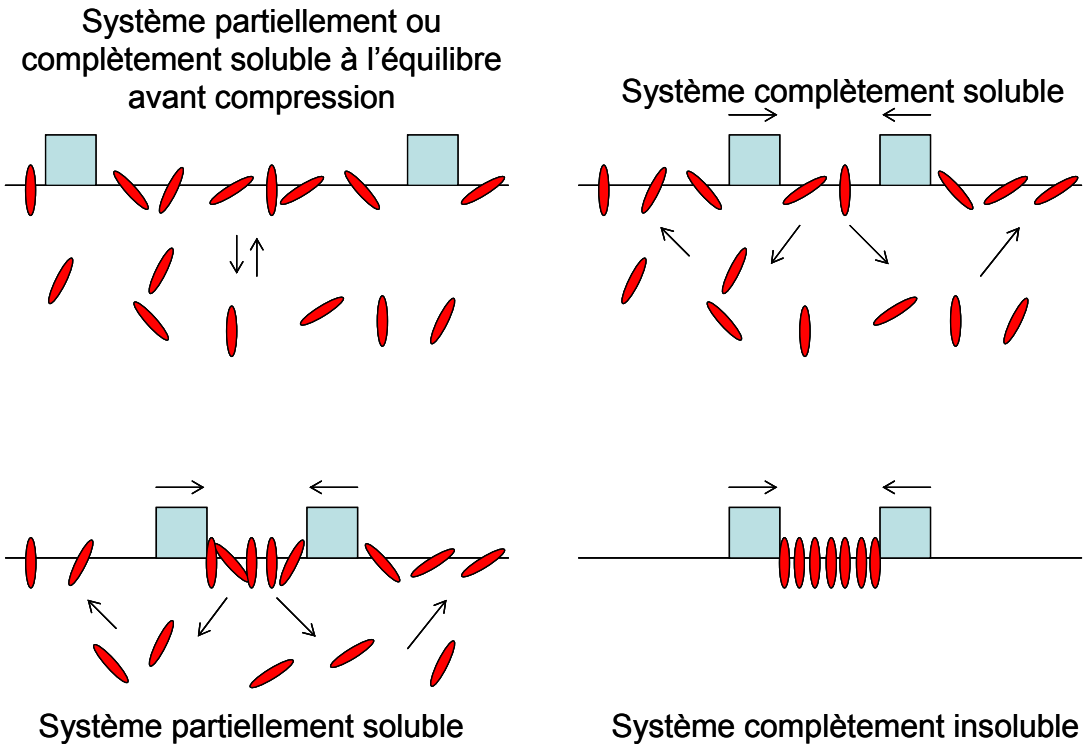


Figure 30: Schéma du comportement des molécule à la compression des barrières de la cuve de Langmuir en fonction de leur solubilité.

6.5.3.3 SHG/TPEF de DiA+sDiA.

Le système composé du mélange de DiA et de sDiA est ensuite étudié pour une densité surfacique de 5nmol de DiA et une densité volumique de 25 µM pour le sDiA. Ce système permet d'étudier la réponse d'une surface complexe formée de composants solubles et insolubles dans la sous phase. L'isotherme enregistré pour ce système mixte est reporté sur la Figure 25. On observe très clairement l'augmentation forte de la pression de surface aux fortes compressions en raison de la présence des deux composés. Cette mesure met bien en relief le caractère amphiphile du sDiA même si celui-ci reste soluble.

L'intensité SHG est une fonction linéaire de l'inverse du carré de la surface et sur cette gamme de concentration, la transition d'orientation est toujours observée. En revanche, cette observation n'est plus confirmée par la mesure de TPEF où l'effet de seuil est aussi absent. La proportion de molécules à la surface étant très supérieur à celle contenue dans le volume de focalisation, très approximativement de $1\mu m^3$, les effets mesurés proviennent essentiellement de la surface qui est plus dense que pour les mesures de DiA seul. La réorientation est donc moins marquée.

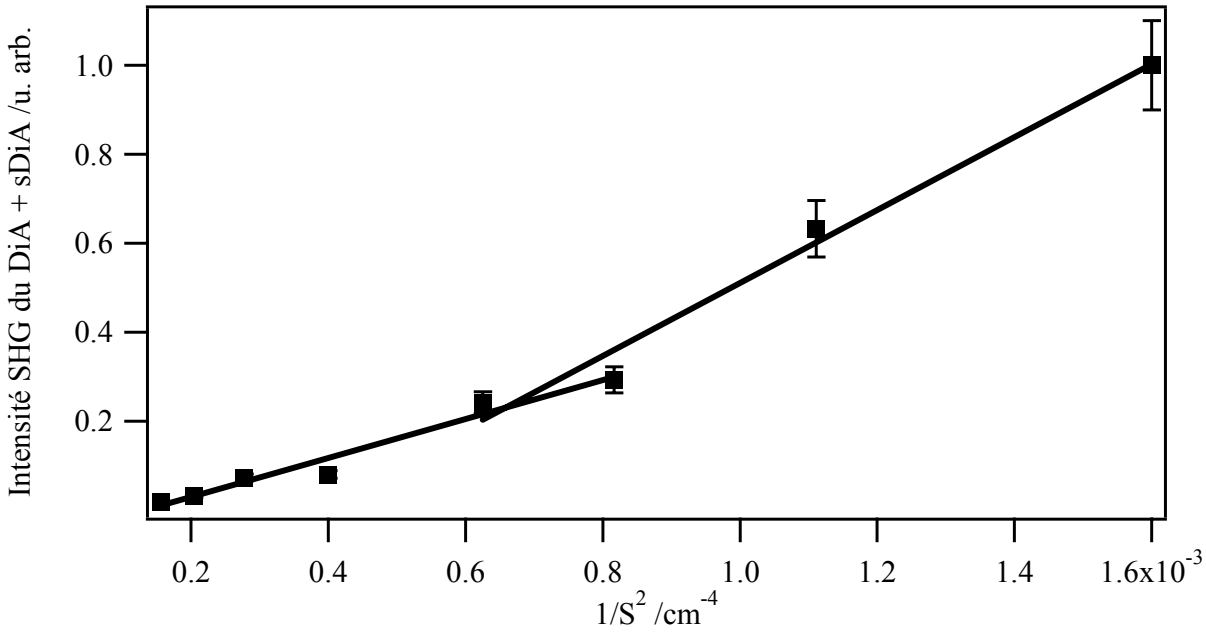


Figure 31 : Intensité SHG à 400 nm d'une interface air-liquide avec une cuve de Langmuir rempli d'une solution de sDiA et un dépôt à la surface d'une solution de DiA en fonction de l'inverse de la surface au carré.

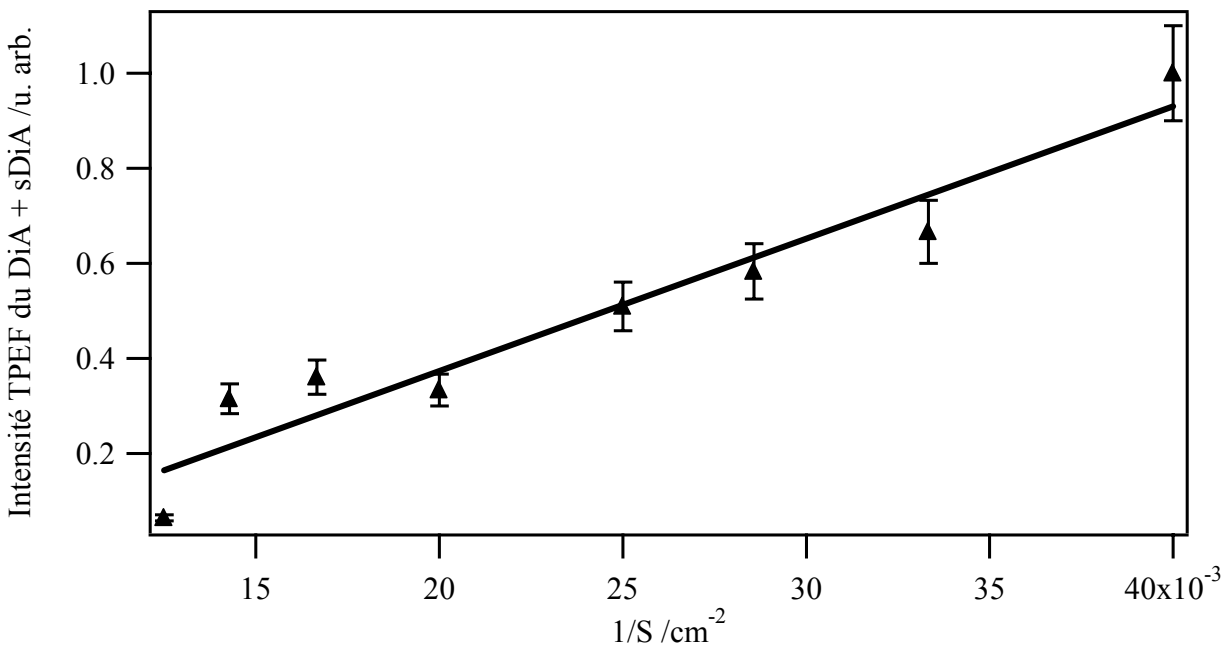


Figure 32: Intensité TPEF à 590 nm d'une interface air-liquide avec une cuve de Langmuir rempli d'une solution de sDiA et un dépôt à la surface d'une solution de DiA en fonction de l'inverse de la surface.

6.6 Conclusions

Ces mesures préliminaires montrent que l'utilisation couplée de SHG et de TPEF permet d'obtenir des informations complémentaires de plusieurs parties d'un même système. Dans le cas des expériences de DiA et sDiA, insolubles et solubles dans l'eau, l'étude montre l'existance de transition d'orientation dans la monocouche à la surface. Cette transition est visible par SHG mais peut l'être par TPEF aussi. La poursuite de ces travaux doit être réalisée sur le système biomimétique par l'extraction des paramètres souhaités comme l'activité enzymatique de la protéine et son ancrage à la surface. La possibilité de sonder simultanément la surface contenant la protéine, et le volume contenant le substrat et le produit de la réaction d'hydrolyse est un atout pour l'étude de ces systèmes complexes hétérogènes. L'utilisation d'une source laser ayant une plus grande gamme spectrale permettrait des mesures plus sensibles mais les observations montrent que le montage expérimental est adapté à ces mesures.

Bibliographie

[1] K. J. Song, D. Heskett, H. L. Dai, A. Liebsch and E. W. Plummer, *Phys. Rev. Lett.*, **61,** (1988) 1380

[2] N. Bloembergen and P. S. Pershan, *Phys. Rev.*, **128,** (1962) 606

[3] N. Bloembergen, R. K. Chang, S. S. Jha and C. H. Lee, *Phys. Rev.*, **174,** (1968) 813

[4] C. K. Chen, T. F. Heinz, D. Ricard and Y. R. Shen, *Phys. Rev. Lett.*, **46,** (1981) 1010

[5] D. Voet and J. G. Voet, *Biochemistry*, John Wiley & sons, inc., New york, 1995

[6] L. Moreaux, O. Sandre, M. Blanchard-Desce and J. Mertz, *Opt. Lett.*, **25,** (2000) 320

[7] P. J. Campagnola, A. C. Millard, M. Terasaki, P. E. Hoppe, C. J. Malone and W. A. Mohler, *Biophys. J.*, **81,** (2002) 493

[8] M. H. Le Du, T. Stigbrand, M. J. Taussig, A. Menez and E. A. Stura, *J. Biol. Chem.*, **276,** (2001) 9158

[9] P. J. Campagnola, M. Wei, A. Lewis and L. M. Loew, *Biophys. J.*, **77,** (1999) 3341

[10] L. Moreaux, O. Sandre and J. Mertz, *J. Opt. Soc. Am. B*, **17,** (2000) 1685

[11] W. Denk, J. H. Strickler and W. W. Webb, *Science*, **248,** (1990) 73

[12] R. Gauderon, P. B. Lukins and C. J. R. Sheppard, *Opt. Lett.*, **23,** (1998) 1209

[13] L. Moreaux, O. Sandre, S. Charpak, M. Blanchard-Desce and J. Mertz, *Biophys. J.*, **80,** (2001) 1568

[14] E. L. Elson and D. Madge, *Biopolymers*, **13,** (1974) 1

[15] E. L. Elson, D. Madge and W. W. Webb, *Biopolymers*, **13,** (1974) 29

[16] H. Qian and E. L. Elson, *Applied Optics*, **30,** (1991) 1185

[17] R. Rigler, U. Mets, J. Widegren and P. Kask, *Eur. Biophys. J.*, **22,** (1993) 169

[18] D. E. Koppler, F. Morgan, A. Cowan and J. H. Carson, *Biophys. J.*, **66,** (1994) 502

[19] D. M. Friedrich, *J. Chem. Educ.*, **59,** (1982) 472

[20] J. Mertz, *J. Opt. Soc. Am. B*, **17,** (2000) 1906

[21] J. Enderlein and M. Böhmer, *Opt. Lett.*, **28,** (2003) 941

[22] N. Thantu, *J. Lumin.*, **111,** (2005) 17

[23] A.-M. Pena, T. Boulesteix, T. Dartigalongue and M.-C. Schanne-Klein, *J. Am. Chem. Soc.*, **127,** (2005) 10314

[24] J. Rinuy, P.-F. Brevet and H. Girault, *Biophys. J.*, **77,** (1999) 3350

[25] X. Shang, A. V. Benderskii and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **107,** (2001) 11578

[26] J. S. Salafsky and K. B. Eisenthal, *Chem. Phys. Lett.*, **319,** (2000) 435

[27] A. V. Benderskii and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. B*, **105,** (2001) 6698

[28] A. V. Benderskii and K. B. Eisenthal, *J. Phys. Chem. A*, **106,** (2002) 7482

[29] C. Xu and W. W. Webb, *J. Opt. Soc. Am. B*, **13,** (1996) 481

[30] T. F. Heinz, *Modern Problems in Condensed Matter Sciences*, **29,** (1991) 353

[31] V. Mizrahi and J. Sipe, *J. Opt. Soc. Am. B*, **5,** (1988) 660

[32] J. Sipe, *J. Opt. Soc. Am. B*, **4,** (1987) 481

[33] P.-F. Brevet, *Surface Second Harmonique Generation*, Presses polytechniques et universitaires romandes, 1997

[34] A. Tamburello luca, *Etude des interfaces liquides par génération de deuxième harmonique*, Ecole polytechnique fédéral de Lausanne, Lausanne, 1997

Chapitre 7 : Conclusions.

L'étude présentée au cours de ce travail sur des assemblages moléculaires de taille nanométrique par diffusion hyper Rayleigh contient plusieurs étapes. Tout d'abord, les mesures effectuées sur le solvant ont permis d'obtenir des valeurs de référence pour les normalisations nécessaires lors de l'extraction des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité des molécules sondes. Cependant, ces valeurs sont peu en accord avec les valeurs données dans la littérature. Ce travail mérite probablement une seconde campagne de mesures, avec en arrière-plan quelques questions posées. En effet, la réponse par diffusion hyper Rayleigh pour des mélanges de liquides associatifs par exemple pourrait être poursuivie pour mettre en évidence des effets d'hétérogénéité par exemple. Nous avons aussi présenté tout l'intérêt des études résolues en polarisation pour étudier les interactions entre des molécules sondes et leur l'environnement. Pour le cristal violet par exemple, des effets d'interactions relativement faibles ont pu être mis en évidence.

Le cœur de ce travail est constitué par le modèle de la réponse harmonique de molécules sondes assemblées conduisant à une composante quadripolaire électrique non négligeable. Cette composante est la seule existante pour le cas d'assemblages centrosymétriques comme les micelles puisque la composante dipolaire électrique est nulle. Dans ce modèle, le poids des composantes dipolaire et quadripolaire a été quantifié par le paramètre η. Ce modèle, appliqué aux systèmes micellaires, permet de mieux comprendre le rôle de l'organisation des molécules sondes dans la solution. Il apparaît par ailleurs que le rôle de la taille des assemblages semble primordial et entre en compétition avec une dilution générale des molécules sondes dans les micelles. Ce modèle est illustré par deux exemples. Dans les deux cas, le cadre général développé semble adéquat mais pour l'un des composés, le MT04, des extensions sont nécessaires. Celles-ci sont esquissées notamment pour prendre en compte de fortes interactions entre molécules sondes.

Le modèle de la diffusion hyper Rayleigh développé au chapitre 4 est très riche. La connaissance exacte de la composante dipolaire permet d'envisager une modélisation numérique du champ harmonique émis dans tout l'espace. Le développement d'un système

expérimental permettant une détection dans des directions privilégiées de l'espace à définir avec le modèle doit être envisagé pour obtenir la mesure des éléments du tenseur d'hyperpolarisabilité d'une même molécule sans utiliser de référence. Par ce biais, la mesure des hyperpolarisabilités absolues des solvants est envisageable.

Concernant les assemblages le modèle doit être développé pour des systèmes plus hétérogènes que la micelle. Une agrégation quelconque peut être modélisée en choisissant les positions des molécules et leurs orientations. Un modèle simple de départ est toujours la sphère couverte de molécules, mais en calculant cette fois la réponse pour des nombres de molécules petits et ainsi obtenir la réponse d'assemblages partiellement ordonnés. L'application de ce genre de modèle pourrait permettre d'affiner la discussion sur les résultats expérimentaux obtenus sur les systèmes micellaires. De nouvelles mesures sur ces systèmes peuvent être fructueuse en choisissant d'étendre la quantité des mesures sur les points critiques. Par exemple, la zone de sursaturation en molécules libres, ou encore la zone de transition entre la croissance et la décroissance de la composante quadripolaire. La sensibilité de la technique HRS permet d'envisager l'obtention de changement fin de structure dans ces zones. Expérimentalement, des systèmes micellaires constitués de deux types de molécules identiques mais dont un type serait amorphe en optique non linéaire permettrait de tester le modèle actuel et ses développements futur par la constitution de micelles de taille fixe permettant ainsi de contrôler les paramètres de la composante quadripolaire.

Tous ces développements sur des systèmes modèles permettent d'envisager à plus long terme d'exploiter l'HRS sur des biomolécules et de l'utiliser pour étudier des systèmes complexes comme les systèmes biologiques, des systèmes complexes à fort potentiel de découverte.

« Vivons heureux en attendant la mort »

Pierre Desproges

RESUME : Le caractère cohérent du processus de doublage de fréquence, processus de conversion de deux photons à la fréquence fondamentale en un photon à la fréquence harmonique, permet de sonder la matière à des échelles sub-longueur d'onde. Pour mettre en évidence cette propriété, la technique de diffusion hyper Rayleigh a été employée pour sonder l'organisation dans des assemblages moléculaires dispersés en solution liquide. Après une étude initiale de quelques solvants usuels purs, l'influence de l'environnement sur la réponse du cristal violet, une sonde moléculaire octupolaire de référence, a été étudiée. Ces études ont été poursuivies pour des sondes moléculaires amphiphiles afin d'étudier des solutions mixtes comprenant à la fois des sondes libres et des sondes engagées dans des assemblages moléculaires appelés micelles. En raison de la centrosymétrie de ces assemblages, la composante dipolaire de la réponse harmonique diffusée s'affaiblit, laissant la réponse harmonique totale dominée par une forte contribution quadripolaire clairement mise en évidence par ces mesures de diffusion hyper Rayleigh résolue en polarisation. Un modèle complet décrivant les différentes composantes de la réponse harmonique totale est introduit pour interpréter globalement les observations sur ces solutions mixtes. Enfin, les études préliminaires d'un système biomimétique reconstitué à l'interface air-eau par doublage de fréquence sont présentées.

TITRE : Hyper Rayleigh scattering of molecular assemblies

RESUME: The coherent character of the frequency doubling process, process of conversion of two photons at the fundamental frequency into one photon at the harmonic frequency, makes it possible to probe matter on sub-wavelength scales. To highlight this property, the technique of hyper Rayleigh scattering was employed to probe the organization in molecular assemblies dispersed in liquid solutions. After an initial study on a selection of solvents, the influence of the environment on the response of the crystal violet, an octupolar probe molecule was studied. These studies were carried on for amphiphilic molecular probes in order to study mixed suspensions of free probes and probes incorporated in molecular assemblies, for instance micelles. Because of the centrosymmetry of these assemblies, the dipolar component of the scattered harmonic intensity vanishes, leaving a harmonic intensity dominated by the quadripolar contribution. These measurements are performed with the technique of polarized resolved hyper Rayleigh scattering. A complete model describing the various components of the total harmonic intensity is introduced to describe the observations. In a final chapter, preliminary studies on reconstituted biomimetic systems at the air-water interface by frequency doubling are presented.

DISCIPLINE : PHYSIQUE

MOTS-CLES : Optique non linéaire, génération de second harmonique, diffusion hyper Rayleigh, hyperpolarisabilité, solvants, symétrie, interactions, assemblages moléculaires, micelles, assemblages centrosymétrique, organisation, polarisation de la lumière, quadripôle, activité enzymatique, protéines, interfaces, liquide-liquide, air-liquide, surface.

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :
Laboratoire de spectrométrie ionique et moléculaire (UMR 5579)
Domaine Scientifique de la Doua - Université Claude Bernard Lyon I
Bâtiment Alfred Kastler, 43, bd du 11 Novembre 1918 69622 VILLEURBANNE