HAL open science

Phénomènes d'étalement et de mouillage à la surface d'un gel et implications pour la migration en masse chez B. subtilis

Mehdi Banaha

▶ To cite this version:

Mehdi Banaha. Phénomènes d'étalement et de mouillage à la surface d'un gel et implications pour la migration en masse chez B. subtilis. Biophysique [physics.bio-ph]. ESPCI ParisTECH, 2009. Français. NNT : 2009PA077243 . tel-00474047

HAL Id: tel-00474047

https://pastel.hal.science/tel-00474047

Submitted on 18 Apr 2010

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.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

THÈSE DE DOCTORAT

UNIVERSITÉ DE PARIS DIDEROT - PARIS VII
Ecole Doctorale 381 : Constituants Élémentaires - systèmes complexes
Spécialité : **Champs Particule Matière**

présentée par
Mehdi BANAHA

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS VII

Phénomènes d'étalement et de mouillage à la surface d'un gel et implications pour la migration en masse chez *B. subtilis*

Soutenue le 23 Juin 2009 devant le jury composé de :

Mme. Elisabeth CHARLAIX	Rapporteur
M. Adrian DAERR	Codirecteur de thèse
M. Barry HOLLAND	Membre invité
M. Laurent LIMAT	Directeur de thèse
Mme. Simone SÉROR	Examinateur
Elie RAPHAEL	Président
Pascal SILBERZAN	Rapporteur

Remerciements

En tout premier lieu mes remerciements vont à ma mère pour son soutien sans failles, de toutes les manières que ce soit, durant toute ma scolarité : depuis mes premiers jours de CP jusqu'à la fin de cette thèse. La soutenance de ce mémoire de thèse marque la fin du chemin sur lequel elle m'a accompagnée bien des années plus tôt.

Lors de mon arrivée dans l'équipe de Laurent Limat, le deménagement du groupe pour rejoindre le laboratoire MSC était prévu (de plus ou moins longue date) mais régulièrement repoussé. Cette situation m'a donc permis de connaitre deux environnements de travail différents au cours de ces 3 années. Ma thèse a débuté au laboratoire Physique Mécanique des Milieux Hétérogènes (PMMH) à l'ESPCI pour ensuite se poursuivre au laboratoire Matière et Systèmes Complexes au sein du groupe Dynamique des Systèmes Hors Equilibre, dans les locaux flambant neuf de la nouvelle université Paris-Diderot. Je tiens à remercier les deux directeurs, José Edwardo Wesfreid et Jean-Marc Di Meglio de m'avoir accueilli dans leur laboratoire respectif.

Je remercie Adrian Daerr qui, à l'issue de mon année de M2, m'a reçu pour discuter et me proposer un travail de thèse en lien avec la communauté interdisciplinaire travaillant sur la question de la migration bactérienne. Tout au long de ces années j'ai pu me rendre compte à quel point ses connaissances en physique sont vastes et doublées de compétences techniques qui en font en expérimentateur hors pair. Je tiens à remercier chaleureusement notre chef de groupe Laurent Limat qui malgré un emploi du temps chargé, trouve toujours du temps à consacrer à chacun. Sa bonne humeur constante, son enthousiasme pour la recherche, son soutien et son implication m'ont été d'une grande aide, en particulièrement dans la période délicate qu'est la rédaction de thèse. Je tiens également à remercier Yves Couder, l'autre « chef de groupe » pour sa gentillesse, le partage de son savoir et son enthousiasme pour les manips. Mes remerciements et non les moindres vont aussi aux thésards et post-doc du groupe qui ont partagés ce bout de chemin avec moi : Julien S., Guillaume, Antonin, Giuseppe, Chi-tuong, Eric, Julien M., Jean-Sébastien et Nolwenn mais aussi à tous ceux que j'ai côtoyé au labo MSC (Benoît, Gérald, Camilla, Damien, Léa et j'en oublie sûrement). Je tiens également à louer la gentillesse et la disponibilité de Alain Ponton et Sylvie Hénon pour m'avoir fait bénéficier de leur matériel pour les mesures mécaniques sur mes gels et de tensions de surface des solutions utilisées (j'en profite également pour renouveler mes excuses à Sylvie pour ma maladresse qui lui a coûté une cuve de mesure pour le tensiomètre à goutte pendante). Ces

remerciements ne seraient pas complets si j'omettais de remercier les thésards du PMMH qui ont débuté cette aventure qu'est la thèse en même temps que moi. Tout d'abord mes collègues de bureau Pierre et Antoine, mais aussi tous les autres thésards avec qui j'ai partagé discussions scientifiques, pauses goûters et autres concours de petits beurres (dont je suis toujours le champion en titre) : Lenaïc, Avin, Gilles, Christophe, Julien, ... Je conserve un très bon souvenir de mon passage au PMMH et ce en particulier grâce à l'atmosphère qui règne dans ce laboratoire, à la fois détendue mais studieuse. Je pense sincèrement que c'est en partie due, à l'accessibilité et au talent des jeunes permanents qui font de « la belle science ». Je remercie pour leur gentillesse, José Bicot (mon challenger numéro 1 au concours de petits beurres), Benoît Roman, Evelyne Kolb et le reste du groupe « granu ». Je tiens également à avoir une pensée ici pour Denis Vallet qui nous a quitté il y a peu et qui m'a toujours accueilli gentiment même quand je débarquais à l'improviste à plusieurs reprises dans la journée pour des problèmes d'usinage mécanique de pièces de manip.

Enfin mes remerciements les plus sincères vont au permanents du laboratoire non-chercheurs pour leur aide et leurs connaissances administratives qui m'ont plus d'une fois ôté une épine du pied. Au PMMH, ne pas rendre hommage à la compétence rare et la gentillesse de Frédérique Auger, l'administreur du laboratoire, serait de l'ingratitude. Merci également à David Renard qui en qualité de technicien m'a éclairé plus d'une fois sur la meilleure façon de faire une pièce ou de concevoir un montage. Au laboratoire, MSC je tiens à remercier Carole Barache, Nadine Beyer et Claudine Héneaux pour m'avoir toujours accueilli gentiment quand je débarquais avec des questions techniques d'ordre administrative ou pour réserver une salle à l'improviste. Enfin je leur adresse un grand merci pour la préparation de mon pot de thèse et la logistique qui s'y rattachait. Pour les « techos » je remercie Pierre Colinard qui m'a conseillé et fait partagé sa connaissance des gels, pour les échanges intéressants sur la vulgarisation et la science en général que nous avons eu et pour m'avoir acceuilli à bras ouvert pour participer à la « Fête de la Sciences ». Un grand merci également à Mathieu Receveur, notre ingénieur mécanique, et à Arnaud Grados, le monsieur électronique du labo. Merci également à "boubou" pour son aide et sa bonne humeur quand je venais la déranger dans ma quête d'eau distillée, de soude et autres produits chimiques.

Mes sincères remerciements vont aux membres de mon jury de thèse. En particulier à Mme Elisabeth Charlaix et Mr Pascal Silberzan pour avoir accepté la tâche de rapporteur de ce manuscrit dans des délais cours.

Je clôture ici cette parenthèse en adressant mes remerciements les plus profonds à tous mes amis et mes proches pour leur soutien durant cette période et en particulier à toi, Christèle, qui a vécu cette expérience au quotidien à mes côtés et m'a écouté en parler pendant de longues heures. Merci de m'avoir soutenu. Cette thèse est un peu la tienne aussi !

Table des matières

1 Introduction au sujet de thèse **13**

1.1 Intérêt du mouillage sur les gels 15

1.2 Le swarming 17

1.2.1 Qu'est-ce que le "swarming" ? 17

1.2.2 Le swarming et *B. subtilis* 18

1.2.3 La surfactine 19

1.2.4 Les différentes phases du processus 23

1.2.5 Les ingrédients pour un swarming réussi de *B. subtilis* sur milieu B 0,7 % 29

1.3 Eléments de théorie sur le mouillage 34

1.3.1 La tension superficielle ou tension de surface 34

1.3.2 Modifier la tension de surface : les tensioactifs 35

1.3.3 Le mouillage statique 37

1.3.4 Le mouillage statique : la relation de Young-Dupré 38

1.3.5 Hystérésis de l'angle de contact 39

1.3.6 Gravité contre capillarité, gouttes contre flaques : la longueur capillaire pour arbitre. 40

1.3.7 La longueur capillaire 41

1.3.8 Les gouttes r $\ll \kappa^{-1}$ 42

1.3.9 Les flaques r $\gg \kappa^{-1}$ 42

1.4 Les hydrogels d'agar 44

1.4.1 Qu'est-ce qu'un gel en physique ? 44

1.4.2 Qu'est-ce que l'agar ? 46

1.4.3 Les propriétés des gels d'agar et de l'agarose 46

1.4.4 Caractérisation du comportement élastique : mesure du module de Young 48

1.4.5 Evaporation des gels d'agar 51

1.4.6 Veillissement des gels 53

1.5 Conclusion 54

2 Dispositif et méthode expérimentale **55**

2.1 Montage expérimental 55

2.2 Préparation des gels 57

2.3 Principe de la méthode de reconstruction 59

2.3.1 Détermination de la pente locale 59

2.3.2 Intégration de la pente locale - reconstruction du profil de hauteur . . . 61
2.4 Les étapes de la reconstruction . . . 63
2.5 Validation de la méthode expérimentale . . . 68
2.5.1 Validation par reconstruction de la courbure d'une lentille . . . 68
2.5.2 Par calcul du volume de goutte déposée . . . 69
2.6 Limites de détection . . . 71
2.6.1 Conclusion . . . 74

3 Etalement de surfactants sur gels d'agar 75
3.1 Etalement de surfactant sur gels d'agar . . . 75
3.1.1 Description du phénomène . . . 75
3.1.2 Caractérisation du front . . . 78
3.2 Propriétés du front de gonflement . . . 87
3.2.1 Structure du front . . . 87
3.2.2 Amplitude du front . . . 89
3.2.3 Vitesse moyenne d'avancement du front . . . 89
3.2.4 Discussion : similitudes avec le "swarming" . . . 90
3.3 Dynamique d'étalement : aire en fonction du temps . . . 94
3.3.1 Méthode de mesure . . . 94
3.3.2 Dynamique d'étalement . . . 95
3.3.3 Influence de la concentration du gel . . . 96
3.3.4 Influence du volume de la goutte déposée . . . 98
3.3.5 Influence de la concentration en surfactant . . . 101
3.3.6 Discussion . . . 103
3.3.7 Formulation d'un modèle d'étalement : une piste de réflexion . 104
3.4 Etalement de surfactine sur d'autres types de gel . . . 110
3.4.1 Etalement de surfactine sur gel d'agar. . . . 110
3.4.2 Une tentative de restitution du front de gonflement : surfactine sur agar + NaCl . . . 111
3.5 La nature du surfactant joue-t-elle un rôle ? . . . 111
3.5.1 Etalement sur milieu B 0,7 % . . . 112
3.5.2 Etalement sur gels d'agar 1 % . . . 113
3.6 Etalement d'huile . . . 117
3.7 Conclusion . . . 119

4 goutte d'eau à la surface d'un gel 121
4.1 Observations expérimentales . . . 121
4.2 Mesure de l'angle de contact . . . 122
4.2.1 Angle d'équilibre . . . 122
4.2.2 Evolution de l'angle de contact au cours du processus . . . 123
4.2.3 Angle de retrait . . . 125
4.2.4 Angle d'avancée . . . 125

4.2.5 Mesure de l'angle d'avancée par la méthode de gonflement d'une goutte 126
4.2.6 Discussion sur les angles d'avancée et de reculée en fonction de la concentration en agar 128
4.3 Hystérésis de mouillage des surfaces déformables 129
4.3.1 Déformation d'une surface par mouillage 130
4.3.2 Modification de l'hystérésis de mouillage par déformation du substrat : le modèle d'Extrand et Kumagai 132
4.3.3 Angles de contact en fonction du module de Young E 134
4.3.4 Echelle de la déformation latérale b selon Extrand et Kumagai 136
4.3.5 Portée latérale de la déformation B : mesures expérimentales . 137
4.3.6 Une nouvelle formulation du problème : la prise en compte de la tension de surface du gel 139
4.4 Devenir d'une goutte d'eau à la surface d'un gel 143
4.4.1 Influence de "l'âge" du gel 143
4.4.2 Influence de la concentration en eau de la goutte déposée . . . 146
4.4.3 Influence de la concentration du gel en agar 147
4.5 Conclusion 149

5 Conclusions Générales 151

1 Introduction au sujet de thèse

Le point de départ de ce sujet de thèse provient d'une question posée par la biologie aux physiciens : quel mécanisme physique explique et règle la migration en masse et la colonisation d'une surface par certaines bactéries ? Dans le cas de *B. subtilis*, celle-ci produit un puissant biosurfactant, capable d'abaisser significativement la tension de surface de l'eau. La communauté croît par vagues successives (phénomène appelé "swarming") s'accompagnant de la sécrétion de surfactine. Cette production de surfactant peut induire un cisaillement en surface du liquide évoquant un mécanisme de type Marangoni. La question est de savoir si les bactéries utilisent cet effet pour se propulser en plus de leur capacité de nage propre. Par ailleurs, les observations des biologistes mettent en évidence des effets de "front" lors du processus de colonisation d'un milieu de culture gélifié à base d'agar. La surfactine semble se propager par vagues successives vers l'extérieur de la communauté en suivant des lois de propagation encore non interprétées.

Le travail de thèse présenté ici s'inscrit dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de Simone Séror, Institut de Génétique et de Microbiologie (IGM), Orsay. Il nous est alors apparu que la complexité des phénomènes superposés mis en jeu était telle que nous avons choisi de les séparer et d'étudier l'étalement du solvant seul, sans bactéries, à la surface du gel. Nos recherches bibliographiques concernant la dynamique d'étalement d'un surfactant sur un gel nous ont montré que cette question n'avait justement reçu que peu d'intérêt. Seules quelques études expérimentales réalisées par des groupes japonais et américains concernent ce sujet : *Szabó et al.* [78] et *Kaneko et al.* [47] se sont intéressés à l'étalement axisymétrique de liquide à basses tensions de surface sur des gels et solutions PAMPS ; *Daniels et al.* [19] mettent en évidence des structures propagatives en arborescences dans le cas du dépôt d'une goutte de surfactants à la surface d'un gel d'agar. Jusqu'ici la situation rencontrée dans le swarming, comme il nous est apparu très vite, la propagation simultanée du solvant et du surfactant sur un gel n'a pas fait l'objet d'études très précises dans la communauté des physiciens.

Dans l'objectif d'étudier ce processus, nous avons construit des expériences permettant le suivi de l'invasion d'un gel analogue à ceux utilisés pour la migration de bactéries en biologie. La première étape de ce travail a été d'établir une méthode expérimentale permettant de suivre l'évolution de la surface libre du gel au cours du temps. Nous avons alors étudié en détail la propagation du front de surfactine qui combine, en fait, propagation du surfactant et gonflement du gel, pour tenter de comprendre les lois qui gouvernent ce phénomène. Au cours de cette étude, nous avons

remarqué que la question même du mouillage d'un gel par son solvant n'a presque pas été explorée. Ceci à motivé le deuxième volet de cette thèse avec des expériences ayant pour but d'observer et de comprendre les propriétés de mouillage de surface des gels par leur solvant, en l'occurrence, dans notre cas, des gels aqueux.

Le manuscrit de cette thèse est organisé de la manière suivante : dans le premier chapitre, je présenterai d'abord un rapide état de l'art sur la biophysique du swarming chez *B. subtilis*, j'introduirai également les notions de physique du mouillage nécessaires à la compréhension du travail réalisé puis je parlerai des gels en général et de leurs propriétés et plus particulièrement des propriétés mécaniques des gels d'agar. Dans le second chapitre, je décrirai notre dispositif expérimental et le principe de la méthode de détection qui sont employés pour l'ensemble des mesures . Dans une troisième partie je présenterai les résultats obtenus pour l'étude de la dynamique de la surfactine sur des gels d'agar. Enfin dans le quatrième et dernier chapitre, je présenterai nos résultats et observations concernant le mouillage de surface des gels d'agar par leur solvant .

1.1 Intérêt du mouillage sur les gels - motivations expérimentales

Les gels appartiennent à la catégorie des matériaux dit "déformables" ou encore "mous", cela signifie que sous l'effet d'une sollicitation extérieure (mécanique, chimique, etc) ils peuvent changer de forme de manière importante. Les gels font désormais partis de notre vie quotidienne, ils sont présents partout autour de nous mais aussi en nous ! Nos tissus biologiques (organes, peau, artères, etc) sont constitués de cellules vivantes dont l'intérieur, le cytoplasme, est un gel. Notre cristallin est formé de compartiments de membranes contenant des solutions concentrées de protéines. L'indice du milieu est alors fixé par la concentration locale de la solution en protéines et varie du bord au centre du cristallin. Nos muqueuses sécrètent des gels que l'on nomme communément mucus (il s'agit de gels contenant des protéines appelées mucines) dont le rôle est de collecter et transporter poussières, restes bactériens, débris alimentaires, etc.
Dans le secteur industriel, les gels se retrouvent dans une grande variété de produits de consommation comme les crèmes cosmétiques, les lentilles de vue, certains produits agro-alimentaires (yaourts, fruits, confitures et même les viandes), les peintures, les émulsions photographiques, les graisses lubrifiantes,... Les propriétés particulières des gels en font également un matériau de choix pour la recherche biomédicale notamment avec la conception de muscles artificiels, de patchs indicateurs du taux de glycémie [48, 88], de gels répondant mécaniquement aux champs magnétiques, etc... Dans une grande partie des exemples cités plus haut, notamment pour les gels d'origine biologique, les phénomènes d'adhésion et de mouillage jouent un rôle déterminant que ce soit pour le bon fonctionnement d'un organisme ou pour contrôler mécaniquement le système, comme dans le cas des lentilles de vue dont la courbure et le gonflement est contrôlé par immersion dans une solution saline.

Le mouillage de surfaces a suscité un grand intérêt expérimental et théorique. Les études publiées portent sur l'étalement de liquide sur supports solides [22,27,40,54,55, 79] et sur couche liquide [23,39,52]. L'ajout de sufactants, ces molécules amphiphiles capables d'abaisser la tension de surface, peut modifier radicalement la dynamique d'étalement : des instabilités de digitation sont observées aussi bien sur support solide [13, 14, 30, 81] que liquide [1, 2, 31, 42, 58, 82, 86]. Il est en revanche frappant de constater le peu d'études traitant du mouillage sur matériaux déformables. Bien que ce cas particulier du mouillage ait inspiré un certain nombre de théoriciens [32,70,76], peu de données expérimentales sont disponibles.

Les gels sont une catégorie de matériaux déformables particulière ; ils sont constitués principalement de solvant et leur comportement mécanique se situe entre solide et liquide. Ils se caractérisent notamment par un domaine élastique très développé. D'un point de vue fondamental, le comportement d'une goutte de solvant, en mouillage partiel, sur un substrat constitué en très grande partie de ce même solvant est une situation tout à fait nouvelle et inexplorée. En effet, il est surprenant de constater qu'une goutte de liquide ne s'étale pas spontanément sur

un substrat constitué à plus de 99 % du même liquide. Cette situation spécifique, à la différence de la plupart des substrats déformables, autorise la goutte à diffuser dans le volume du gel. D'une certaine façon, cette situation de mouillage partiel à volume non constant pour la goutte évoque la situation de gouttes évaporantes [8,26]. Par ailleurs, la matrice d'un gel se présente comme un réseau poreux ; le cas d'une goutte en mouillage partiel à la surface d'un gel peut être donc vu comme une goutte en équilibre sur un poreux humide. L'écoulement de goutte dans un poreux est un sujet qui a suscité un grand intérêt aussi bien théorique qu'expérimental grâce aux applications industrielles concernées comme le procédé d'impression par vaporisation de gouttelettes d'encre [17]. En somme, cette situation inédite du mouillage se situe au carrefour de plusieurs processus physiques et présente un réel challenge pour compléter les connaissances sur le mouillage des surfaces.

L'étalement de surfactants sur surfaces molles semble également ne pas avoir suscité un grand intérêt jusqu' à présent bien que la compréhension de ce phénomène semble prometteur dans le domaine bio-médical. Par exemple dans le but d'optimiser la diffusion tissulaire de médicaments ou encore dans le traitement des pathologies respiratoires par défaut de synthèse endogène de surfactant chez les prématurés [28,62]. L'étalement de surfactant sur des surfaces molles joue également un rôle déterminant en microbiologie et plus précisément dans le cas de la migration en masse (swarming) de bactéries *B. subtilis* pour coloniser la surface du milieu de culture. Ces bactéries possèdent la capacité de synthétiser un puissant biosurfactant, appelé surfactine, capable de réduire significativement la tension de surface de l'eau en modifiant par ce biais les conditions de mouillage. Des travaux récents [43, 44] ont montré que des mutants, privés de leur capacité à synthétiser ce biosurfactant, perdent leur aptitude de migration en masse. Par contre si cette substance leur est ajoutée artificiellement, le swarming est restauré. Il apparaît donc que la surfactine et le mouillage des gels jouent un rôle central dans ce processus. La présence de la surfactine-même soulève des questions quant à la manière dont les bactéries se meuvent collectivement. Sont-elles advectées par le fluide ? La surfactine modifie-t-elle la structure du gel pour faciliter le mouvement des bactéries ? Ou bien existe-t-il un signal chimique (les bactéries possèdent des récepteurs spécifiques de la surfactine) signifiant la mise en marche coordonnée de la migration ? Depuis le début des années 90, la formation de colonies de bactéries et les différentes formes observées ont suscité un intérêt phénoménologique chez *Matsushita et al* [49, 59, 64, 83, 84] et *Ben Jacob et al.* [6, 7]. La description du phénomène s'appuie souvent sur des modèles non-linéaires de diffusion limitée par agrégation (DLA). Ces modèles tentent de décrire le comportement collectif des bactéries en termes de chimiotaxie, de croissance et de mort des bactéries mais ne tiennent aucunement compte des processus physiques à la surface des gels et notamment du mouillage. Ces modèles arrivent avec succès à reproduire certains motifs observés. Plus récemment, *Lega et al.* [53] a proposé un couplage de la DLA avec l'hydrodynamique : la diffusion de nutriment est régie par les équations de réaction-diffusion et la phase eau-bactérie est gouvernée par l'équation de Brinkmann (écoulement dans un poreux). Ce modèle permet également de reproduire une variété de motifs et tient compte des mouvements hydrodynamiques des bactéries

("whirls" et "jets"). L'auteur stipule qu"il introduit dans son modèle une différence de mouillabilité entre le bords de la colonie et la surface du gel en avant de celui-ci, montrant ainsi que le mouillage joue un rôle clef dans la modélisation du swarming

La compréhension du phénomène de swarming chez les bactéries est d'un intérêt fondamental pour les microbiologistes, en outre, elle ouvre un vaste champ d'applications bio-médicales et sanitaires. Comprendre quels sont les paramètres clés du swarming et les contrôler pourrait, par exemple aider à limiter la formation de biofilms et la prolifération bactérienne dans des endroits non-souhaités comme en milieux hospitalier ou encore dans les tours aéro-réfrigérées, ce qui reste encore de nos jours un des grands défis du domaine de la santé publique.

Le premier pas pour répondre à ces questions complexes, mêlant à la fois biologie, hydrodynamique des films minces et physico-chimie, est d'isoler chaque composante pour l'étudier séparément. Dans notre cas, nous allons nous focaliser sur le système physique en éliminant la composante biologique : nous allons nous intéresser au comportement d'une goutte de surfactine seule à la surface d'un gel et plus généralement aux propriétés de mouillage de ces surfaces étonnantes. Nous regarderons aussi le cas d'une goutte de solvant à la surface du gel qui est également peu connu

1.2 Le swarming

1.2.1 Qu'est-ce que le "swarming" ?

"Swarming" signifie littéralement "essaimage". L'essaimage est un terme d'emprunt désignant à l'origine la formation d'une nouvelle ruche par la migration d'une partie des abeilles avec une reine. La colonie nouvellement créée va croître jusqu'à former un nouvel essaim. Par analogie le terme swarming est utilisé pour décrire le mouvement collectif d'individus identiques (poissons, insectes, oiseaux, bactéries,...) impliquant un comportement collectif, coopératif et coordonné. L'analogie est d'autant plus forte que dans le cas du swarming d'une colonie de bactérie réalisée en laboratoire, celui-ci est initié par le dépôt d'un nombre d'individus fixes (l'inoculum) qui se multiplient, migrent et colonisent le milieu de culture. Il existe dans le swarming en général un caractère de comportement social entre individus du même groupe. Les principaux aspects de comportements sociaux sont présents chez les bactéries comme l'existence d'une voie de communication intercellulaire par des acyl homoserine lactones (AHL) et des peptides phéromones ou encore l'existence d'une hétérogénéité phénotypique au sein du groupe et la répartition de tâches à des sous-groupes d'individus de même phénotype. D'autres aspects ont pu être démontrés tels que le cannibalisme, le tricherie, la persistance ou encore l'altruisme à tel point que l'on parle aujourd'hui de sociomicrobiologie.

Ce type de comportement a été observé chez plusieurs bactéries à Gram négatif : chez *Proteus mirabilis* [10, 68], *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* [38, 85], *Pseudomonas aeruginosa* [51], *Myxococcus xanthus* [41, 46, 77]. Le swarming n'a été observé que récemment chez des bactéries à Gram positif comme *B. subtilis* [44, 61].

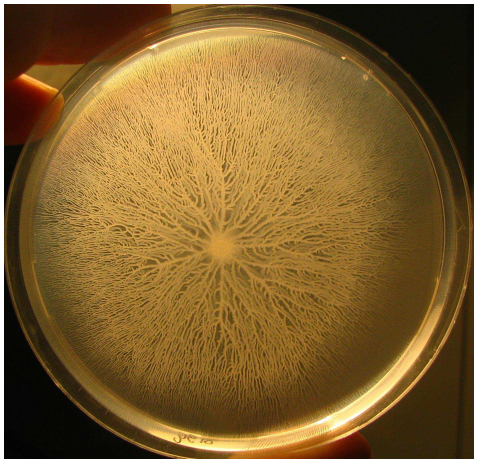


FIG. 1.1: Résultat du swarming de *B. subtilis* sur milieux B. La tache centrale au centre de la boite est l'emplacement de l'inoculum. Les ramifications sont finement branchées

1.2.2 Le swarming et B. subtilis

B. subtilis est une bactérie à Gram positif que l'on trouve partout autour de nous et essentiellement dans le sol. Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais peut contaminer des aliments et exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire. Sa capacité à sporuler (produire des spores) et la facilité qu'elle présente à être manipulée génétiquement en fait un système modèle.

B. subtilis est une bactérie en forme de bâtonnet cylindrique de 5 μm de hauteur sur 1 μm de largeur dotée à une extrémité de longs filaments appelés "flagelles" (cf fig. 1.2). Un flagelle est un organite assurant la mobilité d'une cellule, c'est un prolongement cytoplasmique dont la structure est composée de protéines complexes. Il est composé de trois parties : le corps basal, le crochet et le filament. La morphologie et le nombre de flagelles diffèrent d'un micro-organisme à un autre. *B. subtilis* possède en moyenne 10 à 12 flagelles d'une longueur moyenne de 10 μm et de diamètre constant de 20 nm [66]

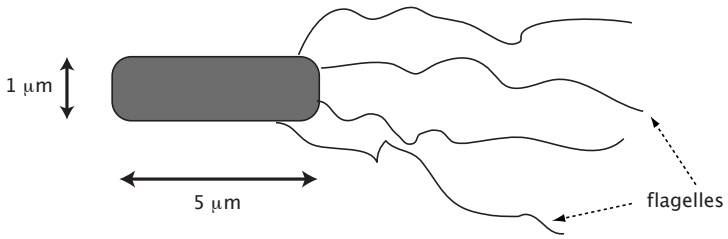


FIG. 1.2: Représentation schématique d'une bactérie, *B. subtilis*

En milieu liquide*B. subtilis* produit une biomasse importante dans le milieu de culture (environ 10 grammes par litre de culture) présentant des intérêts industriels divers, par exemple : les amylases pour la production industrielle de pain, des protéases et cellulases, dans l'industrie des détergents ou encore des antibiotiques, comme la bacitracine, en fait un organisme d'intérêt également pour l'industrie pharmaceutique. Parmi toutes ces protéines, elle secrète également une molécule amphiphile qui possède la particularité d'être un puissant tensioactif capable d'abaisser la tension de surface de l'eau jusqu'à 27 mN.m^{-1}. Ce surfactant appelé "surfactine" est également doté de propriétés anti-bactériennes, anti-virales et fongicides lui permettant ainsi de limiter ou d'éliminer le développement compétitif d'autres bactéries ou champignons.

Le swarming est un processus continu en termes d'expansion et différentes étapes ont été identifiées. D'une manière générale, on note la présence d'un front circulaire à l'avant de la colonie de bactéries des les premières phases du processus jusqu'à ce que les bactéries aient complètement colonisé la surface.

Les communautés bactériennes de *B. subtilis* peuvent présenter différentes morphologies. De nombreuses formes ont été mises en évidence à l'issue ou au cours du processus de swarming (cf fig. 1.3). Seule la composition chimique des milieux de culture varie pour chaque motif de croissance de communauté. En outre, il apparaît que, dans certains cas le temps nécessaire pour observer le motif de swarming complet requiert jusque 6 à 10 jours (sur milieu peptone) contre 24 h dans le cas du milieu B. La nature chimique du milieu de culture apparaît donc comme un facteur influençant le swarming dans sa dynamique et la morphogenèse de la communauté de bactéries.

Les expériences conduites par D. Julkowska, S. Séror et B. Holland montrent que la souche sauvage 3610 de *B. subtilis* produit des structures finement branchées de manière très reproductible sur le milieu B (cf fig. 1.1). En conséquence c'est dans ces conditions que le phénomène a été étudié.

1.2.3 La surfactine

La surfactine est un puissant bio-surfactant synthétisé par *B. subtilis* au cours du swarming. Un anneau de surfactine apparaît à l'avant des dendrites environ 10 à 12 heures après l'inoculation. La structure générale de cette molécule est représentée figure 1.4. En réalité, telle qu'elle est produite par *B. subtilis*, la surfactine n'existe pas sous une forme unique : il existe une famille de molécules qui diffèrent par la taille de leur chaîne carbonée. Il existe ainsi des surfactines dites "C13", "C14", "C15" et "C16" où le numéro indique le nombre d'atomes de carbones constituant la queue hydrophobe. Ces molécules présentent des différences de comportement liées à la longueur de leur chaîne carbonée comme par exemple dans le cas de la diffusion : les surfactines C14 et C15 possèdent un coefficient de diffusion plus élevés que les C13 et C16 [69]

Une analyse réalisée par spectrométrie de masse (TOF-SIMS) a permis d'obtenir une carte détaillée de la répartition de surfactine sur un échantillon de culture bactérienne en phase de migration 16 heures après inoculation [25] (cf fig. 1.5).

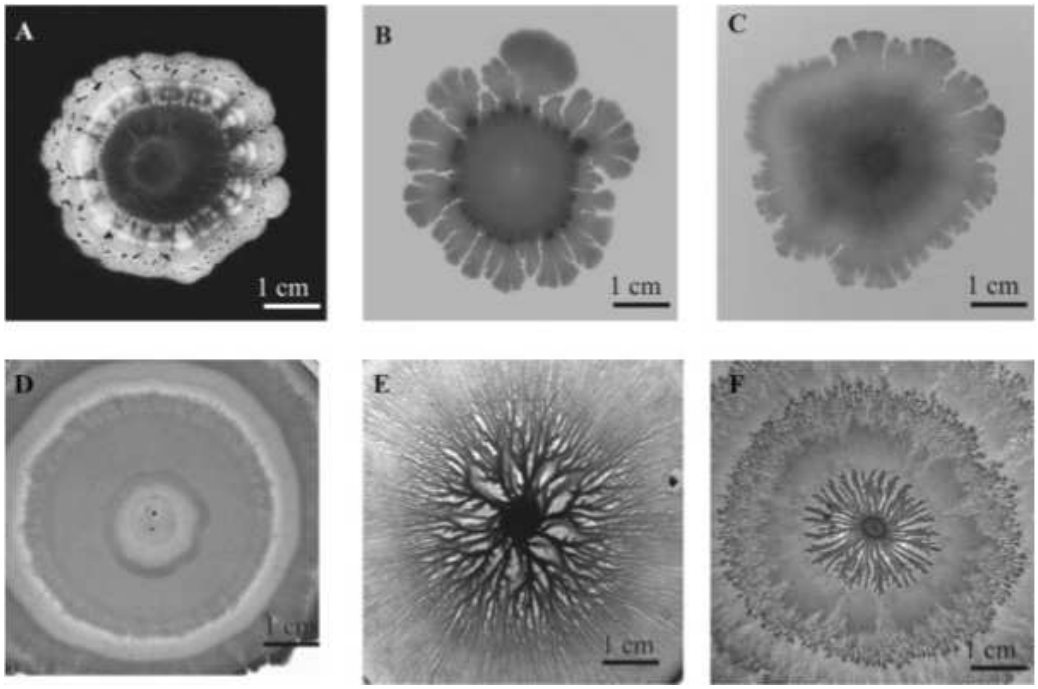


FIG. 1.3: Exemples de morphogénèse (photos extraites de [45] de communauté de bactéries (wild-type *B. subtilis* 3610). A : Columbia medium, 1 % agar, après 10 jours ; B : TY, 1 % agar, 6 jours ; C : Peptone, 2 % agar, 10 jours ; D : LB-medium, 0,7 % agar, 24h ; E et F : B-medium, 0,7 % agar, 24 h. Toutes les boites ont été placées dans un incubateur à 30°C sauf D (37°C).

La méthode ne permet pas d'obtenir de concentration absolue, la légende indique donc une échelle de concentration relative. Ces clichés montrent que la surfactine est essentiellement concentrée dans la colonie mère (c'est à dire la colonie située à l'emplacement de l'inoculum), sur ce front à l'avant de la colonie bactérienne et également sur les bords des dendrites. Par ailleurs la présence de surfactine à l'extérieur du front montre que le surfactant diffuse sur la surface du gel en avant de la zone d'expansion (colonie bactérienne + front). Cette méthode permet également de différencier les types de surfactine : il apparaît que la surfactine C15 est la composante majoritaire de la surfactine détectée dans les dendrites, l'espace interdendritique, le front et l'extérieur du front. En revanche, dans la colonie mère, la surfactine C14 est majoritaire.

Une autre méthode plus ponctuelle fournie un ordre d'idée de la concentration en surfactine à différents endroits. Cette méthode qui consiste en un carottage de la surface du gel, permet d'obtenir une valeur de la concentration de surfactine par dosage de l'échantillon.

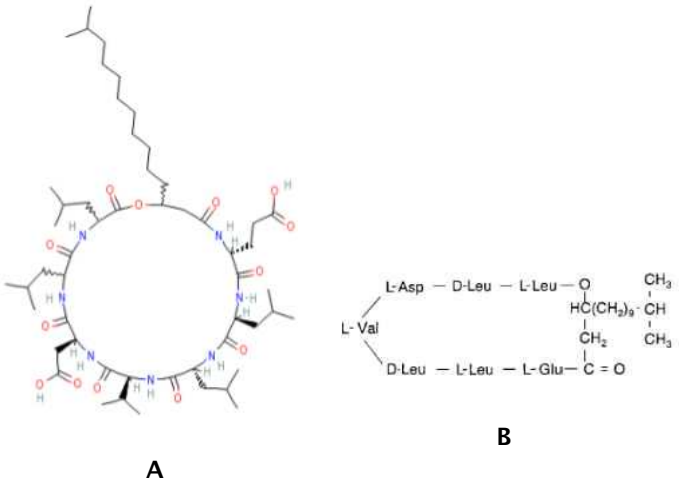


FIG. 1.4: Représentation de la surfactine. A : structure chimique d'une molécule de surfactine. On distingue la tête polaire hydrophile et la chaîne aliphatique hydrophobe. B : représentation semi-développée de la surfactine

Le résultat (cf figure 1.6) montre que la concentration en surfactine diminue lorsque l'on s'éloigne de la colonie mère et qu'elle est plus élevée dans une dendrite qu'à l'extérieur de celle-ci.

Nous avons mesuré à l'aide d'un tensiomètre à goutte pendante la tension de surface de solutions de surfactine que nous allons utiliser dans nos mesures, à différentes concentrations. Les résultats sont présentés dans le tableau 1.

TAB. 1.1: Tension de surface de différentes solutions de surfactine mesurée avec la méthode de la goutte pendante.

[surfactine] en g/L	γ en mN/m
0,001	55
0,01	49
0,1	45
1	38

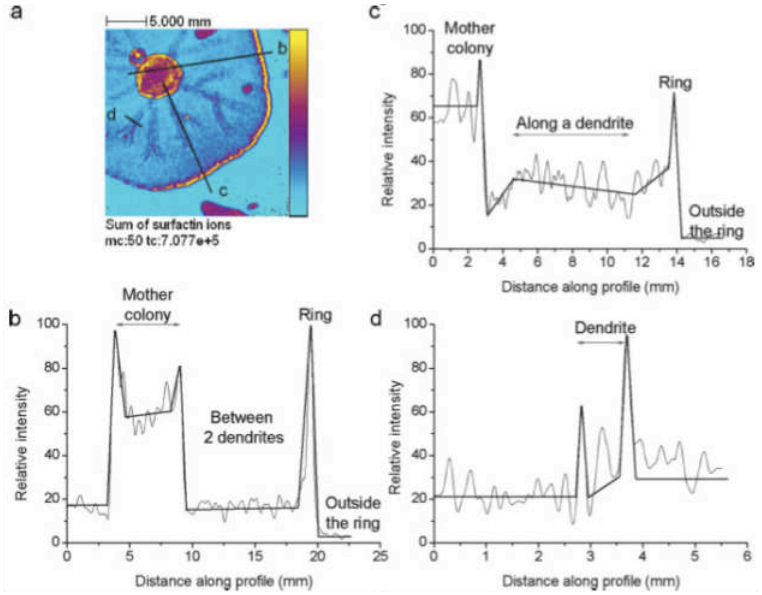


FIG. 1.5: (a) : Cliché TOF-SIMS (spectrométrie de masse d'ions secondaires à temps de vol) basse résolution de la répartition de surfactine dans une communauté de *B. subtilis* durant le swarming tiré de [25]. La concentration relative est codée par une échelle de couleurs : de la plus élevée (jaune) à la plus basse (bleu clair). Des profils de concentration relative en surfactine sont établis à la surface de la communauté. (b) : profil de concentration à travers la colonie mère jusqu'à l'anneau en passant entre deux dendrites. (c) : Profil de concentration à travers la colonie mère et une dendrite jusqu'à l'anneau. (d) : Profil de concentration d'une coupe transversale d'une dendrite.

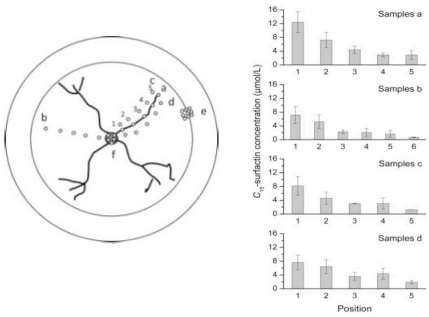


FIG. 1.6: Mesure de la concentration en surfactine par carottage de la surface du gel et dosage de l'échantillon. Chaque lettre (a,b,c,d) correspond à une succession de 5 prélèvements successifs de la colonie mère vers le front. La figure de droite présente le résultat de ces cinq mesures pour chaque lettre. Cette figure est issue de l'article *D.Debois et al.* [25]

1.2.4 Les différentes phases du processus

Le processus du swarming chez *B. subtilis* a été étudié en détail au cours de la thèse de D. Julkowska [43]. Comme dans tout processus de swarming chez les micro-organismes, un certain nombre d'étapes sont nécessaire pour l'accomplissement de celui-ci. Dans le cas de *B. subtilis*, 4 phases caractérisant le développement du swarming ont été identifiées : l'initiation, la phase "swarm 1", la transition entre "swarm 1" et "swarm 2" et la phase "swarm 2".

L'étape préliminaire au processus est l'inoculation, c'est à dire l'introduction des bactéries sur leur milieu de culture. Cette inoculation se fait par dépôt d'une goutte, typiquement, de 2 μL d'une solution de culture bactérienne. Cette solution homogène permet d'estimer à approximativement 10^4 le nombre d'individus présents dans le volume de la goutte déposée. Cette goutte est ensuite déposée au centre de la boite de Petri. Elle s'étale et forme un spot d'environ 4 mm de diamètre appelé inoculum. La boite est ensuite couverte et placée dans un incubateur à 30°C et 70 % d'humidité relative. L'inoculation est considéré comme l'instant t = 0 du processus.

L'initiation

Après l'inoculation, *B. subtilis* s'organise en microcolonies de plusieurs centaines d'individus. A t = 11 heures, les microcolonies restent séparées et une grande partie de l'espace reste inoccupé dans la région de l'inoculum. Puis des groupements d'individus commencent à se mouvoir des microcolonies vers le bord du spot de l'inoculum et s'y regroupent (cf fig. 1.7.A). Les bactéries en mouvement sont très actives, leur mouvement semble désordonné et aucune organisation entre les individus n'est observée. Le front de concentration de surfactine est à présent clairement visible et situé à 1-2 millimètres en avant du bord de l'inoculum. Après un certain temps, les bactéries regroupées sur la bordure forment un bourgeon. Entre t = 11 h et t = 13 h, ce bourgeon émerge, s'allonge et se propage en forme de dendrite (cf fig. 1.7.B).La dendrite reste connectée à la colonie mère.

Phase "Swarm 1"

Le développement et l'extension de nouvelles dendrites se produit entre 13 h et 19 h après inoculation. Les bords des dendrites initiales sont irrégulières. Une certaine organisation apparaît à la tête des dendrites où la densité d'individus est plus élevée qu'à l'intérieur (cf fig1.8.C). Il est important de noter que les cellules de cette région sont extrêmement mobiles. Durant l'élongation des dendrites l'extrémité devient la région conductrice de l'expansion. Occasionnellement, par exemple après diminution de l'humidité relative de l'environnement, la migration s'arrête et des "boursouflures" peuvent apparaître aux extrémités dendritiques traduisant une surperposition de couches bactériennes à cet endroit (fig. 1.8.D). Mais cette superposition ne semble pas un élément essentiel à l'élongation des dendrites puisqu'elle n'est pas observée systématiquement. Il arrive que l'extrémité conductrice de la dendrite

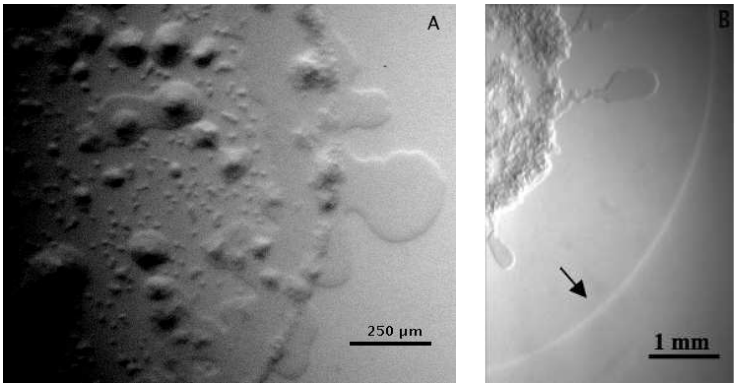


FIG. 1.7: Clichés par D. Julkowska [43]. A : centre de la colonie mère 11 h après inoculation, les bactéries sont réparties de manière hétérogène et regroupées en microcolonies. Des bourgeons émergents apparaissent sur le bord de l'inoculum. B : colonie mère avec des dendrites émergentes en propagation et connectées à la colonie mère. Le front de surfactant est visible et situé en avant des dendrites (indiqué par la flèche)

se sépare en 2 donnant ainsi naissance à une ramification fille connectée à la dendrite mère (cf.fig. 1.8.A).

Transition de phase entre "swarm 1" et "swarm 2" chez la souche sauvage 3610

A la fin de la phase de swarm 1, les bactéries se multiplient pour consolider les zones nouvellement acquises par le biais de la croissance dendritique. A l'intérieur des dendrites, de nouvelles couches de bactéries se superposent aux précédentes créant ainsi des structures multicouches (cf fig. 1.9.B et C) Cette multiplication de bactéries renforce la position de la colonie dans ces zones. Une dendrite ainsi consolidée est appelée une dendrite "mature" (cf fig. 1.9.B et C). A l'extremité des dendrites issues du "swarm 1", les bactéries sont de plus en plus dispersées (fig. 1.9.F). A t = 20 h, les extrémités de dendrites en mouvement sont devenues suffisamment larges au point de fusionner entre elles en formant une zone uniforme où les bactéries sont en faible concentration (fig. 1.9A, D-F). Brusquement, les bactéries à l'extremité des dendrites se réorganisent et donnent naissance à de nouvelles pointes qui marquent le début de la phase de "swarm 2" (fig. 1.9.E).

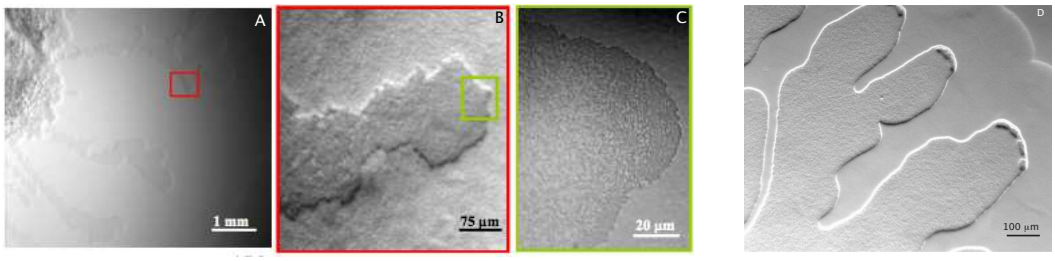


FIG. 1.8: Cliché par D. Julkowska [43]. A : dendrites issues de la colonie mère à t = 15 h. les dendrites sont irrégulières peuvent se séparer pour donner naissance à deux dendrites filles connectées. B et C : bord d'une dendrite, l'irrégularité se retrouve aussi a des échelles plus petites. La concentration en bactérie est plus importante au bord de la dendrite qu'en son intérieure. D : t = 18 h des boursouflures peuvent apparaître à l'extrémité des dendrites. Il s'agit d'un empilement de couches bactériennes

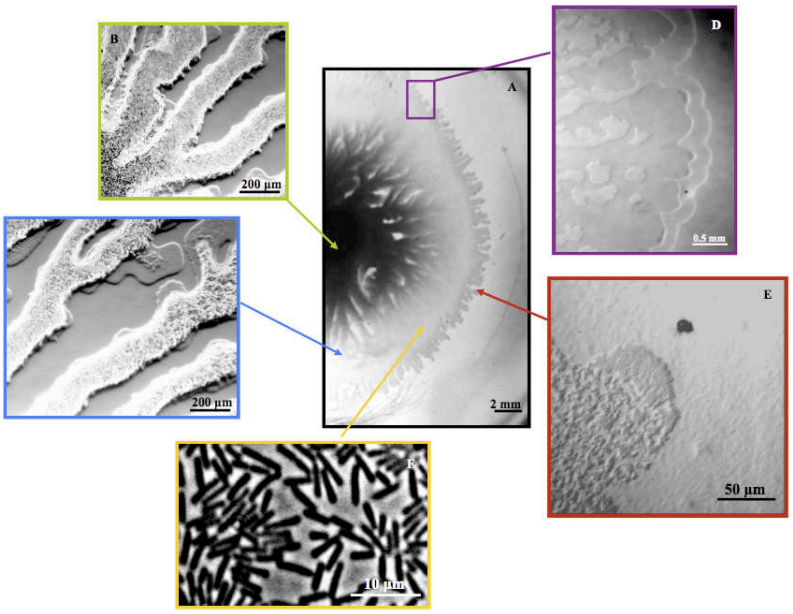


FIG. 1.9: Clichés par D. Julkowska [43]. A, photographie d'un motif de swarming en lumière réfléchie –la zone d'agrégation, où les dendrites de la phase swarm 2 commencent à se former, est clairement visible ; B et C, dendrites matures, une organisation en structure multicouche est visible ; D, coalescence transitoire des dendrites ; E, dendrite naissante émergente de la zone d'agrégation ; F, bactéries dispersées dans la zone où les dendrites ont fusionnées.

Phase "swarm 2" chez la souche sauvage 3610

Entre t = 18 h et t = 21 h, l'extrémité de la seconde vague de swarming apparaît soudainement (fig. 1.10) environ 1 cm en avant de la 1ere vague. L'observation en contraste de phase indique la présence d'un film fin de bactéries dispersées. Cette couronne entourant la première vague de swarming devient de plus en plus visible, en particulier après t = 21 h -22 h où les groupements éparses de bactéries s'assemblent et coalescent pour former de nouvelles dendrites. Ce mouvement se propage de manière rétrograde en partant du bord de la dendrite vers le centre de la colonie. La fin du processus de swarming coïncide avec l'apparition de structures en forme de choux-fleur à l'extremité des dendrites (fig. 1.11 B,C). Ces structures peuvent également apparaître à la fin du la phase "swarm 1" lorsque le processus est bloqué par un changement dans l'environnement expérimental (par variation de la température d'incubation ou encore du taux d'humidité). Dans les derniers instants de la phase "swarm 2" (toujours après t = 22 h) beaucoup de "radeaux" (fig. 1.11. E, F, G) sont présents autour de la pointe de la dendrite, formant une monocouche jouant un rôle de palissade. Ces paquets de bactéries sont inertes alors que celles de la région interne (essentiellement des bactéries seules et quelques radeaux) de la dendrite montrent une activité.

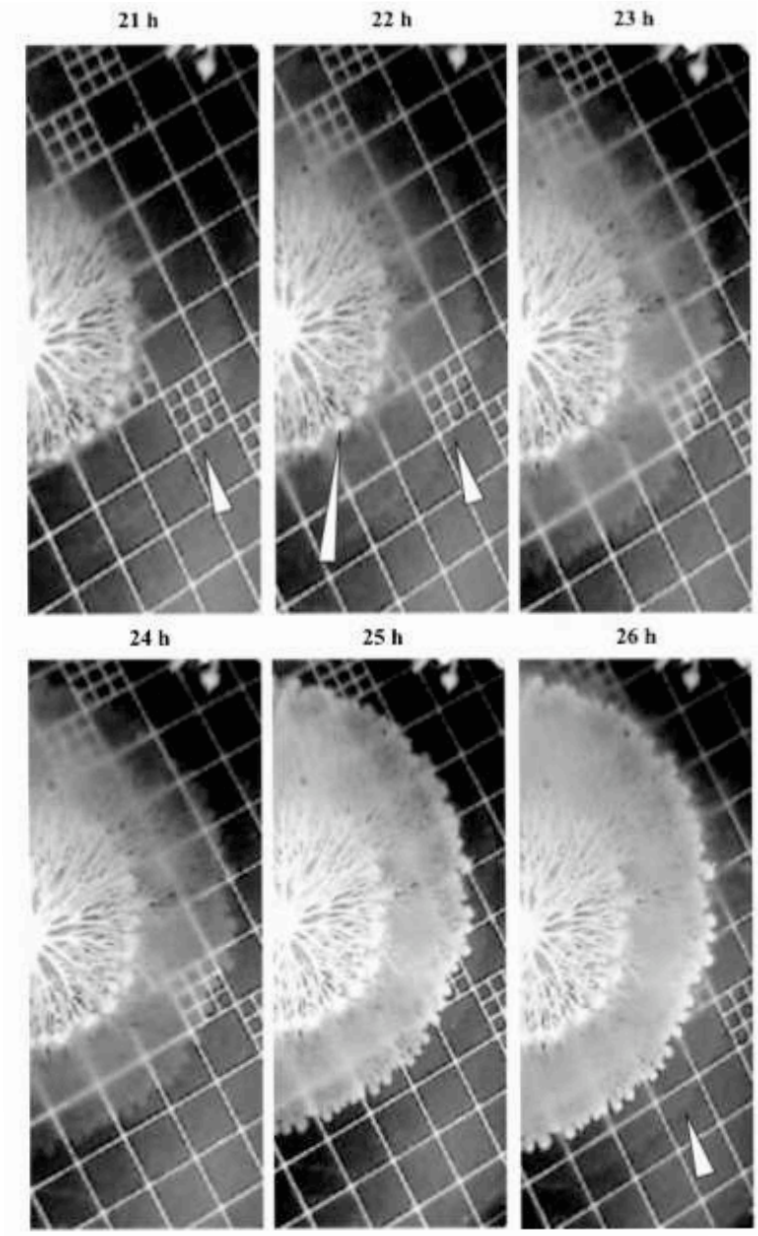


FIG. 1.10: Clichés par D. Julkowka [43] en contraste de phase. Apparition et maturation de la seconde vague de swarming. L'extremité de la seconde vague apparaît 1 cm devant l'extrémité de la première vague(indiquéeée par une flèche blanche sur la première image). La vague se consolide au cours du temps, puis à t = 26 h on peut apercevoir l'extrémité d'une troisième vague de la même manière que la seconde est apparue.

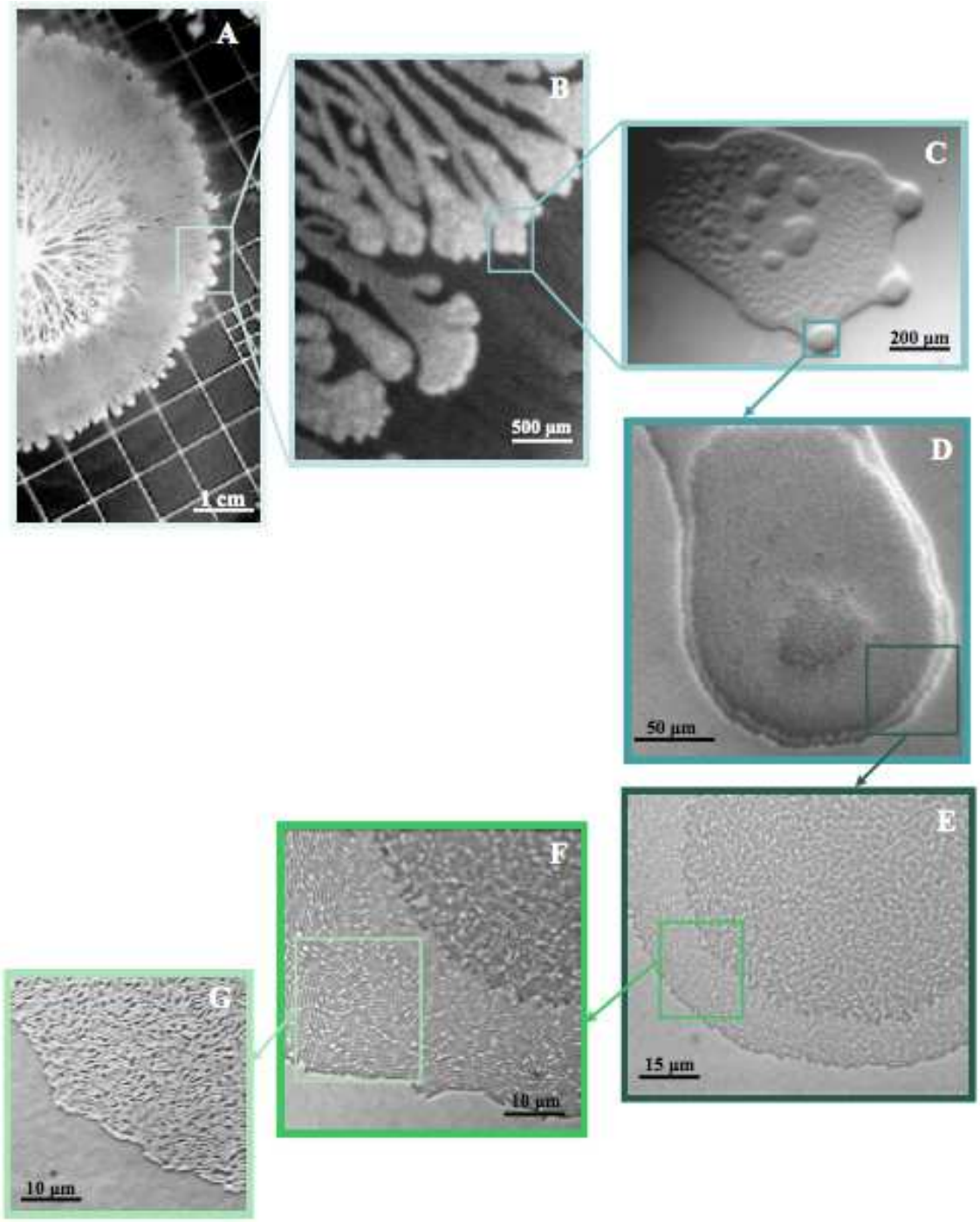


FIG. 1.11: Clichés par D. Julkowska. A,B : structure en chou-fleur au bout d'une dendrite arrêtée en fin de swarm2. E,F,G : monocouche de bactéries immobies à l'extrémité de la dendrite où elles sont appariées par groupe de 4-5 individus de même orientation formant ainsi une sorte de palissade

1.2.5 Les ingrédients pour un swarming réussi de B. subtilis sur milieu B 0,7 %

A travers diverses expériences, un certain de nombre de paramètres ont été identifiés comme ayant un rôle important dans le bon déroulement du processus de swarming. La variation de ces paramètres peut avoir des conséquences plus ou moins limitant voir inhibant dans le déroulement du swarming.

Les flagelles

Les flagelles permettent aux bactéries différents modes de locomotion, dont la nage ("swimming"). Une expérience récente (fig 1.12) a montré la nécessité des flagelles dans le phénomène de swarming. Dans ce cas la souche 168[1] a été privée de sa capacité à synthétiser les flagelles (absence de la protéine nécessaire à sa construction : mutant 168 hag^-) et son comportement est comparé à celui de la souche parentale (168 hag^+). Après 24 h le temps nécessaire pour achever le processus de swarming est largement écoulé : le souche parentale possédant la capacité de produire des flagelles a pu migrer, alors que le mutant hag^-, privé de la production de cet appendice, n'en a pas été capable. Dans ce cas, on constate que les bactéries n'ont pas quitté l'inoculum, la souche mutante n'a pas été en mesure de migrer.

Une expérience menée conjointement dans le laboratoire de S. Séror (IGM, Orsay) [35] permet de visualiser la production de flagelles par les bactéries dans différents zones d'une dendrite. Une technique de marquage génétique par fluorescence est utilisée. Le principe de cette méthode repose sur l'utilisation de la GFP (Green Fluorescent Protein) qui fonctionne comme un marqueur visuel de la production d'une protéine spécifique. Il s'agira ici de la flagelline, une protéine essentielle à la fabrication de flagelles et dont la synthèse est possible uniquement par les bactéries possédant la séquence génétique adéquate. Ainsi l'intensité de fluorescence détectée est directement proportionnelle à la quantité de flagelline synthetisée (voir fig. 1.13). Les clichés montrent qu'une grande proportion de bactéries situées à la pointe de la dendrite sont hyper-flagellées.

Le flagelle apparaît donc comme un élément indispensable au bon déroulement du swarming. La présence de bactéries flagellées dans les zones en mouvement semble indiquer qu'elles jouent un rôle dans le processus d'extension des dendrites.

La concentration du gel

En dehors de la composition chimique du milieu de culture, les propriétés physiques du gel exercent une influence sur le swarming. La teneur en agar doit être assez élevée pour que le réseau polymérique du gel soit suffisamment dense pour empêcher les bactéries de pouvoir passer à travers. Si la taille des pores du gel devient du même ordre de grandeur que la taille des bactéries alors celles-ci se retrouvent dispersées

[1] La souche 168 est la souche de laboratoire issue de la souche sauvage trouvée dans le sol (appelée 3610). Elle a subi un certain nombre de mutations, au cours de temps, à la suite de répliquages successifs.

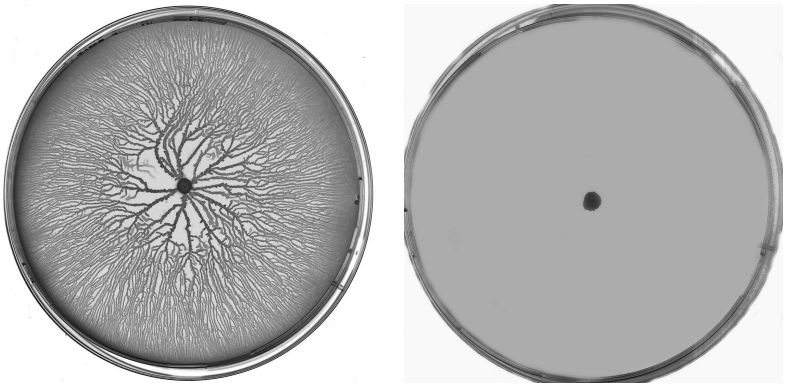


FIG. 1.12: Résultat d'une expérience de swarming par D. Julkowska [43]. Sur la figure de gauche la souche inoculée est capable de synthétiser des flagelles (hag^+) alors que sur la figure de droite elle est privée de cette capacité (hag^-). 24h après l'inoculation, seules les bactéries flagellées ont été capables de "swarmer" et de coloniser la boite de culture. Les bactéries non flagellées n'ont pas initié le processus de swarming et n'ont pu quitter la zone de l'inoculum.

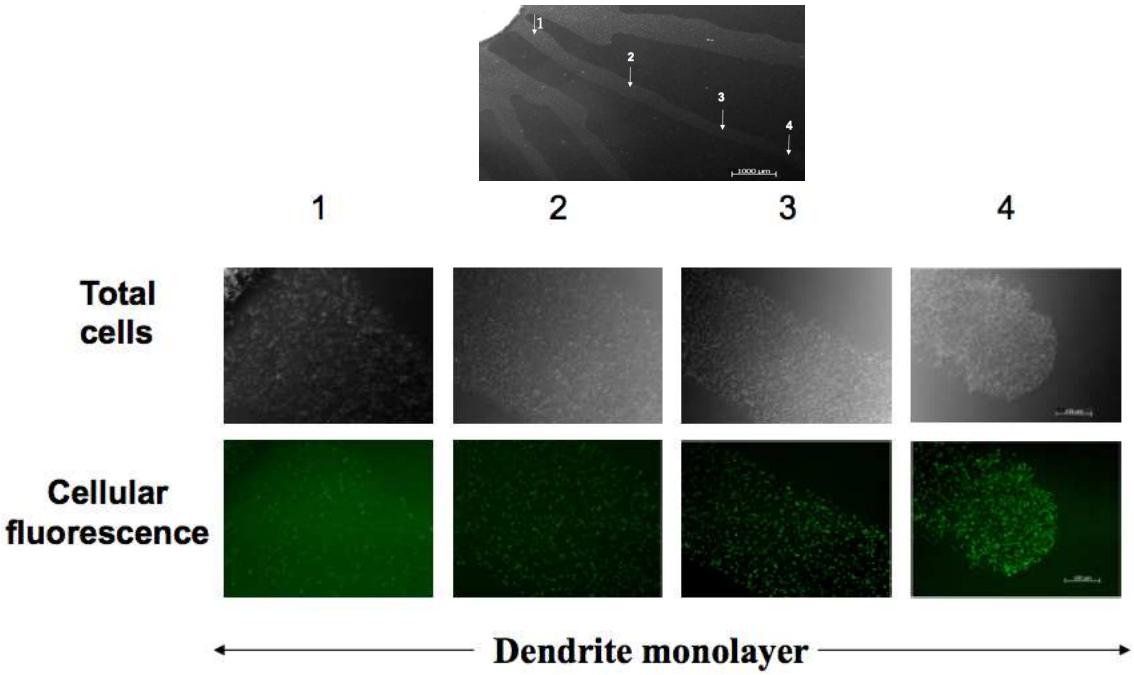


FIG. 1.13: Proportion d'individus flagellés (fluorescents) par rapport à l'ensemble des individus présents dans différentes zones le long d'une dendrite. Clichés par K. Hamze [35]

dans le bulk éliminant ainsi la possibilité de former un aggrégat compact. En revanche une concentration en agar trop élevée révèle que les bactéries présentent de grandes difficultés à migrer et à coloniser la surface du milieu de culture. Plus le gel a une forte teneur en agar, plus le swarming est réduit : à 0,7 % le processus a pu s'accomplir complètement (swarm 1 et swarm 2) et les bactéries sont parvenues à coloniser la surface de culture, à 1 % le swarming s'est interrompu après le swarm 1 et le swarm 2 ne s'est pas produit, à 1,25 % la migration s'est interrompue prématurement dans le processus et à 1,5 % et au dela aucun signe de swarming ne peut être observé (cf fig. 1.14).

Ces différentes expériences indiquent qu'il existe une gamme de concentration en agar pour le milieu de culture propice au développement du swarming. Une concentration en agar trop élevée ou à l'inverse qui ne l'est pas assez devient un paramètre limitant pour le swarming.

Le surfactant

Dans le cas du swarming sur un milieu synthétique complexe (i.e le B-medium), et dans le but d'appréhender le rôle de la surfactine dans le processus, l'expérience suivante est réalisée : on s'intéresse à la souche mutée 168 qui est modifiée génétiquement afin de l'empêcher de produire la surfactine (mutant 168 sfp^-). Par la suite, cette capacité est restaurée (mutant 168 sfp^+). Les souches 3610 et mutant 168 sfp^- sont innoculées sur le milieu de B gélosé et 24 h après l'innoculation, les croissances de colonies sont comparées (cf fig.1.15). Le mutant 168 sfp^- dont la capacité à produire la surfactine a été inhibée est incapable de swarmer. Il apparaît clairement que sur milieu B, en l'absence de surfactine, *B. subtilis* est dans l'incapacité de réaliser le swarming.

Afin de compléter les observations précédentes, de nouvelles expériences sont menées [43]). Le mutant 168 sfp^- est inoculé sur le même milieu de culture avec une goutte de $10\,\mu L$ de surfactine purifiée à 1 $mg.ml^{-1}$. Dans une autre boite de culture, la souche 168 sfp^+ est inoculée et les résultats sont comparés. Avec le mutant 168 sfp^-, incapable de produire la surfactine, on n'observe pas de swarming [36]. Par contre, le rétablissement de la capacité de production de la surfactine chez ce mutant rétablit un swarming complet. Cependant la forme de la colonie obtenue présente des différences par rapport à la coupelle témoin : les ramifications connectées à la colonie mère sont moins nombreuses et moins branchées.

La surfactine apparaît donc comme un ingrédient essentiel pour la bonne conduite du swarming sur le B-medium Cependant le seul fait de rétablir la capacité de synthèse de cette protéine ne permet pas de reproduire exactement la morphologie exhibée par la souche sauvavge 3610. D'autres paramètres liés à la production de surfactine peuvent donc être impliqués comme la régulation spatiale et temporelle de ce biosurfactant au cours du processus.

Il existe peu de données disponibles concernant la dynamique de production de la surfactine pendant le processus du swarming [25]. Le front de surfactant devient visible à l'oeil nu entre t = 10 h et t = 12 h et reste présent jusqu'à l'accomplissement

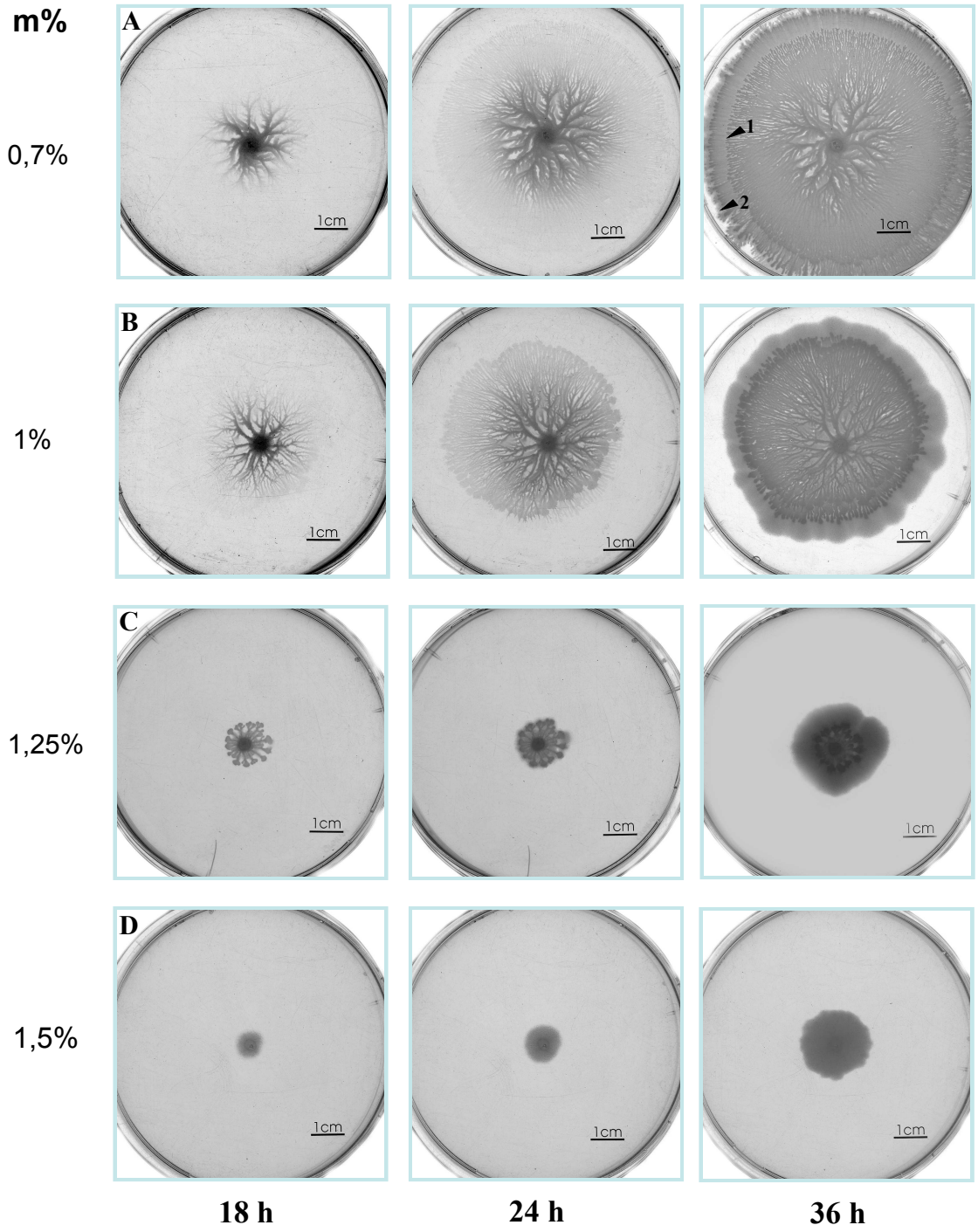


FIG. 1.14: Résultats d'expériences de swarming sur milieu B de concentrations différentes en agar, à t = 18 h, t = 24h et t = 36h. Plus le milieu est concentré en agar et plus le swarming est limité. A 1,5 % et plus, le swarming n'est plus observé. Clichés par D. Julkowska [43]

de la migration. Comme le montre la figure 1.14, une injection ponctuelle de surfactine dans des quantités compatibles avec la production bactérienne ne permet pas de couvrir l'ensemble de la surface de culture. La production de surfactine peut être continue ou bien se faire par intermittence. Un élément de réponse est donné par l'expérience suivante : le déroulement du swarming est comparé chez la souche 168 sfp^+ et chez une souche mutante dans laquelle la production de surfactine est régulée par la quantité de xylose ajoutée (inducteur externe) qui agit comme un déclencheur de production de surfactine (Hamze et Séror, communications personnelles). A t = 30 h la comparaison des morphologies obtenues montre que l'ajout de xylose a permis d'obtenir des structures plus ramifiées et des dendrites plus matures avec notamment des multicouches, alors que le processus semble moins avancé dans le cas de la souche parentale avec des dendrites moins ramifiées et moins matures. Cette observation établit un lien entre la dynamique de production de la surfactine et l'accomplissement du swarming.

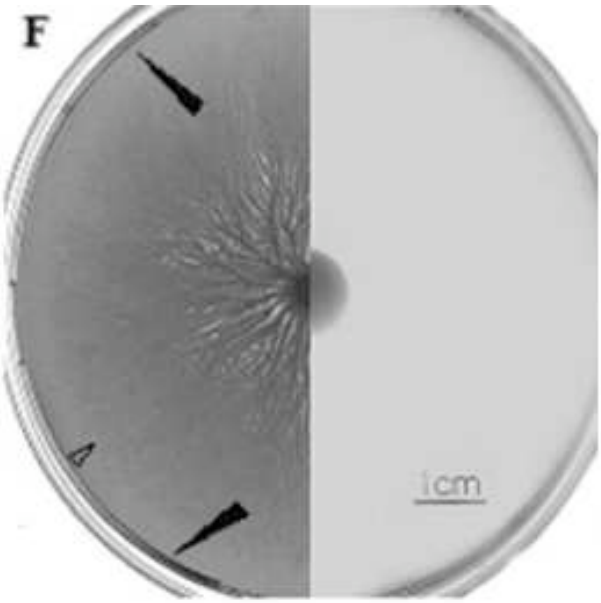


FIG. 1.15: Milieu B (0,7 % en agar) 24h après inoculation. La figure est composée de 2 photographies provenants de 2 expériences distinctes : la partie gauche montre le résultat obtenu pour la souche sauvage 3610 et la partie droite celui obtenu pour le mutant 168 sfp^-. Les flèches pleines indiquent que le swarming a atteint les bords de la boite et la flèche vide indique la demarcation entre swarm 1 et swarm 2. Cliché par D. Julkowska [43]

1.3 Eléments de théorie sur le mouillage

1.3.1 La tension superficielle ou tension de surface

La tension de surface est la manifestation macroscopique d'interactions à l'échelle microscopique. Ces interactions microscopiques peuvent être de différentes natures en fonction du liquide considéré : interactions de Van Der Waals, liaisons hydrogènes, liaisons ioniques ou métalliques. La résultante macroscopique agit comme une force cohésive pour le liquide, c'est-à-dire qu'elle tend à s'opposer à l'augmentation de surface du liquide en agissant comme une force de tension. La notion de tension de surface intervient dans les situations physiques où différents fluides se retrouvent en contact comme par exemple le cas d'une goutte d'eau posée sur un substrat solide et également en contact avec l'air. Les interfaces délimitants respectivement la phase vapeur, la liquide et la phase solide sont caractérisées chacune par une tension de surface.

La tension de surface est reliée thermodynamiquement à l'énergie libre F d'une phase fluide de volume V composée de n molécules par :

$$F = -pV + \gamma\mathcal{A} + \sum_{i=1}^{n} n_i\mu_i \tag{1.1}$$

Avec p la pression s'exerçant dans la phase, μ_i le potentiel chimique de l'espèce i, γ la tension de surface et A, la surface occupée par la phase fluide. γ est la variable conjuguée de la surface A. D'un point de vue énergétique la création de surface sera un processus qui coûte de l'energie au système. Celui ci va donc essayer de s'opposer à toute augmentation surfacique et γ traduit en quelque sorte la virulence avec laquelle ce dernier s'oppose à cette transformation. On définit la tension de surface γ telle que :

$$\gamma = [\frac{\partial F}{\partial \mathcal{A}}]_{T,V,n} \tag{1.2}$$

En termes dimensionnels il s'agit d'une énergie par unité de surface ou encore d'une force par unité de longueur qui s'exprime traditionnellement en $mN.m^{-1}$. Une grande partie des liquides usuels ont une tension de surface de l'ordre de 20-50 mN.m^{-1} à l'exception de l'eau dont la tension de surface est de 73 mN.m^{-1} (pour l'eau pure à 20°C) à cause des ses liaisons hydrogènes dont l'énergie est particulièrement élevée et par conséquent plus difficiles à rompre.

Il est intéressant de noter que pour un nombre de molécules fixé (c'est à dire en volume fini) une manière de minimiser F consistera à maximiser le rapport V/A. La meilleure façon d'optimiser ce rapport pour une phase fluide est de former une sphère ou quand cela est impossible une calotte sphérique.

Il existe deux manières de modifier la tension de surface d'un liquide. La première est de le chauffer, en effet comme le rappelle l'expression (1.2), la tension de surface admet une dépendance vis a vis de la température. La seconde consiste à y ajouter

des molécules amphiphiles qui vont s'adsorber à l'interface air/liquide. Ces molécules, à cause de leur action sur la tension de surface, sont appelées tensioactifs.

1.3.2 Modifier la tension de surface : les tensioactifs

Les tensioactifs font partie de notre vie quotidienne, nous y avons recours régulièrement lorsque nous utilisons du liquide vaisselle, nous lavons les cheveux avec du shampoing ou encore utilisons des détergents pour le nettoyage de surfaces. On les retrouve également dans les émulsions stables (mélange homogène de deux substances liquides non miscibles, comme l'eau et l'huile) où une phase fluide est dispersée dans la seconde sous forme de petites gouttelettes comme la mayonnaise ou encore la vinaigrette. Les tensioactifs ont une action stabilisatrice c'est à dire que leur adsorption aux interfaces (liquide/air ou liquide/liquide) diminue la tension interfaciale.

Les tensioactifs sont des composés organiques de masse molaire relativement élevée (en général supérieure à 200 g.mol^{-1}). Une grande variété de surfactants sont en fait des protéines d'origine biologique. Ils sont qualifiés "d'amphiphiles", c'est à dire qu'ils possèdent à la fois un caractère hydrophobe et hydrophile. La partie hydrophobe dans la plupart des cas est constituée d'une ou plusieurs chaînes aliphatiques type $CH_3(CH_2)_n$ alors que la partie hydrophile peut être un ion ou une "tête polaire"(cf fig1.16.a). La chaîne aliphatique est également lipophile, elle aura donc tendance à maximiser sa zone de contact avec les solutions riches en lipides comme l'huile. A cause de cette dualité, les tensioactifs mis en solution vont venir s'adsorber aux interfaces en s'orientant de manière à satisfaire ces 2 propriétés : la partie hydrophile cherchera à rester en contact avec l'eau et la partie hydrophobe sera orientée vers la phase non aqueuse. Il s'agit en fait de la configuration de plus basse énergie.

Ces molécules, en s'adsorbant, forment une monocouche qui tapisse l'interface (eau/huile ; eau/air, ...)(cf fig. 1.16.b). L'insertion des tensioactifs abaisse la portée des interactions cohésives évoquées précédemment, diminuant ainsi la tension s'exerçant sur l'interface. Cette diminution de la tension interfaciale facilite la création d'interface et permet au système d'accéder à des configurations qui lui étaient jusqu'à présent interdites. Une bulle de savon (fig. 1.17.a) ou une émulsion eau huile stable (c'est-à-dire qui ne démixe pas spontanément) (fig. 1.17.b) sont de parfaites illustrations de ces nouvelles configurations inaccessibles pour un système sans surfactants. Dans le premier cas la tension de surface eau/air est beaucoup trop élevée pour espérer former spontanément une "bulle d'eau". Même remarque dans le second cas où le système transitera toujours vers son état d'énergie le plus bas en minimisant son interface de contact, qui est la configuration huile et eau coexistant en deux phases distinctes.

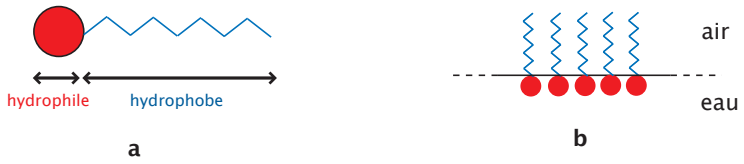


FIG. 1.16: Figure a : représentation schématique d'un tensioactif : La "tête" polaire est hydrophile alors que la chaîne aliphatique constitue la partie hydrophobe. Figure b :exemple d'adsorption de tensioactifs à l'interface eau/air. Les "têtes" hydrophiles sont immergées dans la phase aqueuse alors que les "queues" hydrophobes sont positionnées au contact de l'air.

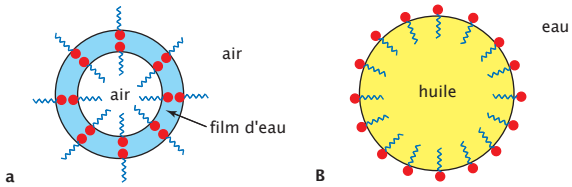


FIG. 1.17: Figure a : représentation d'une bulle de savon. Un mince film d'eau est piégé et stabilisé entre 2 phases gazeuses. Les têtes hydrophiles s'orientent vers la phase aqueuse alors que les queues hydrophobes se positionnent en dehors de la phase aqueuse. Figure b : représentation d'une goutte d'huile stabilisée par des tensioactifs dans l'eau. Cette fois, les queues lipophiles s'orientent de manière à rester en contact avec l'huile alors que les têtes hydrophiles se positionnent à l'extérieur de la goutte pour rester dans la phase aqueuse. Cette configuration, où d'ordinaire les 2 phases démixeraient spontanément, devient stable par l'ajout de tensioactifs.

On classe généralement les tensioactifs en quatre catégories en fonction de la nature de la partie hydrophile :
- Les tensioactifs anioniques : la partie hydrophile est chargée négativement
- Les tensioactifs cationiques : la partie hydrophile est chargée positivement
- Les tensioactifs zwitterioniques ou amphotères : la partie hydrophile comporte une charge positive et une charge négative, la charge globale est nulle
- Les tensioactifs non ioniques : la molécule ne comporte aucune charge nette

Comportement des surfactants en volume : la concentration micellaire critique (CMC)

La nature amphiphile des surfactants les pousse à s'adsorber aux interfaces en s'alignant le long de celle-ci pour former une monocouche. Lorsque le surfactant est en concentration suffisamment importante l'interface se trouve à saturation et n'acceptent plus l'adsorption de ces molécules. Cette saturation est due à une gêne stérique et aux interactions répulsives entre les têtes polaires. Il existe donc une concentration de surface limite au delà de laquelle les tensioactifs n'ont d'autre choix que de se placer dans le volume du liquide. Cette concentration limite est appelée Concentration Micellaire Critique (CMC) en référence aux structures tridimensionnelles que forment les associations de surfactants dans le "bulk" (volume du liquide) que l'on nomme micelles.

A cause du caractère hydrophobe de leur chaîne aliphatique, les molécules tensioactives tendront à se regrouper pour former des structures complexes et organisées de manière protéger leur "queue" hydrophobe tout en plaçant la "tête" hydrophile au contact du l'eau (et dans la configuration inverse si le liquide est de l'huile) (cf fig. 1.18. Cette association de surfactants permet de diminuer l'énergie interfaciale par molécule par rapport à la situation ou ces monomères seraient libres dans le volume. La proximité des têtes polaires crée une interaction répulsive antagoniste a la formation de micelles. Il y a donc compétition entre diminution de l'énergie libre par molécule et interactions répulsives. La gêne stérique est également un facteur limitant la croissance des micelles. A concentration inférieure a la CMC, le surfactant est présent dans le volume sous forme de monomères isolés. Au dessus de la CMC, la majeure partie du surfactant s'agrège sous forme de micelles, l'autre partie restant sous forme de molécules isolées.

1.3.3 Le mouillage statique

Le mouillage est l'étude du comportement du liquide déposé sur un substrat le plus souvent solide, c'est à dire de sa capacité à plus ou moins s'étaler spontanément sur ce substrat. Il existe deux situations de mouillage que l'on peut caractériser par un paramètre d'étalement noté S. Ce paramètre se construit en comparant l'énergie du substrat sec à l'énergie de ce même substrat mouillé par le liquide :

$$S = E_{sec} - E_{mouille} \tag{1.3}$$

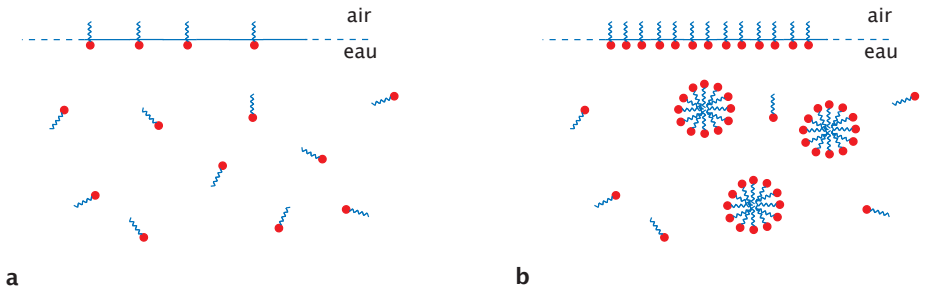


FIG. 1.18: Figure a : surfactant dont la concentration est inférieure à la CMC, en solution. Les molécules tensioactives dans le bulk vont venir s'adsorber à l'interface eau/air. figure b : Surfactant en solution dont la concentration est supérieure à le CMC. L'interface est saturée en molécules tensioactives et celles restant dans le bulk s'agrègent pour former des micelles.

Et en considérant E comme une énergie par unité de surface :

$$S = \gamma_{S/G} - (\gamma_{S/L} + \gamma) \tag{1.4}$$

Avec $\gamma_{S/G}$ la tension interfaciale solide/gaz, $\gamma_{S/L}$ la tension interfaciale solide/liquide et γ la tension interfaciale liquide/air. Ce paramètre permet d'évaluer qualitativement le comportement du liquide sur le substrat. Si $S > 0$ (cf fig 1.19). cela signifie que la configuration où le liquide mouille complètement le substrat en s'étalant pour former un film liquide est plus favorable du point de vue énergétique On appelle ce cas de figure le mouillage total. L'épaisseur finale du film liquide dépendra de la compétition entre force capillaire et force moléculaire. L'autre cas possible est $S < 0$ (cf fig.1.19) qui indique que la configuration où le liquide ne mouille pas le substrat est la plus économe en énergie. Le liquide va alors minimiser sa surface de contact avec le substrat et formera une flaque ou une calotte sphérique : on parle alors de mouillage partiel. La situation de mouillage est alors caractérisée par l'angle que forme la ligne triple avec la substrat θ. Les liquides présentant un angle supérieur à $\pi/2$ sont considérés "plutôt non mouillants" alors que ceux pour lesquels $\theta < \pi/2$ sont considérés "plutôt mouillants".

1.3.4 Le mouillage statique : la relation de Young-Dupré

Le mouillage statique correspond à la situation où la goutte de liquide déposée sur le substrat a optimisé sa surface de contact et qu'un équilibre des forces capillaires s'est établi entre les différentes tensions de surface s'exerçant de part et d'autre de la ligne de contact du liquide (cf fig. 1.19).

FIG. 1.19: Deux situations de mouillage possible : $S > 0$, situation de mouillage totale, le liquide s'étale spontanément sur le substrat et forme un film. $S < 0$ le liquide ne s'étale pas spontanément, la ligne triple forme un angle avec le substrat θ_E, le mouillage est qualifié de partiel. La goutte est à l'équilibre et les forces capillaires exercées de part et d'autre de la ligne de contact se compensent

En raisonnant sur un élément de ligne triple dl, la projection des forces sur cet élément de longueur suivant l'axe parallèle à la surface du substrat, donne la relation suivante :

$$\gamma_{S/G} \times dl = \gamma_{S/L} \times dl + \gamma \cos\theta_E \times dl \tag{1.5}$$

Cette relation permet d'établir un lien entre l'angle de contact de la phase liquide et les différentes tensions de surface s'exerçant sur la ligne triple lorsque le système est à l'équilibre. On obtient :

$$\cos\theta_E = \frac{\gamma_{S/G} - \gamma_{S/L}}{\gamma} \tag{1.6}$$

Si en théorie il semble aisé de prédire l'angle de contact d'un liquide déposé sur une surface par le calcul, en pratique il convient d'utiliser une méthode expérimentale de mesure de cet angle puisqu'il n'est pas possible de le mesurer directement $\gamma_{S/G}$ et$\gamma_{S/L}$ par les méthodes usuelles [23].

1.3.5 Hystérésis de l'angle de contact

Dans le cas d'une goutte de liquide en mouillage partiel sur un substrat rigide ($S < 0$), comme nous l'avons vu précédemment, celle ci forme un calotte sphérique parfaitement symétrique afin de minimiser sa surface libre (et de maximiser son rapport volume/surface). En réalité, la loi de Young-Dupré (1.6) n'est pas suffisante pour décrire complètement cette situation. En effet l'angle de contact au dépôt d'une goutte n'est pas unique et si l'on répète l'expérience plusieurs fois, l'on obtiendra à chaque fois une mesure différente de l'angle de contact. La valeur de l'angle au dépôt peut varier entre une valeur maximale θ_a, appelé angle d'avancée et une valeur minimale θ_r, appelé angle de reculée. L'angle d'avancée θ_a est la limite supérieure que l'angle peut prendre pour que la goutte reste statique, au-delà de cette valeur, la goutte se met mouvement en avançant. Respectivement, θ_r est la limite inférieure

de l'angle, en dessous de cette valeur la goutte recule. C'est l'écart entre cette borne supérieure et inférieure $\theta_a - \theta_r$ que l'on nomme "hystérésis de l'angle de mouillage". L'hystérésis peut varier énormément d'une surface à une autre, elle dépend de la nature du substrat et de la manière dont la surface a été préparée. En effet, une surface réelle n'est pas parfaite et présente des défauts. On relève principalement deux types de défauts :

- Les défauts chimiques : c'est à dire que la surface n'est pas homogène chimiquement et présente à certains endroits des gradients de concentration en espèces chimiques. Ces espèces étant plus ou moins hydrophiles ou hydrophobes, il est possible qu'en concentration suffisante, elles modifient localement le mouillage. La conséquence macroscopique est la modification de l'angle de contact à l'équilibre.

- Les défauts physiques : Ce que l'on entend par défauts physiques, c'est l'irrégularité d'une surface. Une surface qui paraît homogène macroscopiquement peut se révéler très rugueuse si l'on modifie l'échelle d'observation. De la même manière que pour les défauts chimiques cette irrégularité peut induire une modification locale du mouillage.

Une conséquence remarquable de l'hystéresis de mouillage est de permettre au gouttes de liquide de se maintenir en situation statique sur des surfaces inclinées tant que les angles de contact $\theta^{'}$ et $\theta^{''}$ n'atteignent pas les valeurs de θ_a et θ_r (comme illustré fig. 1.20). L'équilibre des forces de mouillage de chaque coté de la ligne triple fait apparaître une force s'opposant au mouvement de glissement de la goutte le long de la surface inclinée. Cette force ne dépend que de la différence entre les angles de contact de la goutte et d'une longueur transverse typique l, fonction de la géométrie de la phase liquide :

$$\vec{F} = l\gamma(\cos\theta^{''} - \cos\theta^{'})\vec{u}_x \tag{1.7}$$

Lorsque $\theta^{''} = \theta_r$ et $\theta^{'} = \theta_a$, la force liée à l'hystéresis ne suffit plus pour maintenir la goutte dans une position statique et celle-ci se met en mouvement.

1.3.6 Gravité contre capillarité, gouttes contre flaques : la longueur capillaire pour arbitre.

Dans la nature et la vie de tous les jours, les occasions d'observer le comportement des liquides sur une surface ne manquent pas. En mouillage partiel, il existe différentes manières pour un liquide d'occuper une surface. Il peut former une calotte sphérique que l'on appelle communément "une goutte" ou encore des flaques qui ont la particularité d'être courbées sur les bords et aplaties au milieu. Une échelle de longueur différente caractérise ces deux configurations : les gouttes d'eau n'existent qu'à petite échelle (quelques mm maximum) alors que les flaques existent sur des

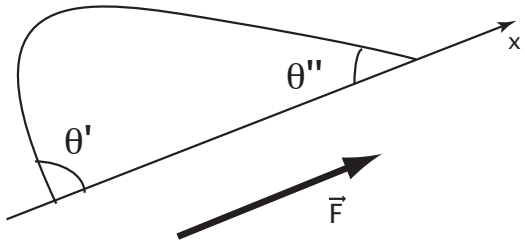


FIG. 1.20: Goutte de liquide sur un plan incliné. Ses angles de contact θ' et θ'' restant inférieurs aux angles critiques θ_a et θ_r lui permettent de créer une force s'opposant à son glissement

échelles de longueurs bien plus grandes. Il existe une longueur typique délimitant le domaine d'existence des gouttes et des flaques appelée longueur capillaire.

1.3.7 La longueur capillaire

La longueur capillaire notée κ^{-1} est une distance qui apparaît naturellement pour un liquide lorsque la pression due à la capillarité (pression de Laplace) est comparée à la pression hydrostatique. Cette longueur représente, dans un liquide, la distance à laquelle ces deux pressions s'égalent telle que :

$$\rho\ g\ \kappa^{-1} = \frac{\gamma}{\kappa^{-1}} \tag{1.8}$$

d'où

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{\gamma}{\rho\ g}} \tag{1.9}$$

Cette longueur typique caractérise les domaines où prédominent gravité et capillarité. Dans le cas de l'eau la longueur capillaire vaut 2, 7 mm. La longueur capillaire de la plupart des liquides usuels est proche de cette valeur. En dessous de cette longueur ($\kappa^{-1} < 1$ nous sommes dans le monde où la capillarité domine et c'est cette force qui façonne et modèle son environnement. Au dessus de celle-ci ($\kappa^{-1} > 1$) nous entrons dans le domaine où la gravité est la force dominante.En considérant notre taille comme échelle de comparaison l'être humain vit dans un univers dominé par la gravité. Dans les cas des gouttes et flaques liquides, la longueur caractéristique pertinente pour déterminer le régime de force correspondant est le rayon de ces dernières.

1.3.8 Les gouttes r $\ll \kappa^{-1}$

Pour les petites gouttes de rayon inférieur à la longueur capillaire, tout se passe comme si elles étaient en apesanteur et ressentent uniquement la force exercée par la tension de surface.

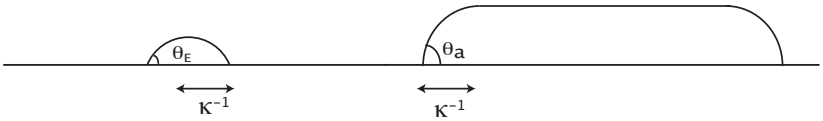


FIG. 1.21: Figure de gauche : goutte en mouillage partiel, dont le rayon est inférieur à la longueur capillaire. La goutte conserve son aspect sphérique. Figure de droite : flaque en mouillage partiel. Le rayon est supérieur à la longueur capillaire et la flaque est aplatie par l'effet de la gravité

1.3.9 Les flaques r $\gg \kappa^{-1}$

Pour les grosses gouttes de rayon r supérieur à la longueur capillaire et les flaques, les effets de la gravité se font sentir. C'est pourquoi à la différence des petites gouttes qui adoptent une forme de calotte sphérique, les plus grosses sont "aplaties" en leur milieu (cf fig. 1.21). Les forces capillaires sont toujours présentes et sont responsables de la courbure de l'interface liquide et de la formation de l'angle de contact, seulement ces dernières s'exercent uniquement sur une distance κ^{-1}. Au delà de cette distance la gravité domine et c'est elle qui dicte au liquide sa morphologie. Ces grosses gouttes et flaques se caractérisent par leur épaisseur h qui résulte de la compétition entre forces capillaires et gravité. L' épaisseur en question est donnée par la relation d'équilibre des forces horizontales s'exerçant sur une portion de liquide (zone hachuré sur la figure. 1.22). Il s'agit d'équilibrer la tension superficielle et la force de pression hydrostatique moyenne par unité de ligne :

$$P(x) = \int_0^h P(x,z)dz = \int_0^h \rho g(h-z)dz = \frac{1}{2}\rho g h^2 \tag{1.10}$$

La condition d'équilibre des forces par unité de ligne conduit à :

$$\frac{1}{2}\rho g h^2 + \gamma_{S/G} - (\gamma + \gamma_{S/L}) = 0 \tag{1.11}$$

Cette relation, combinée à la relation de Young-Dupré 1.6 permet d'éliminer les termes inconnus et l'on obtient :

$$\frac{1}{2}\rho g h^2 - \gamma(1 - \cos\theta_E) = 0 \tag{1.12}$$

Cette nouvelle relation permet d'exprimer directement la hauteur de flaque en fonction des paramètres connus :

$$h = 2\kappa^{-1} \sin \frac{\theta_E}{2} \tag{1.13}$$

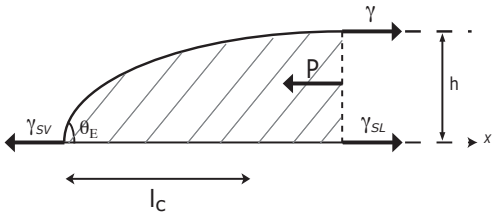


FIG. 1.22: Equilibre des forces par unité de longueur s'exerçant sur un morceau de flaque, entre les différentes tensions de surface et la gravité.

1.4 Les hydrogels d'agar

1.4.1 Qu'est-ce qu'un gel en physique[2]

Pour définir l'état gel, il est généralement admis qu'il s'agit de systèmes contenant principalement du liquide mais qui résiste à l'écoulement. Ces systèmes présentent presque toutes les propriétés des liquides usuels, mobilité des molécules, échange avec un solide ou avec un liquide, dissolution ou précipitation, ionisation, réactions (bio)chimiques, excepté une : ils ne s'écoulent pas sous l'effet d'une force aussi faible que l'on désire. En réalité cette définition est insuffisante puisqu'elle est également valable pour les matériaux poreux et les pâtes. Ce qui démarque les gels, c'est leur capacité à gonfler (certains gels utilisés dans les couches pour nourrissons sont capables d'absorber 1000 fois leur volume initial) ou à dégonfler par absorption ou désorption de liquide grâce à la pression osmotique [72, 73]. Ce changement de volume est susceptible d'amener le gel à modifier sa structure qui n'est pas rigide par opposition aux matériaux poreux. Les gels présentent également une propriété des solides : ils résistent aux contraintes mécaniques faibles mais cèdent à partir d'une contrainte seuil au delà de laquelle ils se déforment. En d'autres termes ils possèdent un module élastique.

Un gel est donc constitué de deux ingrédients : un liquide (le plus souvent huile ou eau) et un gélifiant. C'est la nature du gélifiant qui contrôle le gonflement du gel. Les gélifiants les plus courants sont des macromolécules d'origine biologique (polysaccharides et protéines) ou de synthèse (polyacrilates et polyacrilamides par exemple). Il existe également des gélifiants formés par association de petites molécules dissoutes dans le liquide comme des amphiphiles ou des monomères s'agrégeant en polymère tridimensionnel. Il existe également un troisième type de gélifiant. Il est constitué par empilement d'objets, gouttes ou particules, initialement dispersés dans le liquide. Les particules peuvent être minérales(silice, argile) ou organiques (latex, protéines).

Le gélifiant forme un réseau tridimensionnel interconnecté, baigné par le solvant, à travers tout le matériau (cf fig.1.23). Dans la littérature, on trouve une distinction entre les gels dits "physiques" et les gels dits "chimiques". Cette dénomination provient de la nature des interactions assurant la cohésion du gélifiant formant le réseau tridimensionnel : pour les gels chimiques, il s'agit de liaisons covalentes alors que pour les gels chimiques il s'agit de liaisons hydrogène, d'interactions ioniques, dipolaires ou hydrophobes. En réalité cette distinction n'est pas suffisamment discriminante pour qualifier un gel puisque dans les deux cas les connexions du réseau peuvent être permanentes ou temporaires.

Dans les cas des gels macromoléculaires (il existe également des gels dit particulaires ou colloïdaux ne contenant aucune macromolécule), les jonctions permanentes sont assurées par des macromolécules ionisables reliées entre elles par liaisons chimiques assurant ainsi la résistance à l'écoulement. En présence d'eau, les groupes carboxylates ou sulfates s'ionisent et le réseau polymérique gonfle sous l'effet de la pression osmotique des contre-ions. Fonctionnant sur le même principe, il existe

[2]pour plus d'informations, consulter le livre de B. Cabane et S. Henon. [12]

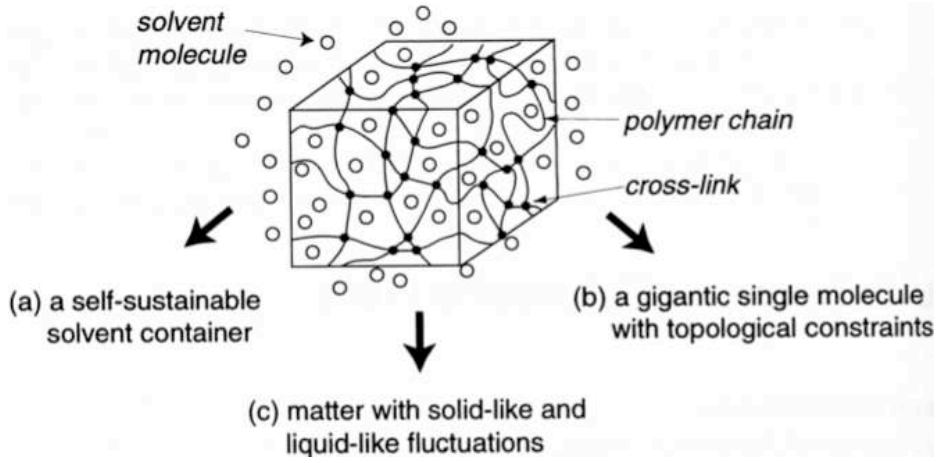


FIG. 1.23: Eléments de structure d'un gel

également des gels formés par gonflement de petits assemblages de macromolécules ionisables appelés "microgels". Dans ce cas précis l'écoulement est bloqué simplement parce que tout l'espace disponible est occupé par les microgels gonflés qui sont par conséquent dans l'incapacité de se déplacer. En ce qui concerne les jonctions temporaires, le terme est employé pour désigner le résultat d'une réorganisation de macromolécules initialement en configuration désordonnée dans une solution chauffée, en structures plus importantes lorsque la température de la solution décroît. Les jonctions sont alors assurées par des groupes hydrophobes qui s'associent pour former des petits agrégats semblables aux micelles. Ces jonctions sont qualifiées de temporaires puisque le phénomène est réversible. Si on chauffe à nouveau le gel, celui-ci se liquéfie. Parmi les macromolécules les plus connues concernées par ce type de liaisons on peut citer la gélatine et les polysaccharides extraits des algues dont l'agar. A noter qu'il existe également des gels macromoléculaires sans aucune jonction. Il suffit simplement que les macromolécules soient suffisamment enchevêtrées pour que leur mouvement soit bloqué et ainsi empêcher l'écoulement de la solution, comme par exemple, dans le cas du xanthane.

Dans la plupart des cas, les gels sont fabriqués à partir d'une solution contenant des macromolécules dissoutes et non réticulées. La transition de l'état solution vers l'état gel est qualifié de "transition sol-gel". Elle requiert un processus chimique (réactions chimiques, irradiation,...), physique (abaissement de la température) ou physico-chimique (par ajout d'ions, ou absorption de solvant par les microgels). Dans le cas d'une transition sol-gel d'origine chimique, celle-ci est irréversible et les caractéristiques du gel sont fixés définitivement à son issue.

Les gels ne sont pas un état particulier de la matière au sens thermodynamique du terme, comme l'état vitreux, ils sont obtenus à partir de l'état liquide, par un processus (trempe, réduction de volume libre ou établissement de liaisons) qui bloque le système dans un sous-ensemble des configurations qui étaient initialement accessibles

au liquide.

1.4.2 Qu'est-ce que l'agar ?

L'agar (appelé E406 dans la liste des additifs alimentaires) est un produit gélifiant obtenu à partir d'algues rouges C'est un polymère de galactose (le galactane) contenu dans la paroi cellulaire de certaines espèces d'algues rouges.

L'agar purifié, débarrassé de tous ses éléments minéraux s'appelle l'agarose, utilisable selon son niveau de pureté dans diverses applications de biologie moléculaire.

L'agar utilisé essentiellement pour gélifier les milieux de culture pour les micro-organismes. Cette substance s'utilise en très petites quantités. Elle n'a pratiquement ni goût ni couleur. C'est un liant et gélifiant végétal parfait pour remplacer la gélatine animale. L'agar est également utilisé dans la cuisine, notamment au Japon, et les préparations alimentaires comme par exemple les confitures, les gelées de fruits, les flans, ... La gelée se forme à condition d'être chauffée à 90°C, mais ne "prend" qu'à une température de 40°C environ.

En microbiologie, le mélange d'agar et de nutriments est utilisé comme milieu de culture solide pour la croissance de bactéries et de champignons. Bien qu'il ne soit possible de faire croitre seulement 1 % des bactéries existantes, les milieux de culture à base d'agar restent des milieux de choix pour la croissance de micro-organismes en laboratoire.

1.4.3 Les propriétés des gels d'agar et de l'agarose

La capacité de l'agar à former des hydrogels (eau + agar) est due à la présence d'agarose, un polymère (fig. 1.24) dont les propriétés sont rappelées dans le tableau 1.2. Ce polymère qui a la particularité d'être facilement soluble dans l'eau chaude a une température de fusion de 88°C. La solution obtenue est alors parfaitement homogène. En refroidissant, les molécules d'agar s'entremêlent pour former des structures en double hélice antisymétriques (cf fig. 1.25) stabilisées par les molécules d'eau piégées dans l'espace inter-hélice [5]. Ces hélices appariées peuvent s'organiser en structure plus grande (cf fig.1.25) formant ainsi un réseau gorgé de solvant (cf fig. 1.26). La porosité du réseau est défini par la taille de ses mailles qui dépend elle-même directement de la concentration du gel en agar. A la différence des gels dit "chimiques", les gels d'agar ne requièrent nullement la présence de réticulants pour opérer la transition sol-gela Les gels d'agar présentent un comportement réversible : ils redeviennent une solution homogène s'ils sont chauffés au dessus de 88°C. On peut alors à nouveau former un gel si la température de le solution descend en dessous de 35°C.

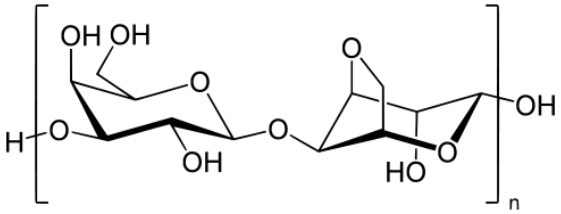


FIG. 1.24: Structure chimique de l'agarose

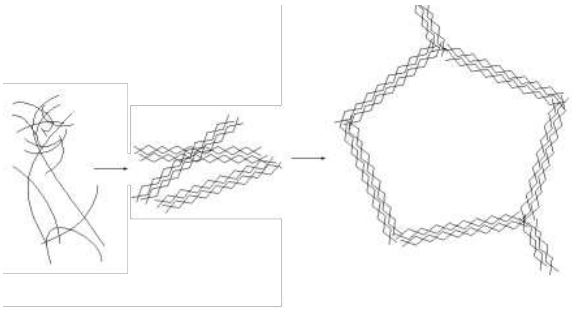


FIG. 1.25: Etapes de la formation du réseau d'agarose lorsque la température de la solution eau/agarose diminue en dessous de 35°C. Les polymères s'assemblent pour former des structures en double hélice puis s'organisent en réseau poreux

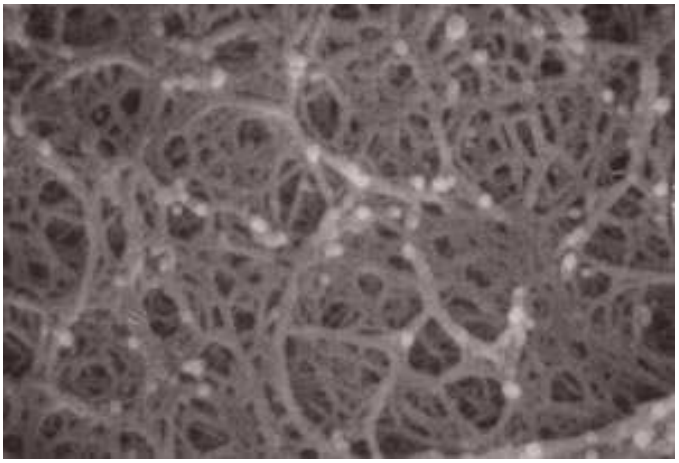


FIG. 1.26: Photographie par microscopie électronique (SEM) d'un échantillon de gel d'agar à 1 %

TAB. 1.2: Propriétés physiques de l'agar

Apparence	Solide blanc jaunâtre inodore
Formule brute	$C_{12}H_{18}O_9$
Masse molaire	306,266415 g.mol^{-1}
T° fusion	88°C
Solubilité	Insoluble dans l'eau froide. Facilement soluble dans l'eau chaude
Masse volumique	0,9 g.cm^3

1.4.4 Caractérisation du comportement élastique : mesure du module de Young

Les gels se caractérisent par leur comportement mécanique : ils se déforment facilement sous l'effet d'une contrainte mécanique et sont essentiellement composés de solvant. Leur comportement est qualifié de viscoélastique : ils se comportent à la fois comme un liquide et comme un élastomère. Comme les élastomères ils se déforment facilement mais leur domaine élastique étant moins étendu, il est aisé de les déformer de manière permanente. La représentation d'un gel physique amène à penser que ce comportement élastique dépend de la manière dont s'est formé le réseau pendant la transition sol-gel et donc de la quantité de polymères disponible pour cette organisation. Malgré la banalisation des gels d'agar, il existe peu d'études portant sur leur propriétés mécaniques. Par ailleurs, les résultats publiés sont obtenus dans des conditions différentes que ce soit au niveau de la méthode de mesure ou encore au niveau des conditions expérimentales. Les mesures ont été obtenues par cisaillement [16], relaxation dynamique [87] ou encore par compression mécanique [65]

Nous avons mesuré le module de Young de gels d'agar à différentes concentrations massiques par compression d'un échantillon de gel sur un banc de test de texture de matériaux (modèle : TA.XTplus Texture Analyser, fabriqué par "Stable Micro Systems") (schéma fig. 1.27). Le principe est simple : en imposant une compression connue à l'échantillon et la vitesse du piston, le capteur de force du banc de mesure nous fournit la force nécessaire à cette compression au cours du temps. Le module de Young est lié à la contrainte et à la compression relative par la loi de Hooke :

$$\sigma = E\epsilon \tag{1.14}$$

avec $\sigma = \frac{F}{S}$ la contrainte appliquée sur le cylindre, c'est-à-dire la force F appliquée sur la surface S du cylindre. ϵ est la compression relative de cylindre et est définie telle que $\epsilon = \frac{(h-h_0)}{h_0}$, où h_0 est la hauteur du cylindre avant compression. En mesurant R le rayon du cylindre de gel nous pouvons alors calculer E tel que :

$$E = \frac{Fh_0}{S(h_0 - h)} = \frac{Fh_0}{\pi R^2(h_0 - h)} \tag{1.15}$$

Les mesures effectuées permettent de tracer les courbes contrainte-compression pour différentes concentrations en agar. Les courbes obtenues (cf fig. 1.28) sont remarquablement linéaires et réversibles ce qui confirme bien que nous nous situons dans la gamme de paramètres correspondant au domaine élastique du gel. La pente augmente avec la concentration en agar indiquant un module d'Young de plus en plus elevé. Pour chaque concentration, plusieurs mesures on été effectuées et le module de Young a été determiné et porté en fonction de la concentration massique en agar (fig. 1.28). Comme constaté sur les courbes contraintes-compression, E augmente avec la concentration en gélose : de 4,1 kPa pour 0,5 % à 422,2 kPa pour 5 %. Ces valeurs sont proches de celles indiquées par Mrani [65] et Ross-Murphy [16]

La mesure du module de Young pour le gel à 0,5 % est certainement peu précise. En effet à cette concentration le gel est extrêmement fragile et le cylindre à tendance a se déformer sous l'effet de son propre poids. Par ailleurs sous l'effet de la compression, une petite quantité d'eau est expulsée du cylindre entre la surface du gel et le piston. Cette perte d'eau pourrait expliquer pourquoi le module de Young mesuré pour une concentration massique de 0,7 % est inférieur à celle à 0,5 %.

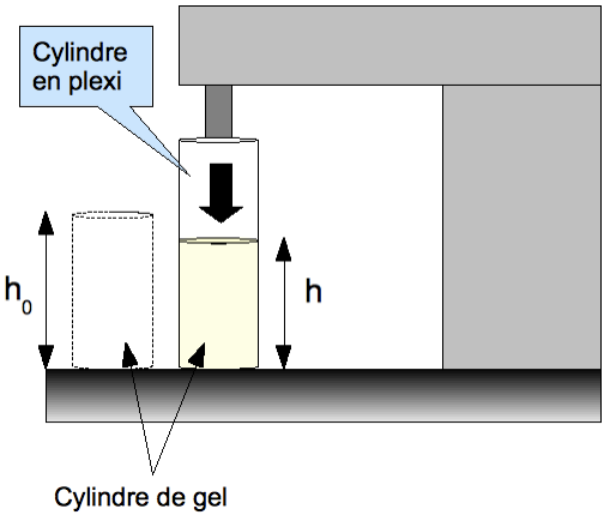


FIG. 1.27: Représentation du banc d'essai mécanique pour les mesures par compression avec un cylindre en plexi de même rayon que le cylindre de gel d'agar

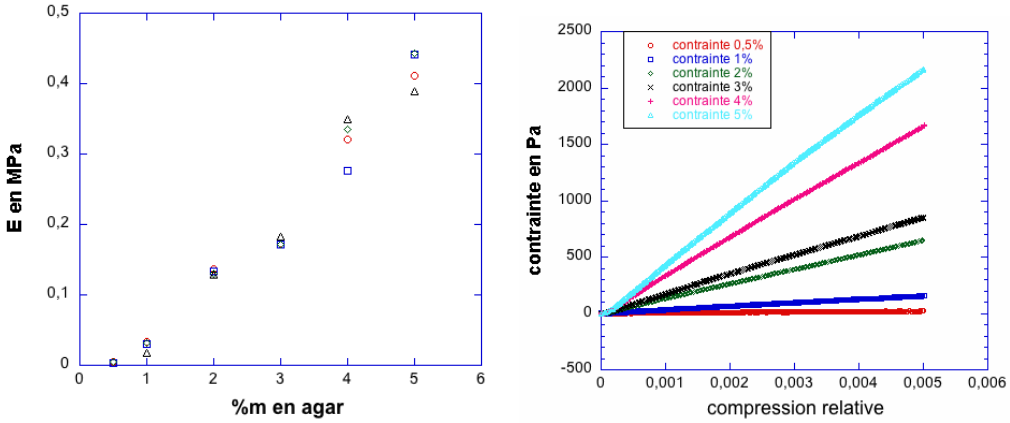


FIG. 1.28: Exemple de courbes contraintes en fonction de la compression relative pour des cylindres de gel d'agar de différentes concentrations massiques. La pente des droites obtenues correspond au module de Young des échantillons testés

Concentration m % gel	E en kPa
0,5	4,1 $\pm 0,11$
0,7	2,1 $\pm 0,04$
1	28,2 $\pm 6,8$
2	132 $\pm 3,4$
3	174,8 $\pm 5,2$
4	320,7 $\pm 31,6$
5	422,2 $\pm 26,3$

TAB. 1.3: Module de Young moyen, mesuré pour différentes concentrations d'agar

1.4.5 Evaporation des gels d'agar

L'évaporation du gel est mesurée en plaçant un gel fraîchement formé dans un boite de Petri sur une balance. Les coupelles de gel ont étés préparées de la même manière que précédemment : un volume de 25 mL de solution eau/Agar chaud est placé dans une boite de Petri, la solution est couverte et laissée à refroidir pendant 25 min jusqu'à gélification. La coupelle est alors ouverte à l'air ambiant afin d'exposer la surface du gel à l'évaporation pour éliminer les traces d'eau à sa surface. Les valeurs de la masse indiquées par la balance sont relevées au cours du temps. Les mesures sont effectuées pour les concentrations massiques suivantes en agar : 0,5 %,2 %,5 %(fig. 1.29) dans les mêmes conditions de température et d'humidité. L'évaporation se traduit par une masse qui évolue linéairement avec le temps. La pente des courbes d'évaporation fournit un ordre de grandeur du taux d'évaporation des gels en fonction de leur concentration : 5,90 mg.min^{-1} pour un gel à 0,5 %, 5,46 mg.min^{-1} pour une gel à 2 % et 9,97 mg.min^{-1} pour un gel à 5 %. Les taux d'évaporation mesurés sont du même ordre de grandeur pour l'ensemble des concentrations en agar même s'il est plus élevé pour les gels de concentration 5 %. Si l'on attend suffisamment longtemps, le processus d'évaporation se poursuit jusqu'à ce qu'il ne reste plus qu'un film bi-dimentionnel ayant la consistance d'un film plastique (cf fig. 1.30).

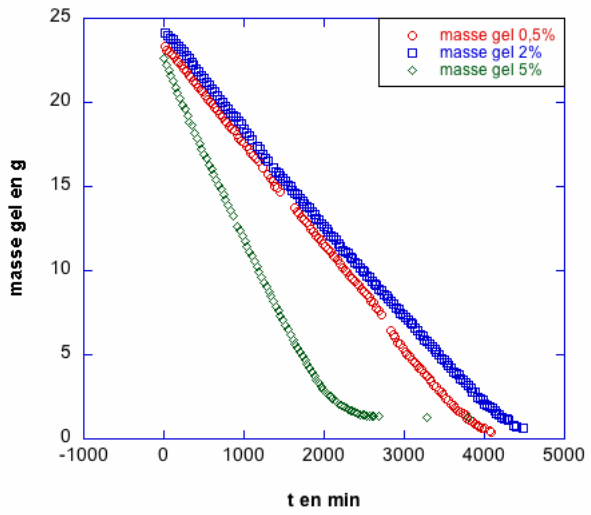


FIG. 1.29: Evaporation d'une coupelle de gélose pour les concentrations :0,5 %,2 % et 5 %. Température : 23°C, humidité= 38 %

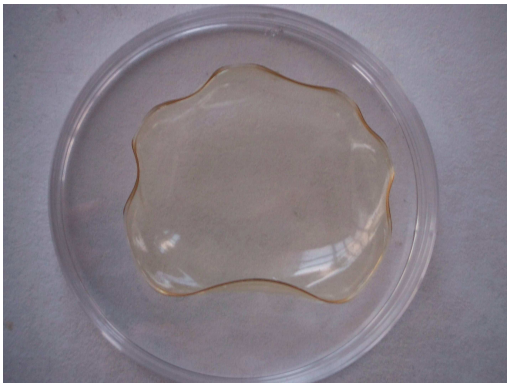


FIG. 1.30: Gel d'agar à 5 % laissé à l'évaporation jusqu'à évaporation complète de l'eau. Un film dur subsiste.

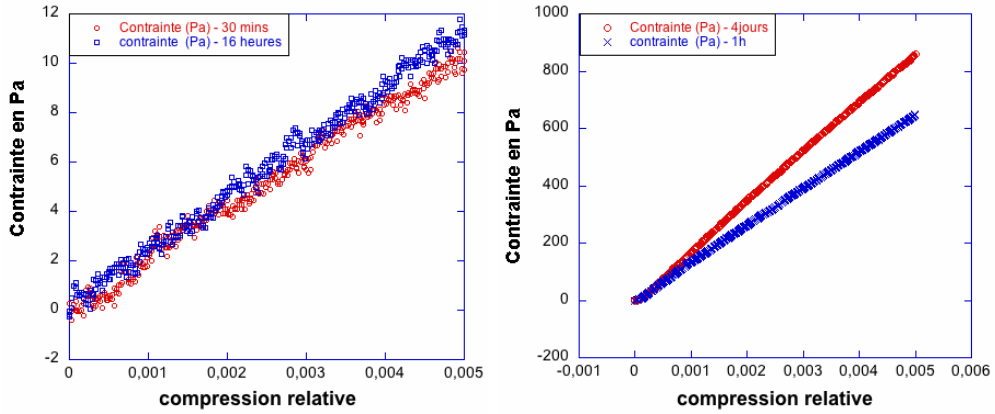


FIG. 1.31: Exemple de "vieillissement" de gels d'agar. Figure de gauche : mesure du module de Young d'un gel à 0,7 % d'agar 30 min et 16 h après gélification. Le module de Young n'a quasiment pas varié. Figure de droite : mesure du module de Young d' un gel à 2 % d'agar 30 mins et 4 jours après gélification. La valeur du module de Young à varié significativement.

1.4.6 Veillissement des gels

En fonction des conditions de température et d'humidité du milieu extérieur, l'eau contenue dans les hydrogels s'évaporent au cours du temps. Ce phénomène peut modifier les propriétés élastiques des gels.

Afin de quantifier ce phénomène pour des gels à 0,7 % et à 2 % des mesures ont été effectuées sur un même échantillon à t = 30 mins, t = 16 heures (gel à 0,7 %) et t = 4 jours (gel à 2 %) (fig. 1.31) laissé a l'air libre. Pour le gel à 0,7 %, l'évaporation sur une durée de 16 heures provoque une élévation du module de Young de 142,8 Pa, soit une modification de l'ordre de 7 %. A l'échelle de nos mesures, les propriétés élastiques du gel sont quasiment inchangées. Pour le gel à 2 % sur une durée de 4 jours, le changement devient perceptible et le module de Young de l'échantillon est plus élevé qu'à t = 30 min après coulage du gel. La différence de module de Young mesurée est de 448,2 kPa, soit une modification de sa valeur de 34 %. Un gel laissé plusieurs jours à l'air libre voit ses propriétés mécaniques largement modifiées. Par ailleurs, l'état de surface du gel est également affecté si l'évaporation n'est pas homogène : une évaporation plus rapide à certains endroits induit une hétérogénéité de concentration en eau qui à son tour induit une différence de contrainte mécanique. Ces différences de contraintes sont responsables des "rides" qui apparaissent sur un gel laissé à évaporer plusieurs heures à l'air libre. Ce phénomène est également observé pour des gels laissés couverts plusieurs heures après la gélification.

1.5 Conclusion

Nous avons fait un bref tour d'horizon des notions essentielles à la compréhension de l'ensemble des aspects du sujet développé dans cette thèse. Il s'agit d'un sujet pluridisciplinaire mêlant biologie, physique, chimie et mécanique des gels. Nous allons à présent préciser nos expériences et décrire les résultats obtenus.

2 Dispositif et méthode expérimentale

Dans nos expériences, une goutte de liquide (eau, huile ou solution de surfactant) est déposée sur un gel. Nous avons développé une méthode optique permettant le suivi de l'évolution de la surface libre de la goutte et du gel exposé à l'air. Notre méthode ne permet malheureusement pas de distinguer l'interface entre goutte et gel car les deux milieux ont le même indice optique

Dans ce chapitre, nous présentons le matériel et la méthode de détection utilisés pour la reconstruction des surfaces libres ainsi que le protocole de préparation de nos gels. La méthode de visualisation choisie repose sur un principe optique de réfraction lumineuse aux différentes interfaces. Elle est à la fois simple, peu encombrante et précise dans la gamme des faibles déformations. Elle est validée expérimentalement par deux tests distincts : la reconstruction de profil de pente d'une lentille de courbure connue et l'estimation du volume d'une goutte déposée à partir de la hauteur et du rayon apparent fournit par celle-ci.

2.1 Montage expérimental

Le montage expérimental requiert peu de matériel. L'idée générale est de sonder la surface du gel en utilisant la déformation apparente d'un motif de fond. La grande difficulté à produire un motif suffisamment fin pour être sensible aux faibles déformations à deux dimensions, couplée à celle de concevoir un algorithme performant dans cette configuration, nous à amené à considérer uniquement les motifs unidimensionnels. Nous choisissons pour cela une fine grille imprimée sur transparent, dont le pas du motif est p = 0,109 mm. Cette grille est placée sous la boîte de Pétri contenant le gel et éclairée uniformément par dessous. L' éclairage est constitué de rangées de diodes et d'un diffuseur, placés sous la grille. Ce type d'éclairage a l' avantage de se composer uniquement de sources froides (une source qui émet de la chaleur peut modifier les conditions expérimentales comme le taux d'évaporation des gels) mais l'inconvénient de présenter des spots lumineux localisés si la source est trop proche de la grille. Il convient donc de laisser un espace suffisamment important entre l'éclairage et la grille afin d'éviter l'apparition de ces spots sur l'image. L'acquisition est faite à une résolution de 1280 par 960 pixels avec une caméra Foculus (modèle FO432B) munie d'un objectif PENTAX de focale 35 mm (modèle C33500KP) fixée au dessus de la grille. La distance caméra-grille variera entre 10 cm et 30 cm en fonction de la nature de l'expérience et de la dimension de la zone d'étalement concernée. Les gels en boite de Petri sont posés sur la grille. Les gouttes de liquide sont déposées à la surface du gel avec une micropipette "Fisherbrand Finnpipette II" dotée de pointes à très faible rétention.

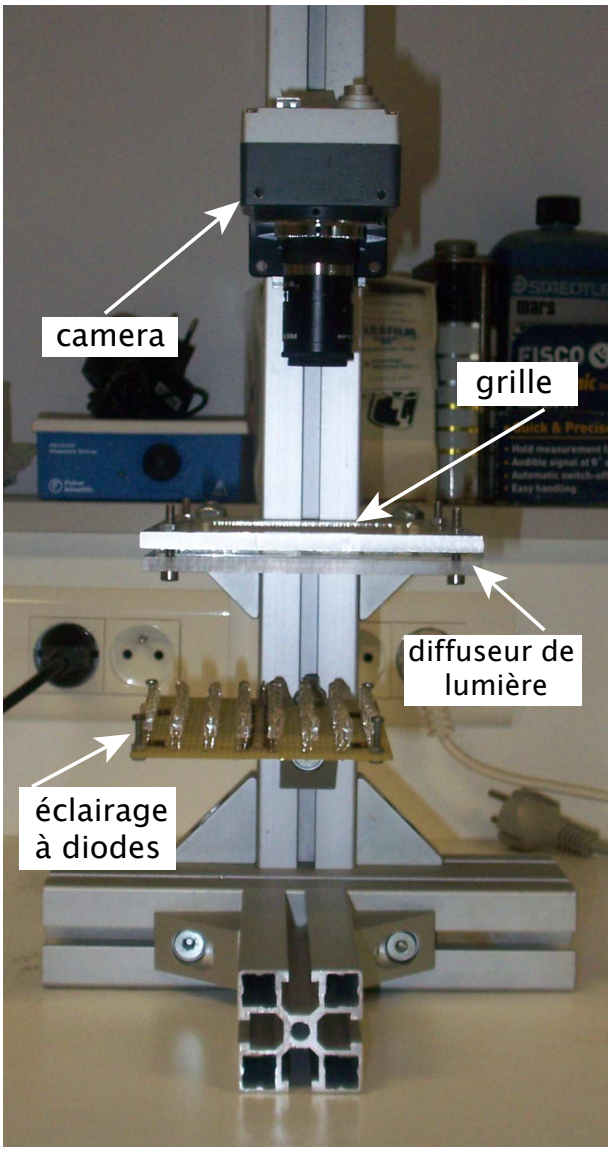


FIG. 2.1: Dispositif expérimental

2.2 Préparation des gels d'agar et des milieux de culture

La préparation des gels d'agar est relativement simple et ne nécessite qu'un dispositif de chauffage (micro-ondes, bains marie, ...). Dans notre cas un agitateur magnétique chauffant sera utilisé pour chauffer en homogénéisant la solution, en terme de concentration et de température, grâce à l'action mécanique de l'agitateur magnétique. L'agar utilisé est de l 'agar en poudre de marque DIFCO, purifié et incolore. A l'aide d'une balance, la masse d'agar en poudre nécessaire pour réaliser un gel à une concentration donnée est mesurée et placée dans un flacon en verre Pyrex muni d'un bouchon à pas de vis (fig 2.2, étape 1). L'agar est ensuite mélangé à de l'eau distillée jusqu'à l'obtention du rapport massique souhaité. Enfin, le flacon est couvert avec son bouchon et placé sur l'agitateur magnétique chauffant où la solution est portée à ébullition (fig. 2.2, étape 2). Une fois l'ébullition atteinte, le flacon est retiré de l'agitateur chauffant et laissé à refroidir jusqu'à ce que l'ébullition cesse. Puis des quantités de $25\mu L$ de solution sont prélevées à l'aide d'une seringue et versées dans des boites de Pétri en PET (polyéthylène téréphtalate) de 8,9 cm de diamètre (fig 2.2, étape 3). Les boites de Pétri sont couvertes et la solution est laissée à équilibrer pendant 25 minutes sur une surface métallique à température ambiante (fig 2.2, Etape 4) dont la conduction thermique est très bonne. En effet, le choix du support pour la solidification des gels est importante : si la surface choisie conduit mal la chaleur, des différences de contraintes peuvent se manifester lors de la transition sol-gel avec pour résultat la formation de ridules à la surface du gel. Notre méthode de détection optique étant assez sensible aux faibles déformations, elle exige une surface de gel la plus homogène possible. Il faut à tout prix éviter la formation de ces structures

Après ce laps de temps, la transition sol-gel a eu lieu et les gels sont formés. La boite est ouverte 5 minutes avant l'utilisation afin d'évaporer les éventuelles traces d'eau à la surface du gel (fig. 2.2, Etape 5). En effet il arrive que la surface du gel soit recouverte de fines gouttelettes d'eau après la transition sol-gel. Cet effet devient vraiment marqué lorsque la concentration des gels en agar est supérieure à 4 %. Par ailleurs le choix de la surface de refroidissement pour la formation des gels est importante.

Les milieux de culture pour la croissance des micro-organismes et des bactéries en particulier sont fabriqués de la même manière que les gels d'agar. Les compléments nutritifs sous forme de solutions liquides sont ajoutés à la solution d'agar au moment où elle est laissée à refroidir après ébullition juste avant d'être répartie dans les boites de Petri. La composition pour les milieux B et LB est donnée ci-dessous

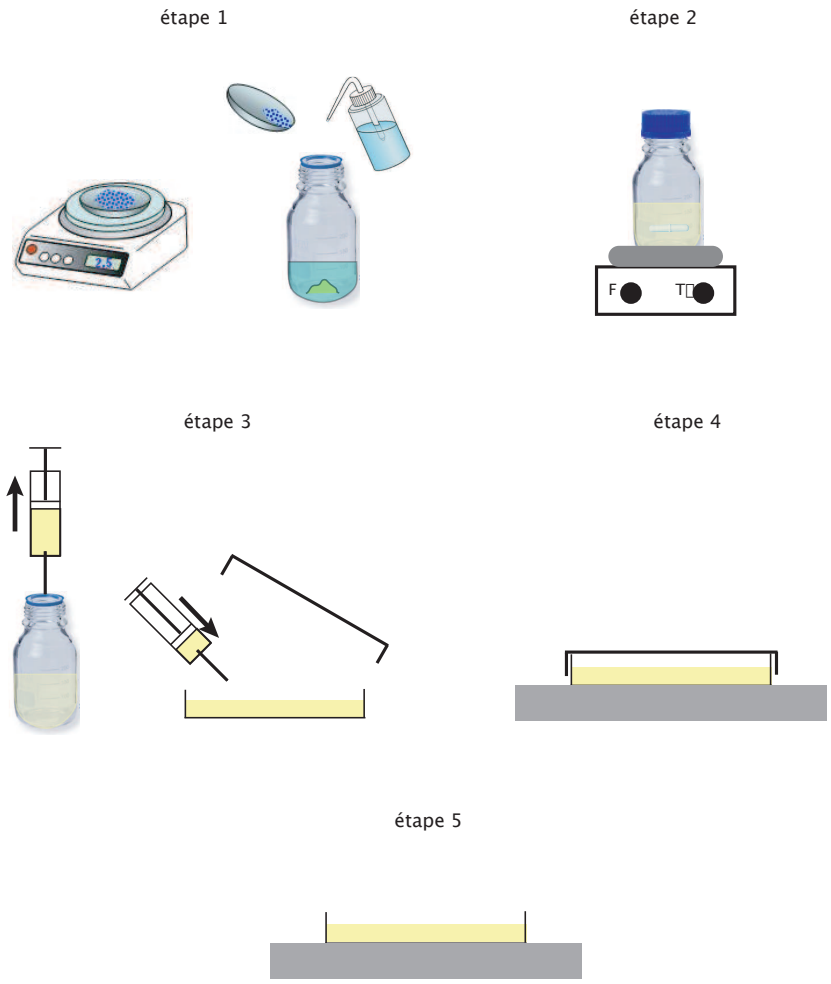


FIG. 2.2: Etapes de la préparation des gels d'agar. Etape 1 : la masse d'agar nécessaire est pesée, placée dans une bouteille en verre et mélangée à la quantité d'eau nécessaire pour obtenir un gel à la bonne concentration massique. Etape 2 : le bouchon est à moitié vissé sur la bouteille et le mélange est chauffé tout en étant mélangé à l'aide d'un agitateur magnétique, jusqu' à ébullition. Etape 3 : avec une seringue de 30 mL, un volume de solution de 25 mL est prélevé et placé dans une boite de Pétri. Etape 4 : la boite est couverte et placée sur une surface métallique pendant 25 min pour que la transition sol-gel se fasse. Etape 5 : le gel est ouvert 5 min à l'air libre pour éliminer les traces de liquide présentes à la surface du gel.

milieu B

50 mM Tris-HCl pH 7,5, 27 mM KCl, 7 mM citrate de codium $2H_2O$, 8 mM $MgSO_4$ $7H_2O$, 2 mM $CaCl_2$ $2H_2O$, $1\mu M FeSO_4$ $7H_2O$, 10 $\mu M MnSO_4$, 4,5 mM acide glutamique, 0,5 % glucose, 0,6 mM KH_2PO_4, 862 μM Lysine, 784 μM tryptophane.

Pour plus de détails, consulter Antelmann *et al.*, (1997)

milieu LB

1 % bacto-tryptone, 0,5 % bacto extraits de levure, 1 % NaCl, 1 mM NaOH pour plus de détails, consulter Miller (1972)

2.3 Principe de la méthode de reconstruction

2.3.1 Détermination de la pente locale

La méthode de reconstruction de la surface libre va nous permettre de mesurer localement sa pente et l'intégration permettra ensuite le calcul de la hauteur de cette surface libre.

Il s'agit d'une méthode optique faisant appel à la réfraction de la lumière issue de la source : nous allons nous servir du chemin parcouru par les rayons lumineux pour mesurer l'inclinaison de la surface. Pour illustrer le principe, parcourons le trajet d'un rayon en sens inverse, de l'objectif jusqu'à la grille (fig. 2.3). A chaque interface, le rayon subit une réfraction en accord avec la loi de Snell-Descartes. Ainsi, à l'interface air/eau, nous pouvons écrire :

$$n_{air} \sin \alpha = n_{eau} \sin \beta \tag{2.1}$$

Les gels utilisés etant constitués quasi exclusivement d'eau (leur fraction massique en eau est comprise dans une gamme variant de 95 % à 99,7 %), l'indice optique du gel sera par conséquent assimilé à celui de l'eau et nous traiterons le système goutte d"eau - gel comme une seule phase homogène. Ce qui nous permet d'écrire à l'interface gel/PET

$$n_{eau} \sin \gamma = n_{PET} \sin \delta \tag{2.2}$$

et enfin à l'interface boite de Petri/air

$$n_{PET} \sin \delta = n_{air} \sin \epsilon = \tag{2.3}$$

En considérant que les angles mis en jeu sont suffisamment petits, il est possible de faire les approximations suivantes :

$$\sin \alpha \sim \tan \alpha \sim \alpha \tag{2.4}$$

d'où :

$$n_{air} \alpha = n_{eau} \beta \tag{2.5}$$

$$n_{eau} \gamma = n_{PET} \delta \tag{2.6}$$

$$n_{PET}\delta = n_{air}\epsilon \tag{2.7}$$

Remarquons également que

$$\gamma = \alpha - \beta \tag{2.8}$$

Il est possible d'exprimer les angles de réfraction en fonction de la pente de la surface libre :

$$\beta = \frac{n_{air}}{n_{gel}}\alpha \tag{2.9}$$

$$\gamma = \alpha - \beta = \alpha - \frac{n_{air}}{n_{gel}}\alpha = \alpha(1 - \frac{n_{air}}{n_{eau}}) \tag{2.10}$$

$$\delta = \frac{n_{gel}}{n_{PET}}\gamma = \alpha(\frac{n_{eau} - n_{air}}{n_{PET}}) \tag{2.11}$$

$$\epsilon = \frac{n_{PET}}{n_{air}}\delta = \alpha(\frac{n_{eau}}{n_{air}} - 1) \tag{2.12}$$

Nous pouvons à présent exprimer le décalage total ΔX d'un rayon lumineux représentant l'écart entre sa provenance apparente à la sortie du gel et sa provenance réelle lorsqu'il est issu de la grille. Ainsi à chaque interface le rayon réfracté parcourera un chemin optique dont la distance est proportionnelle à l'indice optique du milieu concerné. Plus l'indice est élevé et moins le chemin parcouru est important. Ici ΔX = ΔX_1 + ΔX_2+ ΔX_3

Grâce à l'approximation des petits angles nous pouvons écrire

$$\tan(\alpha - \beta) = \frac{\Delta X_1}{e} \sim \alpha - \beta \sim \alpha(1 - \frac{n_{air}}{n_{eau}}) \tag{2.13}$$

$$\tan\delta = \frac{\Delta X_2}{L} \sim \delta \sim \alpha\frac{(n_{eau} - n_{air}}{n_{PET}}) \tag{2.14}$$

$$\tan\epsilon = \frac{\Delta X_3}{d} \sim \epsilon \sim \alpha(\frac{n_{eau}}{n_{air}} - 1) \tag{2.15}$$

Il est à présent possible de relier explicitement le décalage à la pente de l'interface libre

$$\begin{aligned}\Delta X &= \Delta X_1 + \Delta X_2 + \Delta X_3 \\ &= \alpha(1 - \frac{n_{air}}{n_{eau}}) \times e + \alpha(\frac{n_{eau} - n_{air}}{n_{PET}}) \times L + \alpha(\frac{n_{eau}}{n_{air}} - 1) \times d\end{aligned} \tag{2.16}$$

soit :

$$\alpha = \frac{\Delta X}{(n_{eau} - n_{air})(\frac{e}{n_{eau}} + \frac{L}{n_{PET}} + \frac{d}{n_{air}})} \tag{2.17}$$

Les indices optiques et distances e, L, d étant connus, il nous suffit donc de mesurer ΔX expérimentalement pour estimer la pente locale de la surface libre.

En pratique il s'agira de mesurer le déplacement apparent entre la position d'une frange de la grille avant le dépôt d'une goutte et sa nouvelle position après déposition. Les valeurs des intervenant dans la relation (2.17) sont listés ci-dessous :

- $n_{eau} = 1$
- $n_{air} = 1{,}33$
- $n_{PET} = 1{,}6$
- e = 4,5 mm (fixée par le volume de solution eau/agar injecté dans la coupelle)
- L = 0,8 mm
- d = 0,7 mm

2.3.2 Intégration de la pente locale - reconstruction du profil de hauteur

La formule obtenue précédemment fournie une mesure de pente localisée. Afin de reconstituer le profil de hauteur de l'interface libre du système, il faut à présent sommer ces valeurs de pente sur l'ensemble du domaine de mesure.

$$h(x) = \int_0^X \alpha(x)dx \tag{2.18}$$

où $\alpha(x)$ est la pente de la surface libre estimée à la position x sur le domaine de mesure.

Nous allons approcher ce calcul intégral par une méthode de sommation discrète : la méthode des trapèzes.

$$\begin{aligned}\int_0^X \alpha(x)dx &\sim \sum_{i=1}^{X} \frac{\alpha(x_{i-1}) + \alpha(x_i)}{2} \times \Delta X \\ &\sim \sum_{i=1}^{X-1} \frac{\alpha(x_{i-1}) + \alpha(x_i)}{2} \times \Delta X + \frac{\alpha(x-1) + \alpha(x)}{2} \times \Delta X \end{aligned} \tag{2.19}$$

d'où finalement :

$$h(x) = h(x-1) + \frac{\alpha(x-1) + \alpha(x)}{2} \times \Delta X \tag{2.20}$$

En choisissant ΔX de la taille d'un pixel, il est possible d'attribuer une valeur locale de pente à chaque pixel appartenant au domaine de mesure.

Nous allons imposer une condition supplémentaire afin de corriger les erreurs systématiques de mesures éventuelles. Imposer la nullité de la hauteur aux bornes du domaine de mesures (h(x) = 0 en x = 0 et x = L)).

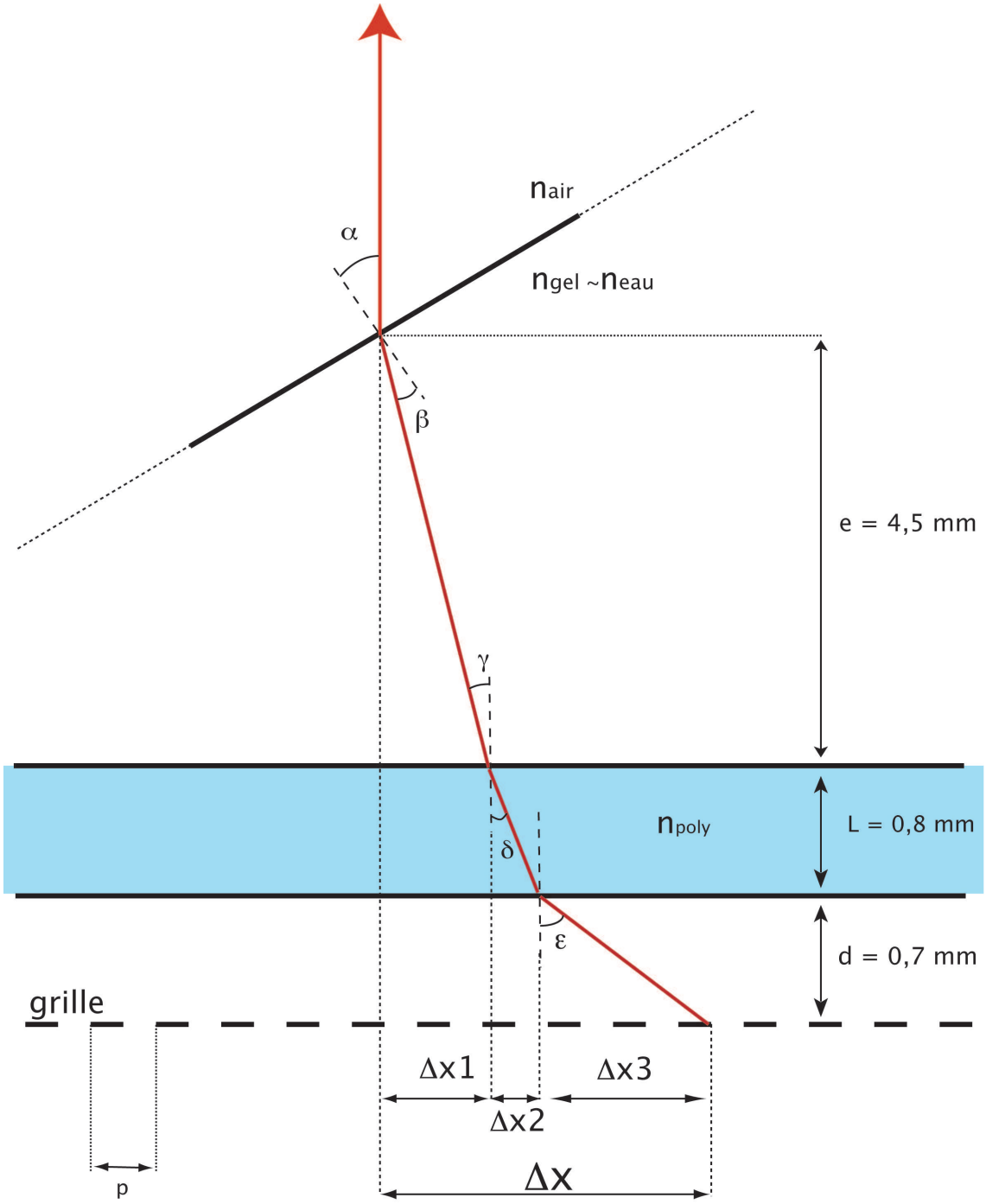


FIG. 2.3: Reconstrution du chemin optique d'un rayon lumineux émergeant de la surface libre perpendiculairement à l'objectif de la caméra et provenant de la source lumineuse sous la grille

Cette condition se traduit par l'égalité suivante :

$$\int_0^X \alpha(x)dx = 0 \tag{2.21}$$

En pratique, il suffit de sommer l'ensemble des valeurs de pente précédemment calculées puis de diviser cette somme par le nombre d'intervalle

$$\begin{aligned}&\sum_{i=1}^{X}\left[\frac{\alpha(x_{i-1})+\alpha(x_i)}{2}-\sum_{i=1}^{X}\frac{\alpha(x_{i-1})+\alpha(x_i)}{2N}\right]\\&=\sum_{i=1}^{X}\frac{\alpha(x_{i-1})+\alpha(x_i)}{2}-N\times\sum_{i=1}^{X}\frac{\alpha(x_{i-1})+\alpha(x_i)}{2N}=0\end{aligned} \tag{2.22}$$

2.4 Les étapes de la reconstruction

Nous allons décrire dans ce chapitre le processus de reconstruction d'un profil de hauteur étape par étape à l'aide du logiciel de traitement d'image : *ImageJ*. Le point de départ est bien sûr l'enregistrement d'un film après dépôt d'une goutte (eau ou surfactant)

1. La première étape de la méthode de reconstruction est de construire un diagramme spatio-temporel à l'aide d'une coupe transverse passant par le centre d'une goutte. La figure 2.4 montre la réalisation d'un tel diagramme. On choisit une ligne passant par le centre de la goutte, puis on forme une image en enregistrant cette ligne à des instants successifs, reportés l'un en dessous de l'autre selon la direction verticale(le film utilisé présente une image par seconde donc chaque ligne du spatio-temporel correspond à l'état de la coupe transverse une seconde après la ligne précédente). Le temps évolue donc vers le bas de l'image. Le diagramme spatio-temporel contient donc toutes les informations de position apparente du motif de grille au cours du temps. Et en particulier l'information sur le déroulement du processus : dépôt de la goutte, détachement du front, rétraction de la goutte et évolution du front.
2. Une fois le diagramme spatio-temporel obtenu, nous utilisons un plugin développé sous *ImageJ*. Le principe de ce plugin est de détecter le centre des franges blanches sur le diagramme spatio-temporel pour chaque ligne de celui-ci. Le centre de chaque frange est déterminée à partir du produit de convolution de la ligne par une gaussienne dont la largeur est choisie en fonction de la période de la grille. En effet la convolution par une gaussienne trop large ne serait plus discriminante puisque pour plusieurs positions la valeur du produit serait maximale. A l'opposé, le choix d'une gaussienne pas assez large rendrait la détection sensible au bruit. La position donnant la valeur maximale du produit de convolution est désignée comme le centre de la frange et le pixel correspondant est indiqué en rouge.

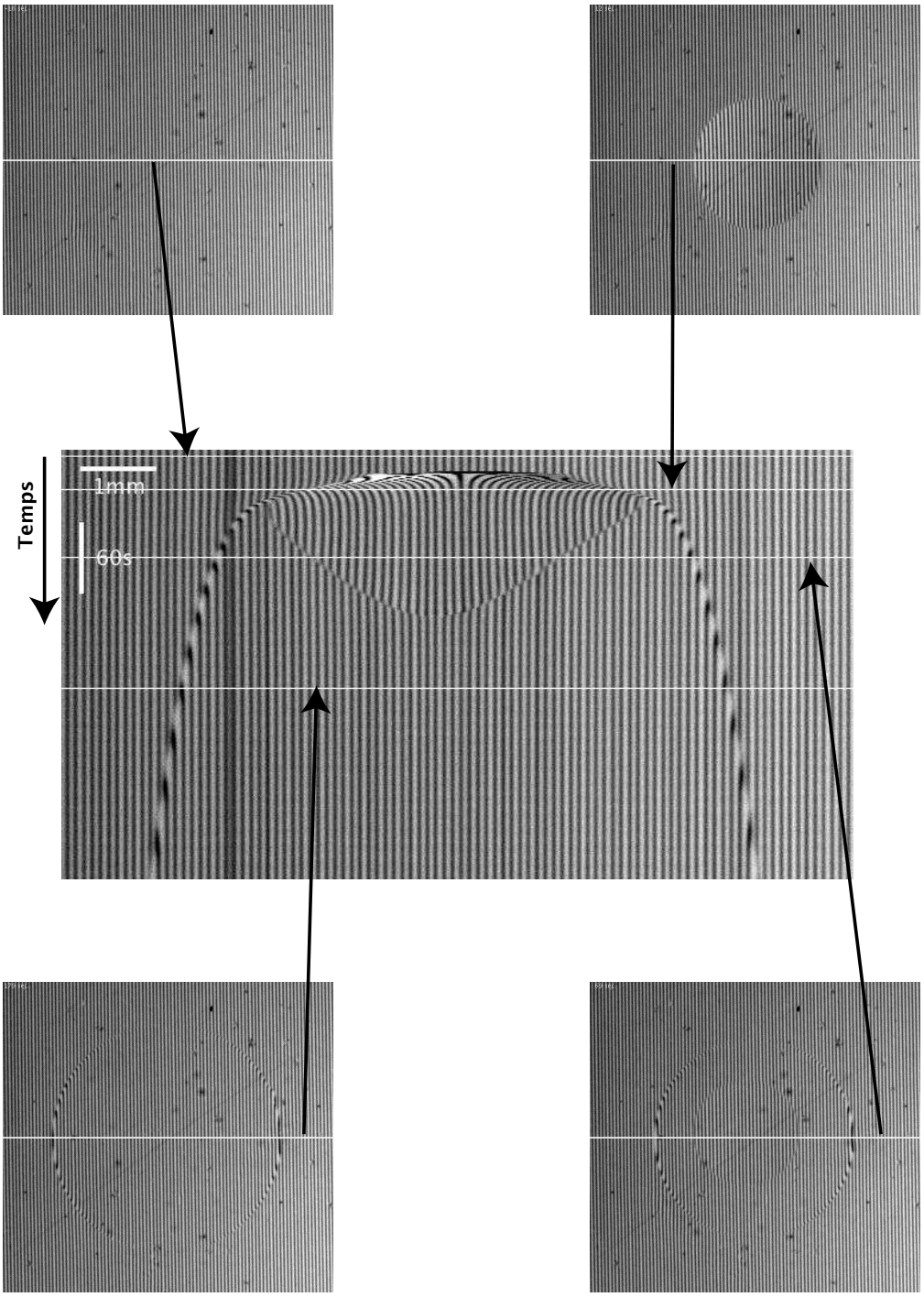


FIG. 2.4: Image du centre : diagramme spatio-temporel de l'étalement d'une goutte de surfactine sur un gel. Chaque ligne de ce digramme est la même coupe reportée au cours du temps (une ligne par seconde). Le temps est dirigé de haut en bas. Dans les premières secondes, la goutte n'est pas encore déposée (image en haut à gauche) et la surface du gel n'est pas perturbé. Puis la goutte est déposée (image en haut à droite) et son extension radiale apparaît sur le diagramme. Un front apparaît et la goutte se résorbe (image en bas à droite), le front devient visible sur le diagramme et l'extension radiale de la goutte diminue. Enfin, la goutte s'est complètement résorbée et le front subsiste (image en bas à gauche), seuls les bords du front restent visibles sur le diagramme.

En répétant l'opération pour chaque ligne du spatio-temporel, nous obtenons des lignes rouges continues et il est alors aisé de visualiser les déplacements des franges ΔX au cours du temps, par rapport à leur position d'origine (cf fig. 2.5).

3. Nous ne possédons bien sûr la valeur du décalage du motif que sur ces lignes rouges situées au milieu des franges. Les valeurs intermédiaires entre deux points connus sont calculées par interpolation linéaire : il est ainsi possible de constituer une carte complète pour laquelle chaque pixel du diagramme spatio-temporel correspond à une valeur de décalage codée en niveau de gris(fig. 2.6.a).
4. Un second plugin transforme cette carte des déplacements apparents en carte de pentes (fig.2.6 b) de l'interface eau/air et gel/air dans la direction ox. Chaque ΔX a été utilisé pour calculer la pente locale correspondante suivant la relation 2.17. Le plugin requiert la valeur de la distance Boite de Pétri/grille d, l'épaisseur de la boite de Pétri L et l'épaisseur du gel e (cf fig. 2.3) afin d'effectuer le calcul. Il réalise enfin une intégration numérique le long de chaque ligne telle que définie en (2.19). Nous obtenons alors au final la carte des profils de hauteur (fig. 2.6 c) ou chaque ligne de la carte est un profil de hauteur dont la magnitude est codée en niveaux de gris.

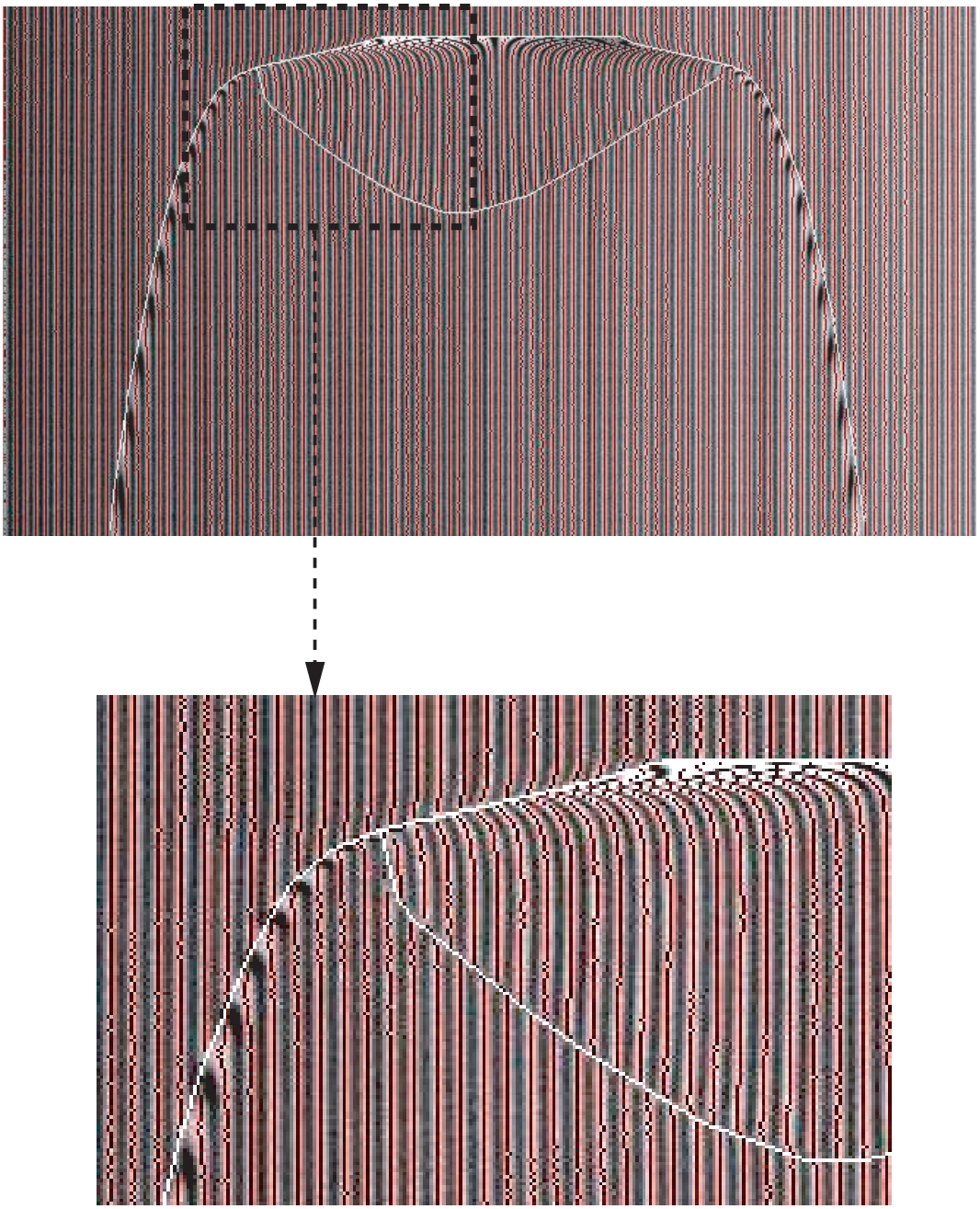


FIG. 2.5: Diagramme spatio-temporel après détection du centre des franges blanches, indiqué par un pixel rouge pour chaque ligne du diagramme.

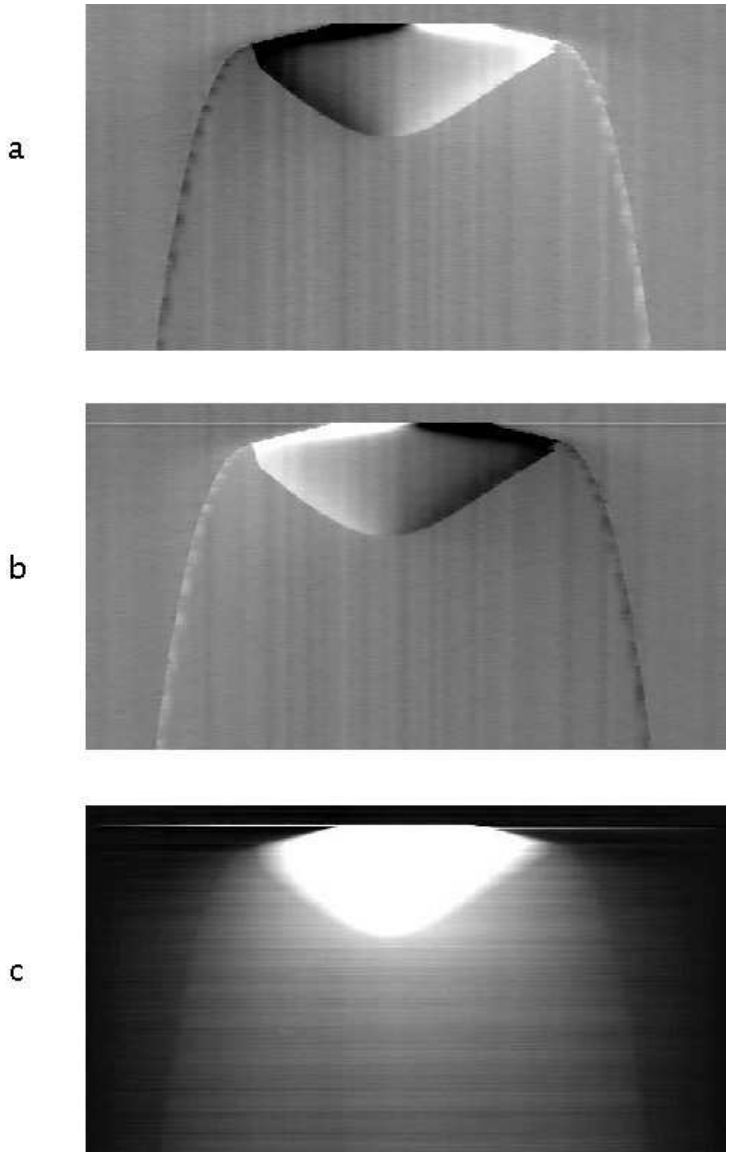


FIG. 2.6: Figure a : carte des décalages obtenue à partir du diagramme spatio-temporel (fig 2.5). L'intensité des décalages est codée en niveau de gris : un code numérique(CN) de 128 (gris moyen) indique un décalage nul, blanc et noir correspondent à des grands écarts de position comptés "positivement" et "négativement" en fonction du sens de décalage (à gauche ou à droite) par rapport à la position initiale de la ligne. Figure b : carte des pentes obtenue à partir de la figure a, comme pour la figure précédente le niveau de gris indique la magnitude de la pente et le sens de l'inclinaison. Figure c : carte des hauteurs obtenue par intégration numérique de la figure b.

2.5 Validation de la méthode expérimentale

2.5.1 Validation par reconstruction de la courbure d'une lentille

Afin de tester le degré de précision de notre méthode, nous avons reconstruit la surface libre d'une lentille posée à la surface du gel comme illustré figure 2.7. Le gel est préalablement couvert d'un film d'eau pour assurer un bon contact entre sa surface et la lentille. La lentille en question,commercialisée par ThorLabs (ref produit : LA1700) est plan-convexe c'est à dire composée d'un dioptre sphérique convexe et d'un dioptre plan (cf fig. 2.7). Les caractéristiques physiques fournies par le constructeur sont les suivantes :

- Diamètre : 6,0 mm
- Focale F = 30,0 mm
- Indice optique n = 1,515
- Rayon de courbure R = 15,5 mm

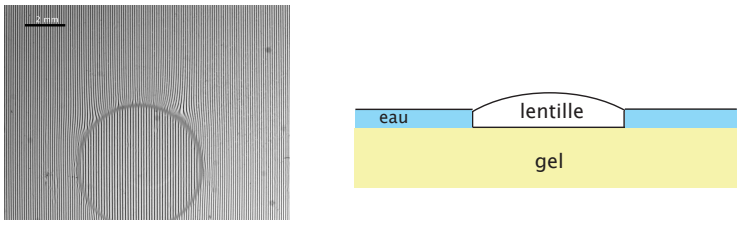


FIG. 2.7: Lentille mince posée sur la surface d'un gel couvert d'eau. A gauche : photo de la lentille posée sur le gel avec de l'eau. A droite : schéma du système gel-lentille-eau.

Le système physique est par conséquent modifié et nous devons en tenir compte dans notre méthode de reconstruction afin de l'adapter à cette nouvelle configuration (fig. 2.7 à droite).

En appliquant les mêmes considérations que précédemment, la nouvelle expression de la pente locale de la surface libre est donnée par

$$\alpha(x) = \frac{\Delta X}{(n_{lent} - n_{air})(\frac{d}{n_{air}} + \frac{e}{n_{eau}} + \frac{h}{n_{lent}} + \frac{L}{n_{PET}})} \tag{2.23}$$

Avec h, la hauteur moyenne de la lentille et n_{lent}, l'indice optique de la lentille. Cette expression a été utilisée pour reconstruire le profil de pente sur l'ensemble du domaine de mesure (gel+lentille mais aussi gel+eau) mais n'est utile que dans le domaine où la lentille est présente (fig. 2.8. C et D).

Les profils de pente et de hauteur sont obtenus (cf fig. 2.8) par la méthode optique décrite dans ce chapitre. Le domaine de pente correspondant à la lentille se situe entre les 2 sauts de pentes marquants les bords de la lentille. Comme le montre la figure 2.8.c la pente dans cette région est linéaire en x, montrant ainsi que le

profil de hauteur correspondant est sphérique (fig. 2.8 b et d). Une estimation de l'erreur associée à la méthode de reconstruction peut être déterminée en comparant la hauteur maximale de la lentille donnée par le constructeur et celle donnée par le profil de hauteur :

Les données du constructeur indiquent qu'il existe un dénivelé h_{const} de $300\mu m$ entre le bord de la lentille et sa hauteur maximale. La hauteur maximale h_{exp} fournie par notre méthode indique une valeur de 295,75 μm, soit une erreur associée :

$$\epsilon_h = \frac{h_{const} - h_{exp}}{h_{const}} = \frac{4,25}{300} \simeq 1,42\,\% \tag{2.24}$$

Le même calcul peut être fait en comparant les valeurs de pentes à maximales calculées à partir des données du constructeur p_{const} et celle fournies par notre méthode p_{exp}. Le calcul donnant p_{const} à partir des données constructeurs est le suivant :

$$p_{const} = \arcsin \frac{h(r = \frac{diamètre}{2}) - h(r = 0)}{R} = \arcsin \frac{3}{15,5} \simeq 0,195 \tag{2.25}$$

La valeur de pente maximale donnée par notre méthode est donnée par $p_{exp} =$ 0,177 D'où ϵ_p l'erreur associée :

$$\epsilon_p = \frac{p_{const} - p_{exp}}{p_{const}} = \frac{0,018}{0,195} \simeq 9,2\,\% \tag{2.26}$$

Ces calculs d'erreurs fournissent une bonne estimation de l'erreur systématique associée à notre méthode.

2.5.2 Par calcul du volume de goutte déposée

Il existe un autre moyen de tester la précison de la méthode de reconstruction en utilisant le profil de hauteur obtenu par cette dernière. Il s'agit d'estimer le volume de la goutte déposée à partir de son rayon apparent et de la hauteur maximale de la goutte. En effet, le volume d'une calotte sphérique peut être exprimé en fonction de ces 2 grandeurs :

$$V = \pi h^2 (R - \frac{h}{3}) \tag{2.27}$$

avec R rayon de courbure de la calotte sphérique et h sa hauteur. Comme le montre la figure 2.9, R est tel que : $R^2 = (R-h)^2 + r^2$ avec r le rayon apparent de la calotte sphérique. En exprimant R en fonction de et h :

$$R = \frac{r^2 + h^2}{2h}$$

D'où au final :

$$V = \pi h^2 (\frac{r^2 + h^2}{2h} - \frac{h}{3}) \tag{2.28}$$

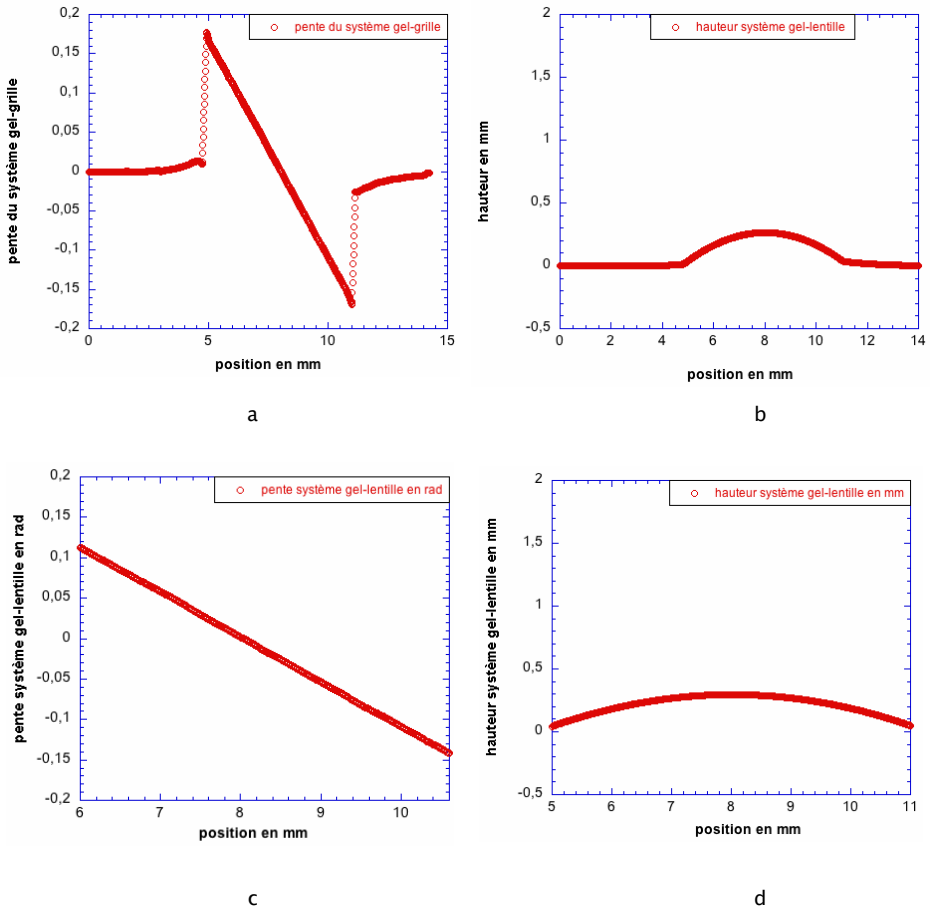


FIG. 2.8: Profils de pente et de hauteur reconstruits d'une lentille. Figure a et b : profils de pente et de hauteur sur l'ensemble du domaine de mesure. Figure c : zoom du profil de pente (figure a) dans le domaine linéaire. Le coefficient directeur de la droite donne la courbure de la lentille. Figure d : zoom sur profil de hauteur (figure d) de la lentille

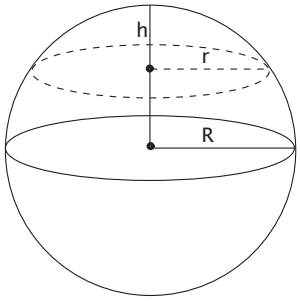


FIG. 2.9: *Calotte sphérique de hauteur h et de rayon apparent r, issue d'une sphère de rayon R*

Dans chaque cas il suffit à un instant donné de relever h, la hauteur maximale de la calotte sphérique et r, le rayon apparent de cette dernière avec le substrat pour calculer le volume de liquide déposé. Les mesures sont réalisées juste après le dépôt de manière à ce que les processus diffusifs(évaporation, diffuson dans le gel) n'aient pas le temps d'influer significativement sur le volume déposé. D'autre part, dans les tous premiers instants du dépôt, la goutte peut être suffisamment courbée pour que la variation de pente entre 2 points de mesure excède la limite supérieure de détection de la méthode optique. Il convient d'attendre quelques instants que la courbure s'atténue (en général 2 ou 3 secondes après le dépôt) pour obtenir une valeur de hauteur fiable. Les volumes ainsi calculés pour des gouttes d' 1 μL et 10 μL à la surface de gels de différentes concentrations massiques en agar figurent sur le tableau 2.1. L' histogramme, figure 2.10, montre les résultats obtenus pour des gouttes de 1 μL. La majeure partie des gouttes déposées ont un volume estimé entre 1 μL et 1,05 μL. La dispersion des mesures donne une estimation des fluctuations sur les volumes déposés mesurés par notre méthode. Une tendance à la surestimation du volume est visible. Les sources d'erreurs ne sont pas uniquement dues à la précision de la méthode : le volume réel déposé à l'aide de la micropipette et la forme de la goutte au dépôt peuvent également biaiser la mesure.

2.6 Limites de détection

Les limites de détections de la méthode seront dans notre cas fixées par ce que l'on détecte expérimentalement. Comme le montre la figure 2.11, nous sommes en mesure de détecter les variations de pente de la surface d'un gel, attribuées à la rugosité de la surface du gel qui est imparfaite. Des variations de l'ordre de 10^{-3} rad peuvent être détectées. Cette valeur sera considérée comme le seuil bas de détection. Nous ne sommes malheureusement pas en mesure de donner une valeur précise pour la borne supérieure de notre méthode de détection. Nous prendrons donc les valeurs de pentes

TAB. 2.1: Détermination du volume de goutte déposée à partir de son rayon apparent r et de sa hauteur h obtenue par la méthode de détection optique.

Hauteur goutte (mm)	Rayon goutte (mm)	Rayon courbure (mm)	Volume goutte (μL)
0,296	1,491	3,903	1,04
0,329	1,295	2,711	0,88
0,298	1,583	4,354	1,18
0,346	1,460	3,254	1,18
0,362	1,550	3,499	1,39
0,314	1,415	3,345	1,00
0,318	1,604	4,204	1,30
0,177	1,83	9,548	0,93
0,226	1,742	6,829	1,08
0,204	1,827	8,280	1,07
0,315	1,261	2,683	0,80
0,387	1,44	2,872	1,29
0,31	1,45	3,546	1,04
0,32	1,415	3,288	1,02
0,377	1,416	2,849	1,21
0,36	1,343	2,685	1,04
0,325	1,403	3,192	1,02
0,302	1,48	3,778	1,05
0,319	1,659	4,473	1,39
0,379	1,584	3,501	1,52
0,34	1,463	3,321	1,16
0,333	1,362	2,953	0,99
0,312	1,485	3,690	1,10
0,277	1,333	3,347	0,78
0,311	1,536	3,948	1,17
0,294	1,470	3,820	1,01
0,305	1,413	3,428	0,97
0,35	1,508	3,422	1,27
0,669	3,12	7,610	10,38
0,712	3,201	7,592	11,71
0,921	2,32	3,382	8,2
0,718	2,895	6,195	9,65
0,709	2,996	6,685	10,18
0,749	2,892	5,956	10,05
0,703	3,155	7,431	11,17

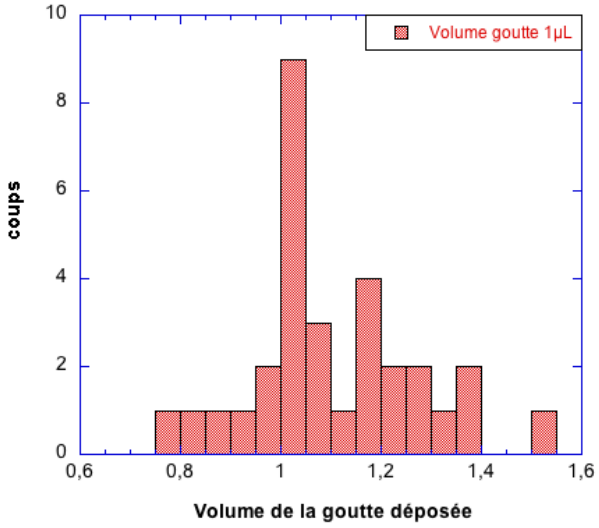


FIG. 2.10: Répartition des volumes de gouttes mesurés à partir de leur rayon apparent et de leur hauteur pour des gouttes supposées à $1\mu L$.

maximales mesurées pour des gouttes d'1 μL comme seuil de détection supérieure soit 0,4 rad. La valeur de la borne supérieure réelle, ne doit cependant, pas être très éloignée de cette valeur puisqu'il arrive que notre méthode de détection sature et soit incapable de fournir une valeur de pente dans les premiers instant du dépôt d'une goutte d'eau à la surface du gel. Ainsi, la fourchette de sensibilité de notre méthode est estimée à :

$$10^{-3} \text{ rad} < \alpha(x,t) < 0{,}4 \text{ rad}$$

Notre méthode est donc très précise dans la gamme des faibles déformations

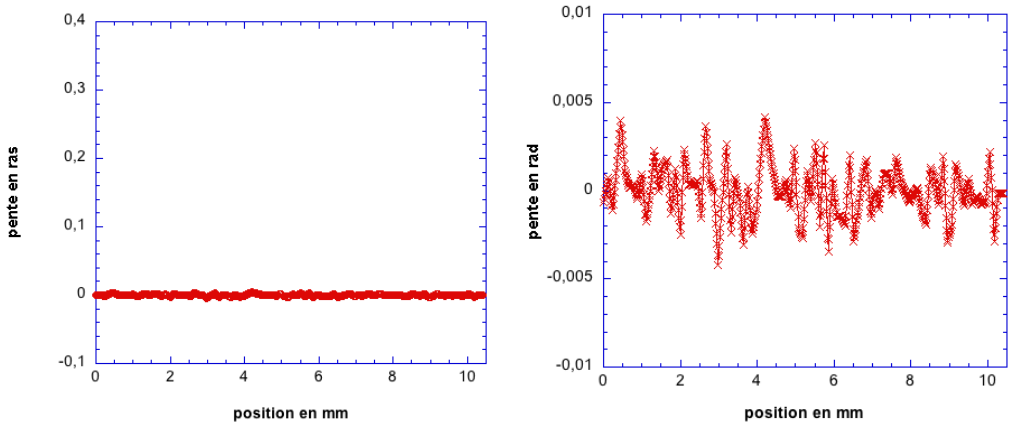


FIG. 2.11: Figure de gauche : profil de pente de la surface d'un gel. Figure de droite : zoom sur la figure de gauche. Notre méthode optique détecte des variations de pente de l'ordre de 10^{-3} rad

2.6.1 Conclusion

Nous avons développé une méthode qui permet de reconstituer l'évolution de la pente α(x,t) et de la hauteur h(x,t) des interfaces sur une ligne perpendiculaire à la grille, en fonction de la position et du temps. Cette méthode basée sur la réfraction de la lumière peut être très précise mais dans nos conditions, la précision ne sera que de 5 % à 10 %, ce qui est satisfaisant pour les besoins de notre étude.

3 Etalement de surfactants sur gels d'agar

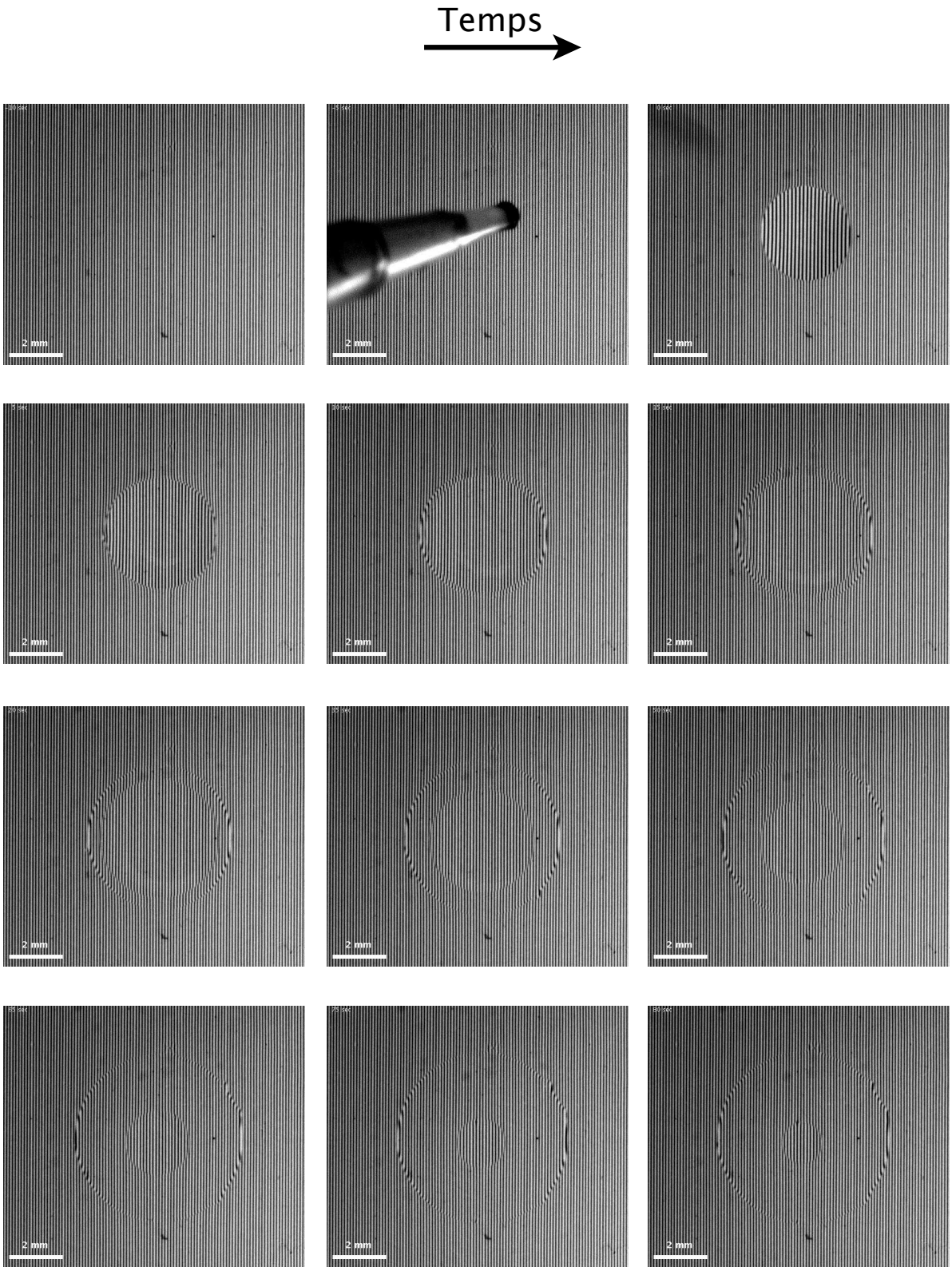
Comme nous l'avons déjà précisé au chapitre 1, l'étalement de solutions de surfactant sur gels en plus de présenter un intérêt fondamental dans la compréhension de la physique du mouillage des surfaces, couvre un champ d'applications industrielles important. Plus généralement l'étalement de surfactants sur des surfaces molles intéresse divers secteurs d'activités : de l'ingénierie mécanique où la lubrification de ces surfaces peut influer significativement sur les conditions de friction [33, 34] jusqu'à la recherche bio-médicale où, par exemple, le surfactant peut aider au transport de médicament dans les poumons ou encore aider au développement et à l'ouverture des alvéoles pulmonaires chez les nouveaux nés présentant une déficience de la synthèse d'un tensioactif naturel, d'ordinaire dédié à ce rôle [28, 62]. Dans le domaine biologique cette situation est également fréquente : on la retrouve dans les phénomènes d'adhésion entre cellules ou encore au coeur du processus de swarming chez certaines bactéries comme *B. subtilis*

De ce point de vue, il est très surprenant de constater le peu d'études qu'a suscité cette situation particulière du mouillage des surfaces. Parmi elles, *Kaneko et al.* [47] se sont intéressés à la cinétique d'étalement sur des solutions aqueuses de poly (2-acrylamido-2methyl-propanesulfonic acid) (PAMPS) et leur version gélifiée. *Szabó et al.* [78] ont également étudié l'étalement de gouttes liquides sur gels PAMPS. Plus récemment *Daniels et al* [19] se sont intéressés à l'étalement de surfactants sur des gels d'agar très mous (m % $\leq$ 0,14 %). Lors du swarming de *B. subtilis* sur un milieu de culture a base d'agar, celle-ci synthétise un surfactant : la surfactine. Nous allons donc nous intéresser à l'étalement de gouttes de surfactine dans les conditions standards des expériences menées par les biologistes [43–45] et plus généralement au comportement de ces gouttes sur des gels d'agar de différentes concentrations

3.1 Etalement de surfactant sur gels d'agar

3.1.1 Description du phénomène

Nous allons nous attacher ici à décrire l'observation du dépôt puis de l'étalement d'une goutte d'eau contenant de la surfactine à la surface d'un gel d'agar. Une séquence d'images (fig. 3.1) tirée d'un film permet d'illustrer différentes phases de l'étalement. Initialement et avant que la goutte ne soit déposée, une image de la grille placée sous la boîte de Petri (voir montage expérimental au chapitre 2) est conservée afin de connaître la position de référence de chaque ligne (image 1). A l'aide d'une micropipette munie d'une pointe en plastique (image 2), une goutte d'un microlitre d'un mélange eau/surfactine à la concentration $1\mu g/\mu L$ est déposée à la surface d'un


Temps
2 mm

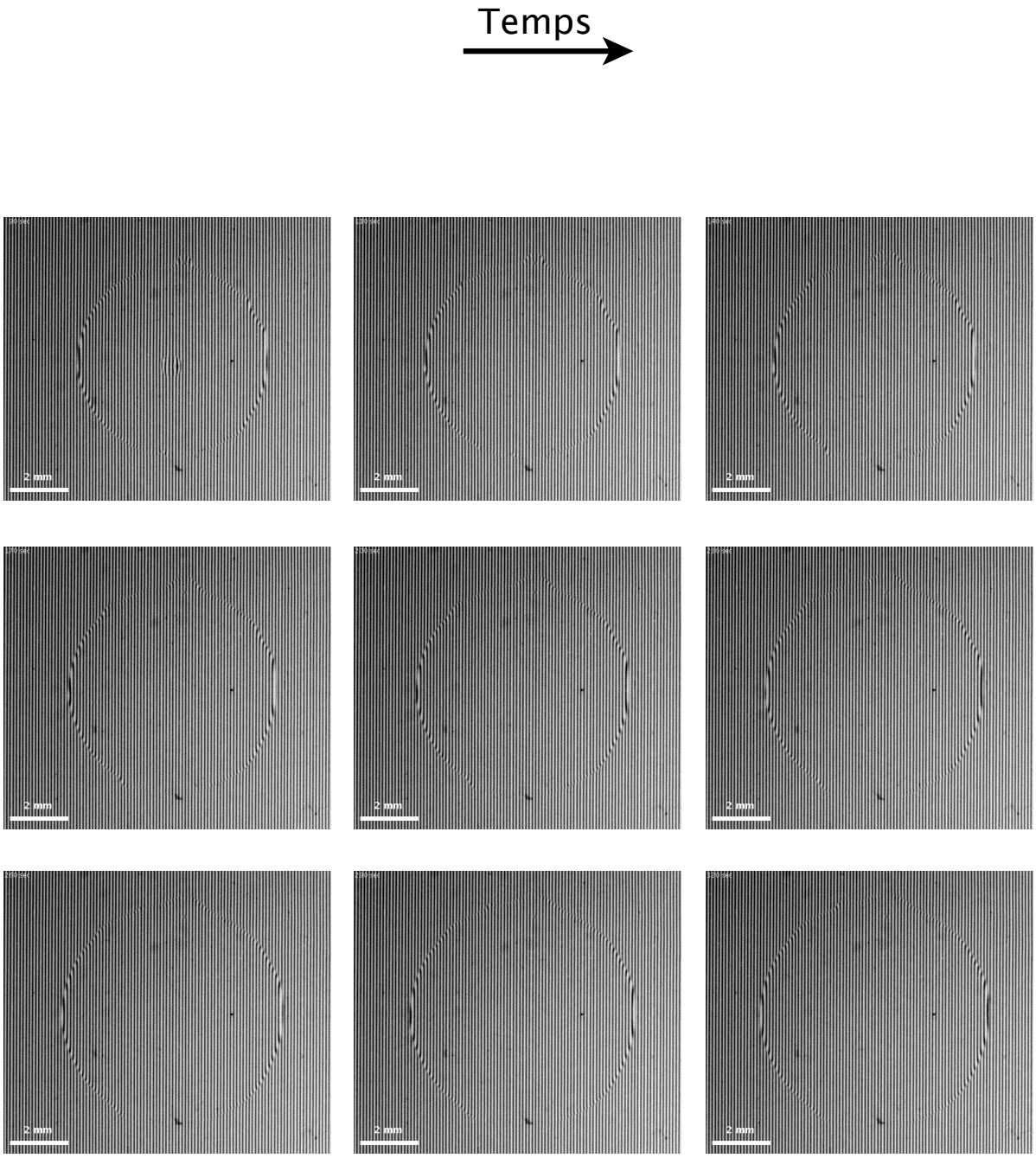


FIG. 3.1: Séquence d'images tirées de l'étalement d'une goutte de1 μL de surfactine sur un gel B-medium 0,7 %

milieu de culture B à 0,7 % (image 3). Dès lors, celle-ci forme une calotte sphérique et semble se trouver, transitoirement, en situation de mouillage partiel. Cette observation est très surprenante puisqu'on pourrait s'attendre à ce que la goutte soit en situation de mouillage total à la surface d'un hydrogel constitué à 99 % d'eau.

La goutte agit comme une lentille mince et la dilatation du motif de la grille à travers celle-ci renseigne sur la courbure de l'interface. Aussitôt après le dépôt, la goutte s'étale spontanément (image 4) et le grossissement du motif diminue. Assez rapidement, dès les premières secondes précédant le dépôt, un front apparaît distinctement et se détache du pourtour de la goutte (image 5). Ce nouveau "front" est un front de surfactine qui suit sa propre dynamique et continue à se propager alors que la goutte ne s'étale plus et semble statique (image 6). L'avancée du front s'accompagne d'un gonflement du gel à l'arrière. Quelques secondes plus tard, la goutte entame un mouvement de rétraction alors que le front continue à se propager (image 7). Cette double dynamique se poursuit (images 8 à 13) jusqu'à ce que la goutte se résorbe complètement et disparaisse (image 14). Une fois la goutte disparue, le front continue toujours sa progression, mais sa vitesse de propagation diminue au cours du temps (image 15 à 21).

La structure et la dynamique de ce front à une échelle de temps suffisamment grande présentent de grandes similitudes avec le front de surfactants observé en amont des colonies de *B. subtilis* durant le swarming : les vitesses de propagation mesurées sont similaires et les bords du front sont distinguable à l'oeil nu, montrant une variation de hauteur importante à son emplacement.

3.1.2 Caractérisation du front

Grâce à la méthode de détection optique mise en place (voir chapitre 2), le profil d'étalement suivant une coupe radiale peut être établi au cours du temps. Nous allons comparer les images de la goutte contenant de la surfactine à différents instants avec les profils de pente et de hauteur reconstruits. En premier lieu, la surface du gel seule, avant dépôt d'une goutte (fig.3.2) est investiguée, les petites fluctutations perceptibles dans le profil de pente constituent un bruit inhérent à la fois à la méthode de détection mais aussi à la rugosité de la surface du gel qui n'est pas parfaitement lisse. Toutefois ce bruit reste très faible (inférieure à 5.10^{-3} rad) par rapport aux pentes locales mesurées ultérieurement.

A l'instant t= 0 s, la goutte est déposée sur le substrat (fig. 3.3), le profil de pente, indique distinctement les bords de la goutte. Il s'agit des deux extrema : en + 0,18 rad et en - 0,19 rad. Le domaine de pente correspondant à la goutte est situé entre ces deux valeurs extrêmes. L'évolution linéaire de la pente dans cette région indique une courbure approximativement constante le long de la coupe radiale. Le plateau de valeurs de pente observé aux extrémités de la goutte est dû à l'extrapolation de la méthode de reconstruction. A l'extérieur de cette zone, le profil de pente ne montre pratiquement aucune variation, la surface du gel n'est donc pas perturbée par la présence de la goutte.

A t = 22 s, (fig.3.4), la goutte s'est étalée spontanément depuis son dépôt à la surface du gel. La déformation du motif de la grille en amont de la goutte indique la présence d'un second front. Comme indiqué sur l'image (3.4), il est possible de définir trois régions : la région 1 correspond au domaine de la goutte liquide, la région 2 correspond à l'intervalle entre le bord de la goutte et le bord du front et la région 3 correspond à la surface du gel à l'extérieur du front. Cette délimitation est reportée sur le profil de pente correspondant. La région 2 est comprise entre les deux pics principaux, marquant les bords de la goutte et les deux nouveaux pics apparus de part et d'autre à l'extérieur des bords de la goutte. Ces deux nouveaux pics qui indiquent une variation brutale de la pente, sont en fait la signature des bords du front observés sur la photo. Contrairement à la situation à t = 0 s, une déformation du substrat à l'extérieur de la goutte (région 3) et du front est notable : la pente augmente (respectivement diminue) sensiblement quelques centaines de micromètres avant les bords du front. Les extrema sont moins élevés, dénotant une variation de courbure plus faible qu'en t = 0 s : la goutte est donc moins courbée, plus aplatie. D'autres part, la région 1 s'est étendue entre t = 0 s et t = 22 s. Ces deux observations indiquent un étalement de la goutte sur cet intervalle de temps, comme on peut le constater à l'oeil nu sur les images à t=0s (fig. 3.3) et t = 22s (fig. 3.4).

A t = 70 s, on remarque visuellement que le front s'est propagé et que la goutte s'est rétractée (fig. 3.5). Le profil de pente confirme bien cette tendance : la région 2 s'est étendue par rapport à sa position à t = 22 s et la région 1, quant à elle, s'est beaucoup réduite. Les extrema ont des valeurs plus faibles que précédemment. Dans la région 2, la pente forme un plateau de valeurs élevées, indiquant un gonflement du gel qui croît linéairement entre le front et la goutte. Cette observation se vérifie sur le profil de hauteur reconstruit où l'on perçoit une première rupture marquant la position du front, puis une croissance constante de la hauteur et enfin une seconde rupture dûe au bord de la goutte.

A t = 300 s, la goutte d'eau s'est complètement rétractée et a disparu. Seul reste le front circulaire qui continue à se propager (fig. 3.6). Comme on peut le voir sur le profil de pente, seuls les pics marquant les bords du front sont encore distinguables. Le front évolue maintenant de manière très lente. Le profil de hauteur révèle un gonflement du gel d'épaisseur quasi constante. Cette tache circulaire qui évoque la forme d'un "pancake" peut ainsi continuer à se propager et couvrir une surface de plus en plus grande pendant plusieurs heures.

La question de la répartition du surfactant à un importance centrale dans la compréhension du phénomène. Certains modèles [31, 86] d'étalement sur couches liquides ont montré que la variation du nombre de Peclet pour le surfactant modifie la dynamique d'étalement. Nous ne sommes pas en mesure de sonder quantitativement la zone concernée par l'étalement. En revanche quelques expériences très simples vont permettre qualitativement de se faire une idée de la présence de surfactants dans ces zones. L'idée est de sonder une zone par l'extension d'une goutte d'eau dans celle-ci

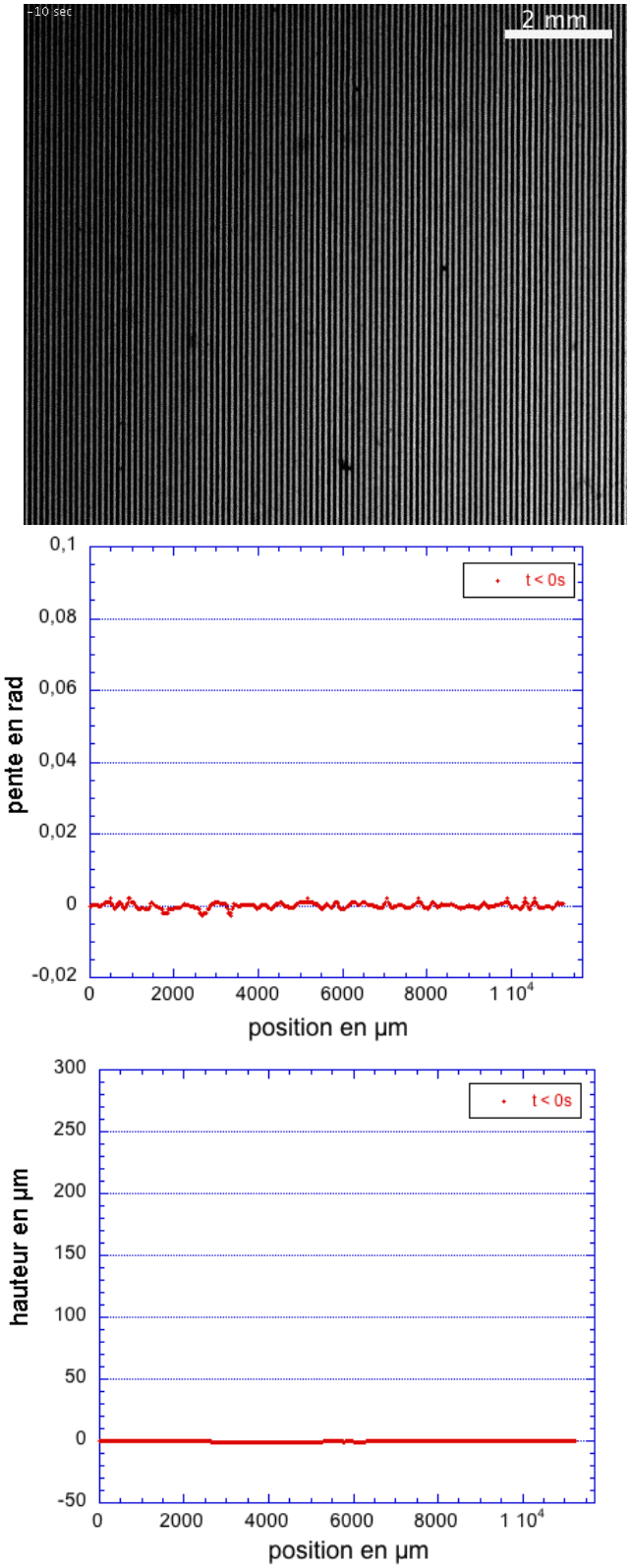


FIG. 3.2: De haut en bas, respectivement : image de la surface d'un gel avant le dépôt d'une goutte (t<0 s) ; profils de pente et de hauteur d'une coupe horizontale issus de l'image à t<0 s

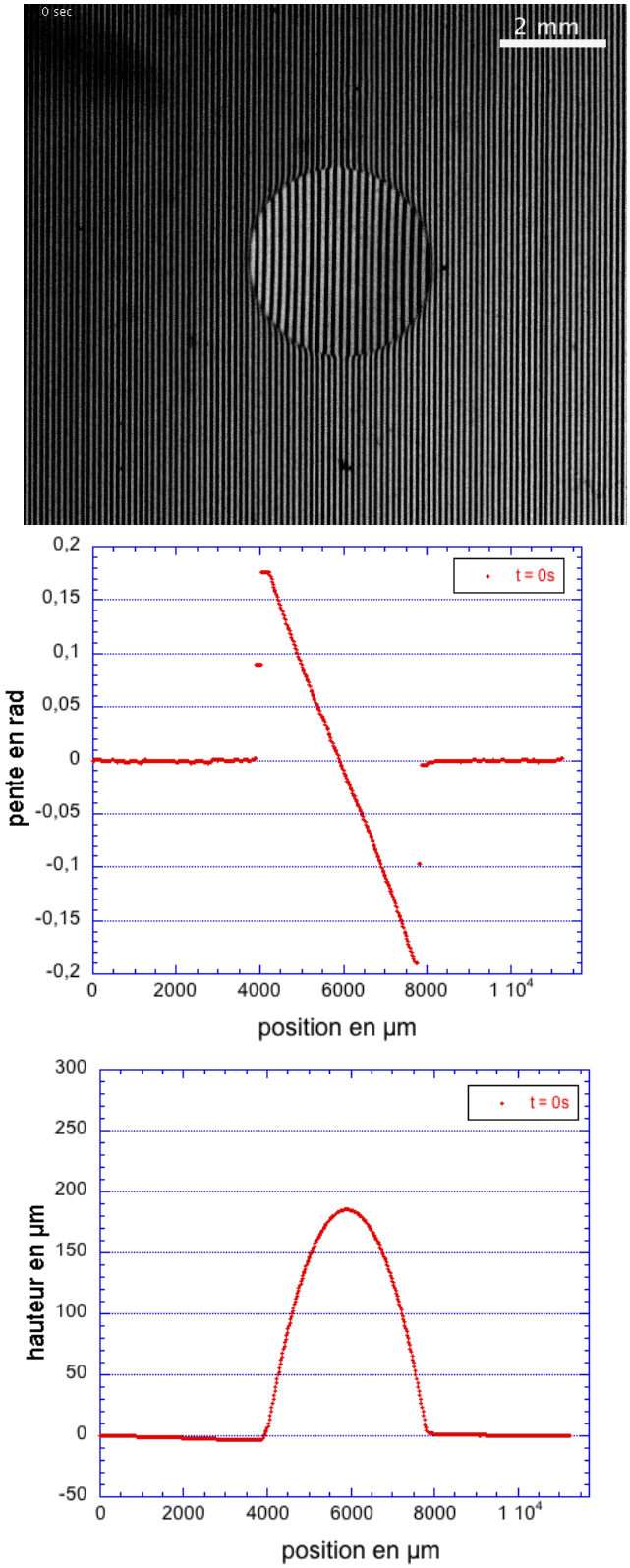


FIG. 3.3: De haut en bas, respectivement : image d'une goutte de1 μL de surfactine à 1 g/L à la surface d'un gel milieu LB à 0,7 %, au moment du dépôt (t = 0 s) ; profils de pente et de hauteur d'une coupe horizontale passant par le centre de la goutte, issus de l'image à t = 0 s

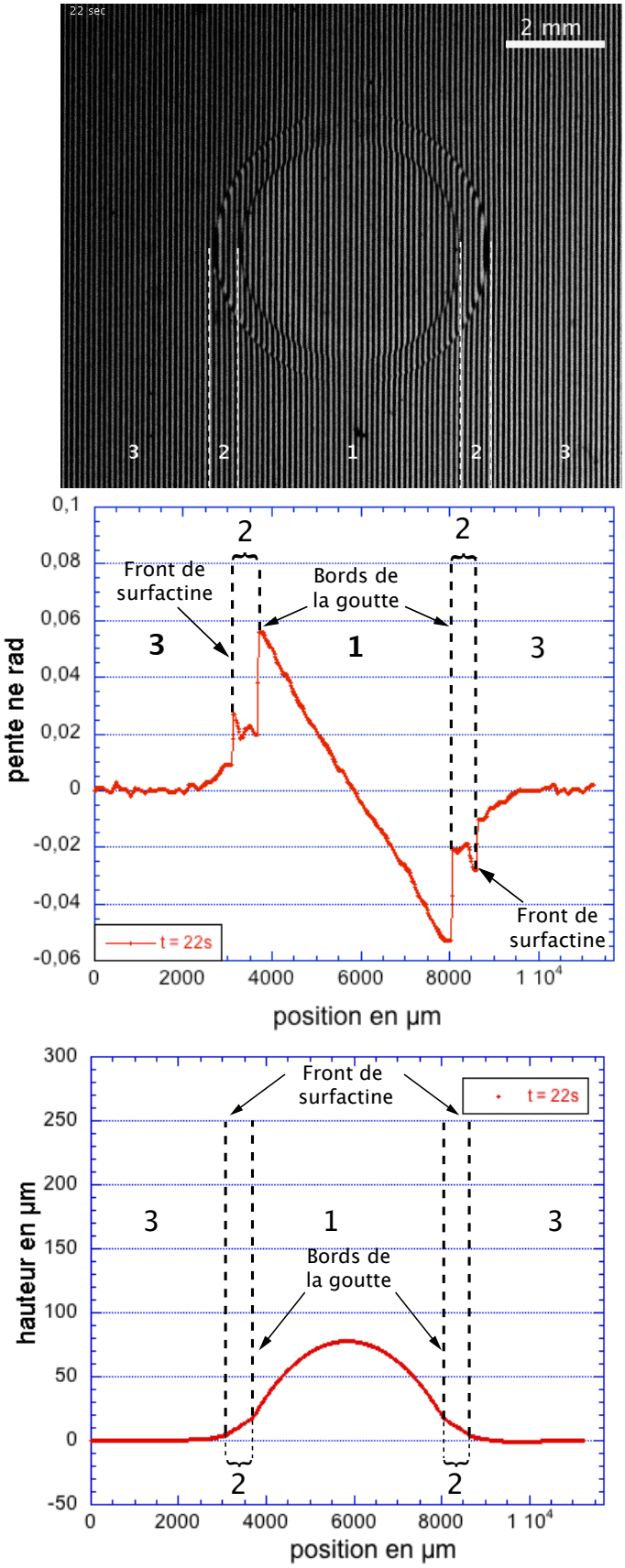


FIG. 3.4: De haut en bas, respectivement : image d'une goutte de1 μL de surfactine à 1 g/L à la surface d'un gel de milieu LB à 0,7 %, à t = 22 s ; profils de pente et de hauteur d'une coupe horizontale passant par le centre de la goutte, issus de l'image à t = 22 s. Les régions numérotés sur les profils correspondent aux régions de numéro identique sur l'image

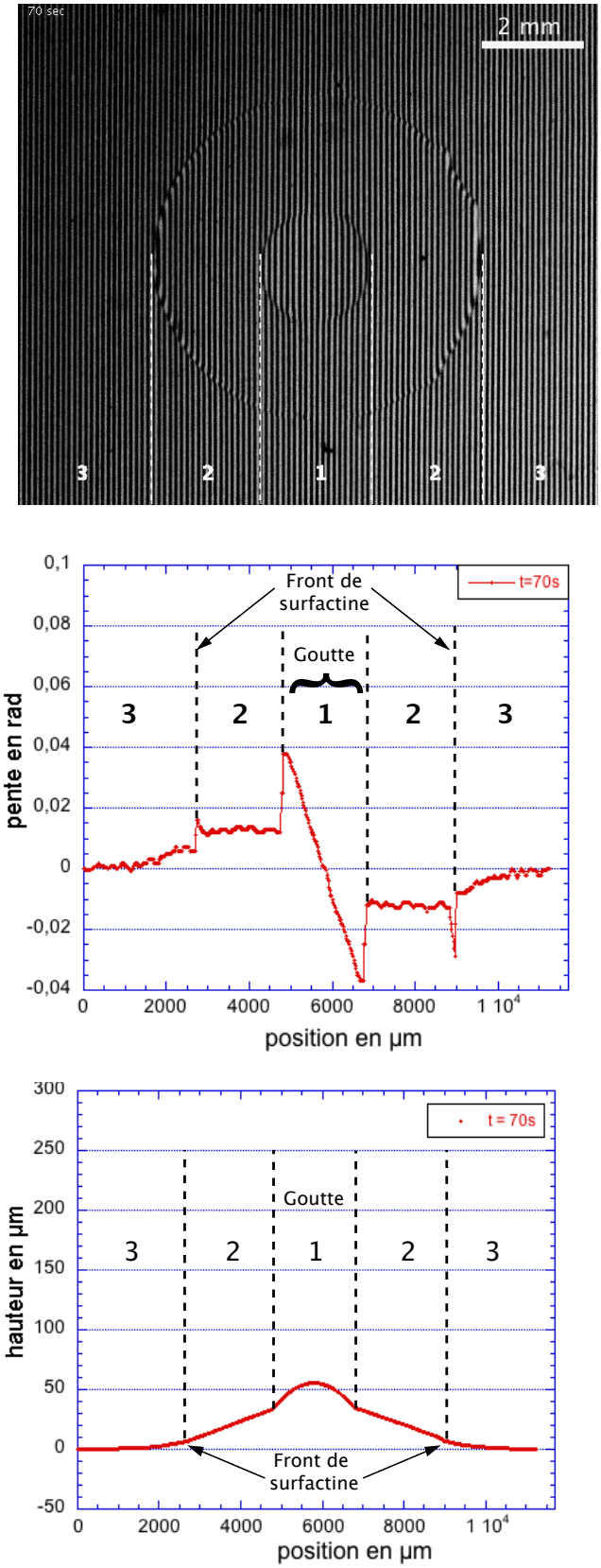


FIG. 3.5: De haut en bas, respectivement : image d'une goutte d'1 μL de surfactine à 1 g/L à la surface d'un gel milieu LB à 0,7 %, à t = 70 s ; profils de pente et de hauteur d'une coupe horizontale passant par le centre de la goutte, issus de l'image à t = 70 s.Les régions numérotés sur les profils correspondent aux régions de numéro identique sur l'image

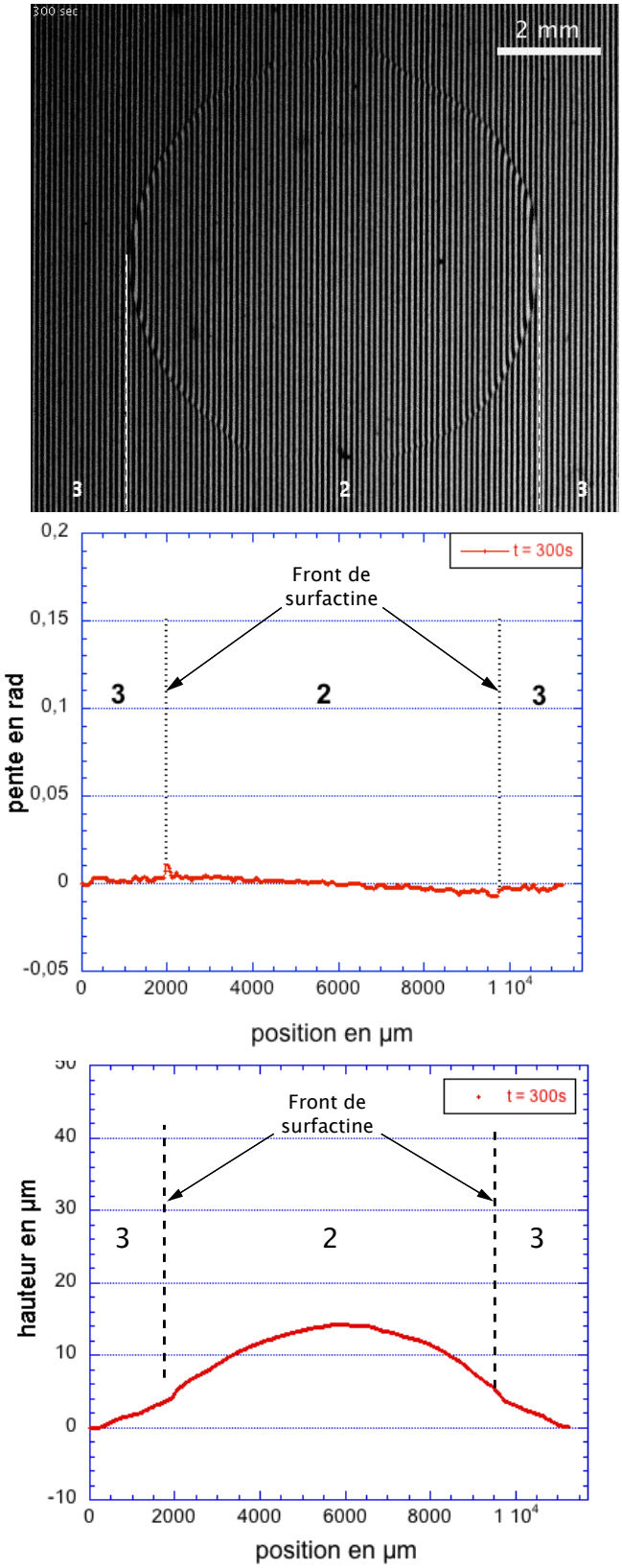


FIG. 3.6: De haut en bas, respectivement : image d'une goutte d'1 μL de surfactine à 1 g/L à la surface d'un gel milieu LB à 0,7 %, à t = 300 s ; profils de pente et de hauteur d'une coupe horizontale passant par le centre de la goutte, issus de l'image à t = 300 s.Les régions numérotés sur les profils correspondent aux régions de numéro identique sur l'image

puis de la comparer à l'extension de goutte de même volume a la surface d'un gel similaire mais vierges de tout surfactant.

La figure 3.7.a montre l'extention d'une goutte d'eau dans la zone comprise entre le bord de la goutte et le bord du front (zone 2), issue de l'étalement préalable d'une goutte de surfactine. La goutte d'eau se place spontanément en mouillage partiel et présente une extension finie. Son diametre quelques secondes après le dépôt est de 4,44 mm. A titre de comparaison, la même expérience est réalisée à la surface d'un gel de même type et de même concentration (milieu B 0,7 %) dont la surface est vierge de tout dépôt préalable . Le dépôt d'une goutte d'eau de 1 μL conduit également à une situation de mouillage partiel (cf fig. 3.7 b) mais cette fois-ci l'extension est moins élevée : le diamètre de la goutte d'eau dans cette configuration est de 2,67 mm. Concernant la région non couverte par la tache circulaire (fig. 3.7.c), le dépôt de 1 μL d'eau donne une goutte dont l'extension est plus limitée : son diamètre quelques secondes après le dépôt est de 3,63 mm.

La zone située à l'intérieur du front permet aux gouttes déposées de présenter une extension radiale presque deux fois supérieure à la même situation sur un gel non contaminé par un étalement de surfactants. Cette observation montre que la surfactine est présente dans cette zone et que le front de propagation, après dépôt d'une goutte de surfactine, contient ces molécules tensioactives. En outre, la même observation, mais dans une moindre mesure dans la région non couverte par le front indique une possible diffusion de la surfactine à l'extérieur de celui-ci. Par ailleurs, la propagation de ce front de surfactants semble s'accompagner d'un gonflement de la zone située derrière celui-ci, aussi dans la suite, nous parlerons parfois de "front de gonflement".

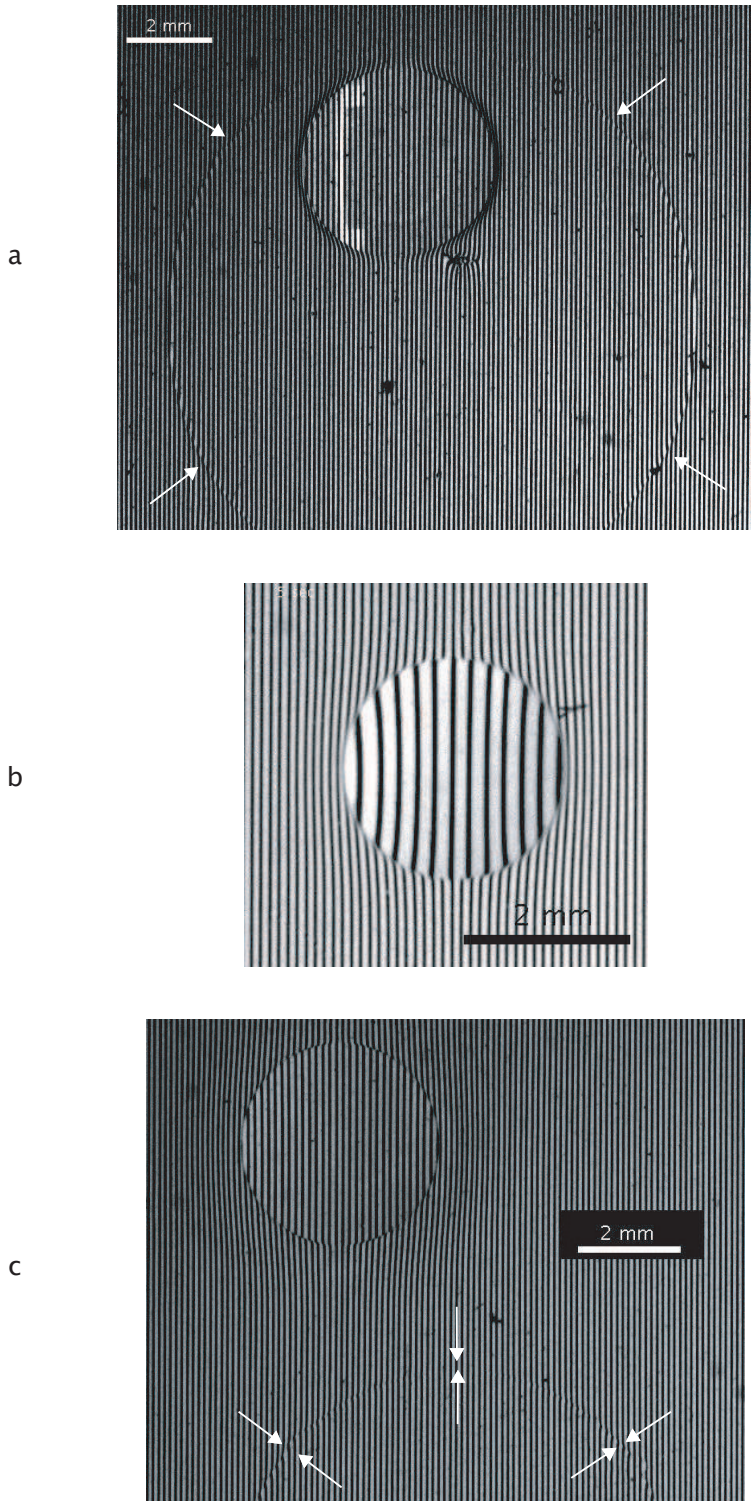


FIG. 3.7: Comparaison de l'extension d'une goutte d'eau en avant et en arrière du front de surfactine (repéré par les flèches blanches) sur milieu B 0,7 %. Figure a : dépôt d'une goutte d'eau($1\mu L$) sur la tache circulaire issue de l'étalement préalable de$1\mu L$ d'un mélange eau-surfactine à 1g sur gel B-medium 0,7 %.L^{-1}. Figure b : goutte d'eau (1 μL) sur milieu B 0,7 % vierge de tout étalement préalable. Figure c : goutte d'eau de ($1\mu L$) à la surface d'un gel milieu B 0,7 %

3.2 Propriétés du front de gonflement

Le front de propagation en amont de la goutte mis en évidence précédemment (partie 3.1.2) est une zone de gonflement qui se propage au cours de temps, nous allons étudier ici ses caractéristiques comme son amplitude ou sa vitesse

3.2.1 Structure du front

Sur le profil de pente, le bord du front se repère par un "pic" en amont de la position de la goutte. L'amplitude de ce pic reste toutefois faible, comparé à la variation de pente au bord de la goutte.

Grâce à notre méthode de reconstruction optique, il est possible de visualiser et de superposer le profil de pente d'une goutte de 1 μL de surfactine à 1 g/L en étalement à différents moments. La figure 3.8 présente trois profils de pente correspondant à la moitié d'une goutte en situation d'étalement à t = 5 s, t = 138 s et t = 308 s, et une représentation schématique du profil de hauteur correspondant. Le temps zéro correspond au dépôt de la goutte. La première courbe indique le profil de pente à t = 51 s, c'est-à-dire suffisamment longtemps après le dépôt pour que le front se soit séparé du bord de la goutte. On distingue alors nettement deux pics : le premier, très localisé (en x = 11,5 mm), correspond au bord du front ; le second, plus étalé, est la signature du bord de la goutte, la pente décroît ensuite lentement quand x diminue, jusqu'à s'annuler au centre de la goutte. La seconde courbe à t = 137 s après le dépôt montre toujours ce pic localisé qui s'est déplacé dans le sens des x croissants, mettant ainsi en évidence la vitesse de propagation du front. Le pic correspondant au bord de la goutte est quant à lui beaucoup moins visible : il s'est rétracté et affaissé. Ce changement conforte l'observation visuelle de rétraction de la goutte. En effet, une amplitude de pente plus faible correspond à une diminution de l'angle de contact. Enfin, à t = 300 s, seul le front reste détectable sur le profil de pente. Derrière le pic (sens des x décroissants), il n'y a plus de variation de pente significative qui se détache du bruit. La goutte s'est complètement résorbée et le profil de pente à cet endroit correspond, en réalité, à la surface du gel.

Il est étonnant de constater que le pic signalant le bord du front conserve une structure identique durant le processus d'étalement avec une amplitude de pente constante au cours de la propagation. Le front conserve donc sa structure tout au long du processus de propagation sur l'échelle de temps considérée (300 s). La délimitation entre goutte et surface du gel n'est pas claire et difficilement vérifiable expérimentalement, c'est pourquoi le profil de hauteur est représenté sans souci de différenciation entre les deux phases. Dans l'expérience de *Daniels et al.* [19], le mécanisme invoqué pour la propagation du surfactant consiste en une fracturation du gel et un écoulement dans les microcanaux ainsi formés. Il est possible qu'il s'agisse d'un mécanisme analogue dans notre cas, le liquide se propagerait alors dans le gel et non à sa surface.

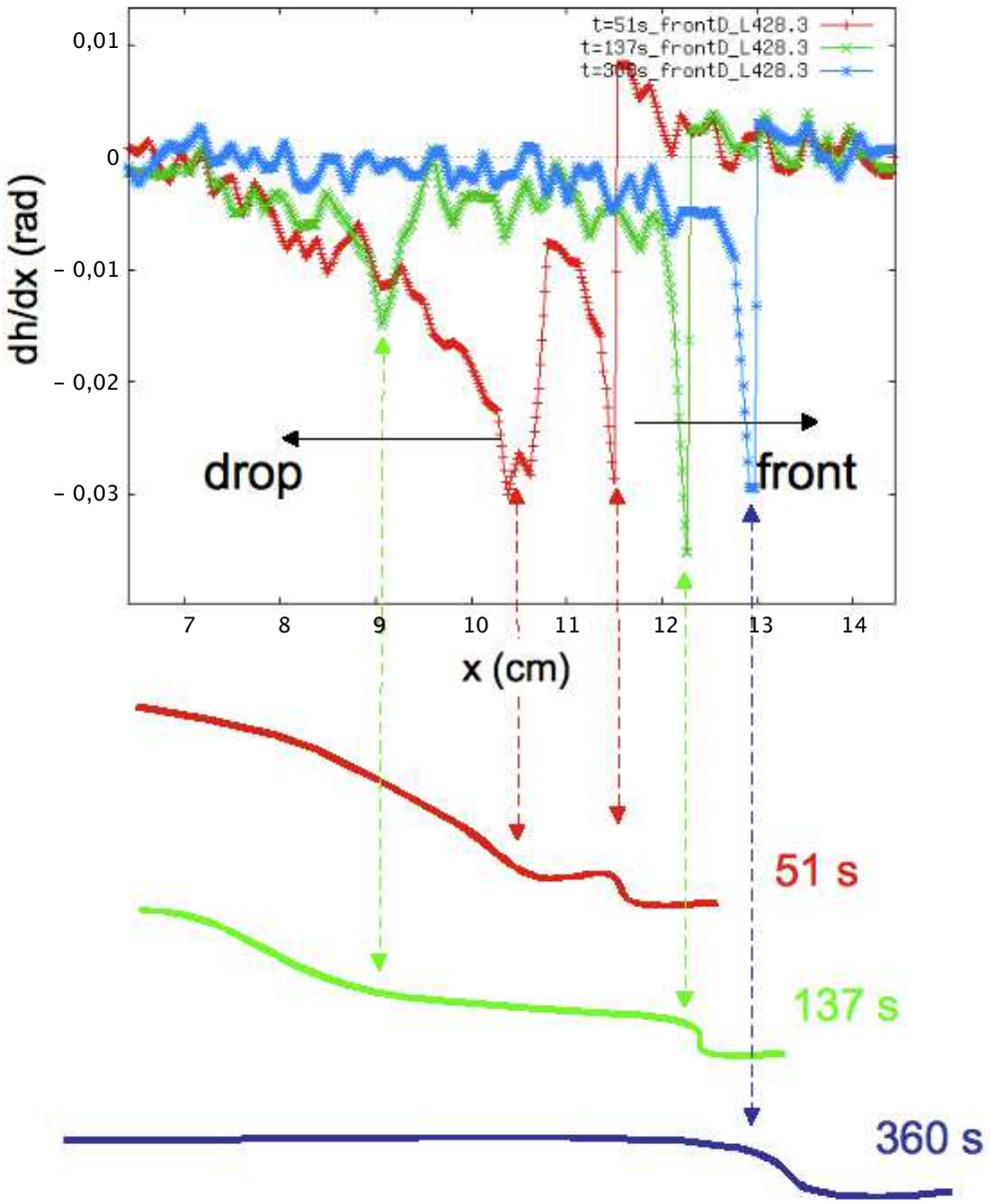


FIG. 3.8: Profils de pente de la partie droite d'une goutte (le profil de pente nul en x = 6mm correspond au centre de la goutte) de $1\mu L$ de surfactine en étalement à différents instants : t = 51 s pour la courbe rouge, t = 137 s pour la courbe verte et t = 300 s pour la courbe bleue. Pour chaque profil de pente, une représentation schématique du profil de hauteur correspondant est représenté. La rétraction de la goutte et la propagation du front au cours du temps sont ainsi visibles.

3.2.2 Amplitude du front

Précédemment, sur un profil de pente reconstruit d'une goutte de $1\mu L$ de surfactine en situation d'étalement sur un gel de milieu B à 0,7 % d'agar, nous avons pu observer que la structure du front se conserve au cours de l'étalement. On peut s'interroger sur le mode de propagation de ce front et si celui-ci est affecté par un changement des propriétés mécaniques du gel. En d'autres termes, nous allons étudier comment la structure du front varie si l'on change la concentration massique du gel en agar. La valeur maximale du pic de pente est relevée sur les profils d'étalement reconstruits. La hauteur maximale du pic de pente nous renseigne indirectement sur l'amplitude du front. Les expériences ont été conduites pour les concentrations massiques en agarose suivantes : 0,5 %, 0,7 %, 1 %, 1,25 %,et 2 % (cf fig. 3.9). Les résultats obtenus montrent une décroissance de ce maximum lorsque la concentration en agar du gel augmente. Par ailleurs, les observations sur un gel de milieu B à 2 % d'agar ne montrent aucun pic signalant la présence d'un front. Lorsque le gel est suffisamment concentré en agar, le front de gonflement ne peut plus exister.

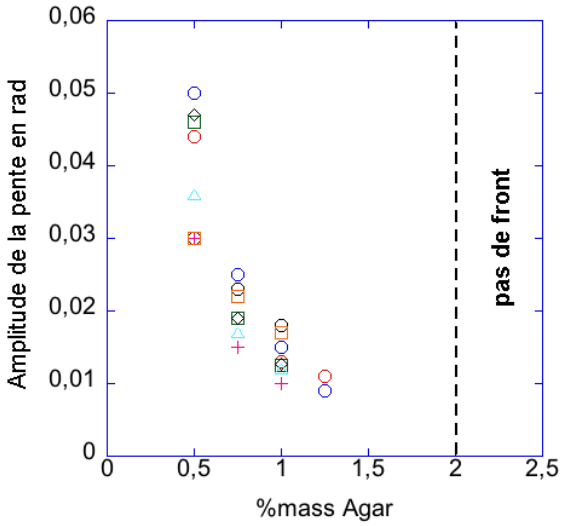


FIG. 3.9: Amplitude du pic marquant la présence du front sur le profil de pente. Une décroissance de cette amplitude est visible lorsque la concentration du gel en agar augmente. A 2 %, le front ne peut plus être détecté

3.2.3 Vitesse moyenne d'avancement du front

Puisque le changement de concentration du gel en agar modifie la structure du front, on peut s'interroger sur son influence quant à la vitesse de propagation du front. La mesure de la vitesse moyenne est préférée à la mesure de la vitesse instantanée en raison de la faible évolution de ce dernier entre deux images successives durant la

phase d'expansion du front. Les mesures de vitesses instantanées donnent tantôt une valeur faisant office de palier tantôt des valeurs nulles jusqu'à ce que le front se soit suffisamment déplacé pour qu'une variation d'aire soit décelable.

Les vitesses moyennes vont être réalisées à partir de t = 100 s après le dépôt, de sorte que le front soit bien développé et suffisamment éloigné de la goutte. Les vitesses vont être déterminées le long d'une ligne passant par le centre de la goutte, en notant la différence de position du pic sur le profil de pente toutes les 100 secondes.

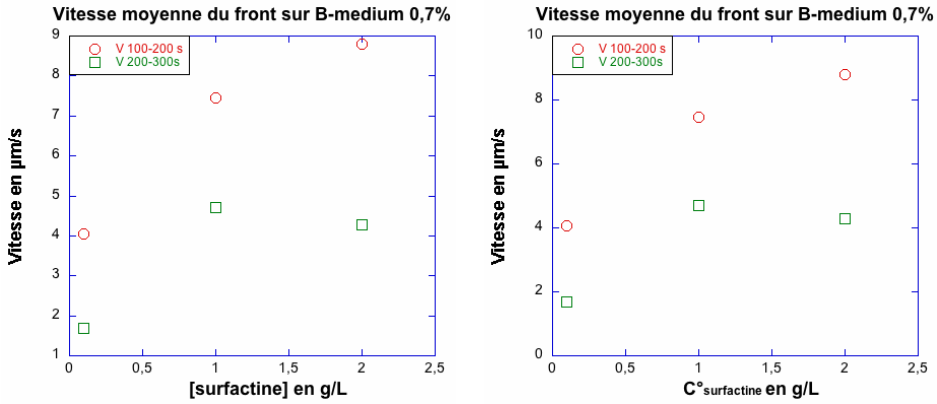


FIG. 3.10: Graphique de gauche : vitesse moyenne du front de surfactant entre t = 100 s et t = 200 s, entre t = 200 s et t = 300 s en fonction de la concentration en surfactants (0,1 g/L, 1 g/L et 2 g/L) pour une goutte de $2\mu L$ sur Bmedium 0,7 %. Graphique de droite : vitesses obtenues à partir de la moyenne des mesures de la figure de gauche

Les mesures montrent que la vitesse moyenne du front diminue lorsque la concentration en agar augmente (fig. 3.11). A l'inverse, il apparaît qu'une augmentation de la concentration de la goutte en surfactine provoque une accélération dans la propagation du front pour une concentration d'agar fixée, comme le montre la figure 3.10. Néanmoins cet effet d'accélération semble arriver à saturation lorsque la concentration en surfactine atteint 1g/L puisque les mesures effectuées à 2 g/L donnent des valeurs de vitesses moyennes très similaires.

3.2.4 Discussion : similitudes avec le "swarming"

Les observations précédentes de vitesse et d'amplitude du front sont complémentaires et pointent vers la même tendance : plus le milieu de culture est concentré en agar et plus il est difficile d'avoir un front de gonflement se propageant à la suite de l'étalement d'une goutte de surfactine. En effet, la dynamique du front et sa structure se trouvent fortement limitées sur des gels contenant plus de 1 % en masse d'agar (fig. 3.9). A 2 % le front ne se manifeste plus : il n'est plus détectable ni à l'oeil nu ni par notre méthode optique.

Il est intéressant de rapprocher cette observation de celles réalisées par D. Julkowska ([43] lors d'expériences de swarming de *B. subtilis* sur milieu de culture B

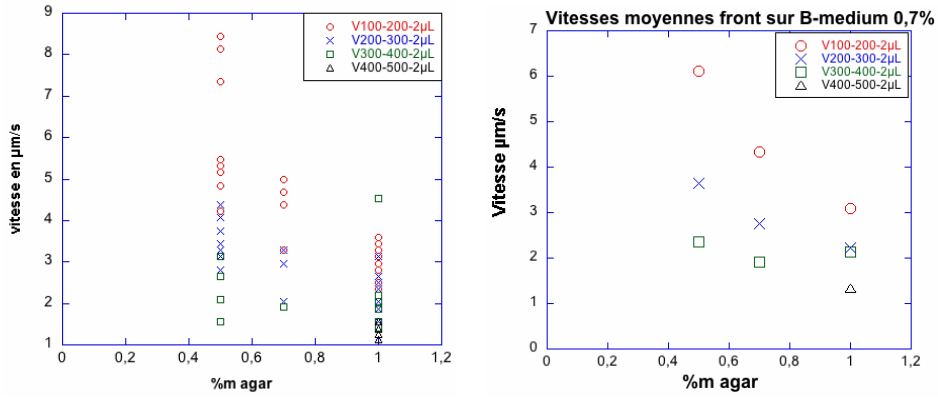


FIG. 3.11: Graphique de gauche : Vitesse moyenne du front de surfactant entre t =100 s et t = 200 s, entre t = 200 s et t = 300 s pour une goutte de $2\mu L$ à 1 g/L de surfactine. Graphique de droite : vitesses obtenues à partir de la moyenne des mesures de la figure de gauche

à différentes concentrations en agar (cf fig. 3.12). Etonnamment, on observe le même type de comportement pour le processus du swarming. La colonisation de la surface est de plus en plus limitée à mesure que l'on augmente la concentration en agar. Le swarming est complet à 0,7 %, les phases "swarm 1" et "swarm 2" se sont correctement déroulées chez la souche 3610, l'expansion de la colonie couvre l'ensemble du milieu de culture. A 1 %, le processus est interrompu après la phase de "swarm 1", la colonie n'a pas réussi à couvrir l'ensemble de la surface de culture, le changement du "pattern" de ramification tout autour de la zone colonisée pendant le "swarm 1" montre que la phase "swarm 2" n'a pu se mettre en place. Pour une concentration en agar de 1,25 %, la différence est significative : dès le départ, à t = 18 h, la forme de la colonie pendant la première phase d'expansion (swarm 1) est différente des deux cas précédents : elle n'est pas finement ramifiée et est beaucoup moins développée. A t = 36 h, la colonie s'est peu développée, elle reste localisée au centre de la boîte de culture et sa forme diffère de ce qui est observé quand le processus du swarming se déroule normalement : le processus à été stoppé prématurément dans sa première phase. Enfin, à 1,5 %, que ce soit à t= 18 h ou t = 36 h, plus aucune ramification ni branchement n'est visible ; la colonie est très peu développée et localisée autour de l'inoculum : il n'y a aucune trace de swarming.

Il apparaît donc que le développement de la colonie de bactéries aille de pair avec le développement et l'existence même du front de gonflement, puisque lorsqu'il n'existe plus de front (soit pour une concentration en agar supérieure ou égale à 2 %), le swarming devient impossible. Cette observation est intéressante car elle établit un lien fort entre le processus de swarming et la capacité des bactéries à modifier leur environnement par la production de surfactine.

L' hypothèse suivante peut être envisagée : le front dû à la présence de surfactine serait une condition necessaire à la migration des bactéries, son rôle serait alors

de préparer le terrain pour permettre aux bactéries de coloniser plus facilement la surface. Des observations réalisées par AFM sur l'état de surface d'un milieu de culture [43] avant et après dépôt d'une goutte de surfactine, montrent une diminution de la rugosité de surface une fois la surfactine étalée. Dans les hydrogels macromoléculaires à liaisons temporaires, l'eau retenue dans les pores est généralement considérée comme existant sous deux formes : l'eau liée (ce sont les molécules en interaction avec les polymères) et l'eau non liée (ce sont les molécules libres entourées d'autres molécules d'eau). La surfactine sécrétée par les bactéries peut interagir avec le réseau polymérique en surface, déliant ainsi le réseau et permettant à l'eau libre emprisonnée de venir en surface diluer localement la concentration du gel en agar en formant de cette manière un front de gonflement. Cette zone nouvellement créée est une phase où des morceaux d'assemblages polymériques sont en solution dans laquelle les bactéries peuvent se mouvoir plus facilement qu'en surface d'un gel rigide où les forces capillaires (F_c) contribuent à les y plaquer (cf fig. 3.13.a). En effet, une comparaison par ordre de grandeur entre effets capillaires et effets de gravité (P) sur une bactérie montrent à quel point la capillarité prédomine :

$$\frac{F_c}{P} = \frac{\gamma L}{\rho_{eau} V g} = \frac{4\gamma L}{\rho_{eau} \pi l^2 L g} \sim \frac{4 \times 70.10^{-3}}{10^3 \times 3 \times 10^{-12} \times 10} \sim \frac{10^{-1}}{10^{-8}} \sim 10^7 \tag{3.1}$$

Avec $L = 5\ \mu m$, la longueur d'une bactérie et $l = 1\ \mu m$ la largeur d'une bactérie. Les forces capillaires sont donc supérieures à la gravité de sept ordres de grandeur. En d'autres termes, une bactérie à la surface d'un gel aqueux est plaquée contre la surface de ce gel par une force 10.000.000 fois supérieure à son poids. La capacité des bactéries à produire un surfactant qui diminue la tension de surface par 3 (de 72 à 27 mN/m) ne suffit pas à diminuer significativement la force qui les plaquent contre le gel. Par contre, si ce surfactant permet de créer une phase dans laquelle les bactéries peuvent s'immerger et s'affranchir ainsi des forces capillaires (fig. 3.13), elles peuvent alors se mouvoir plus facilement en suivant la progression de cette phase.

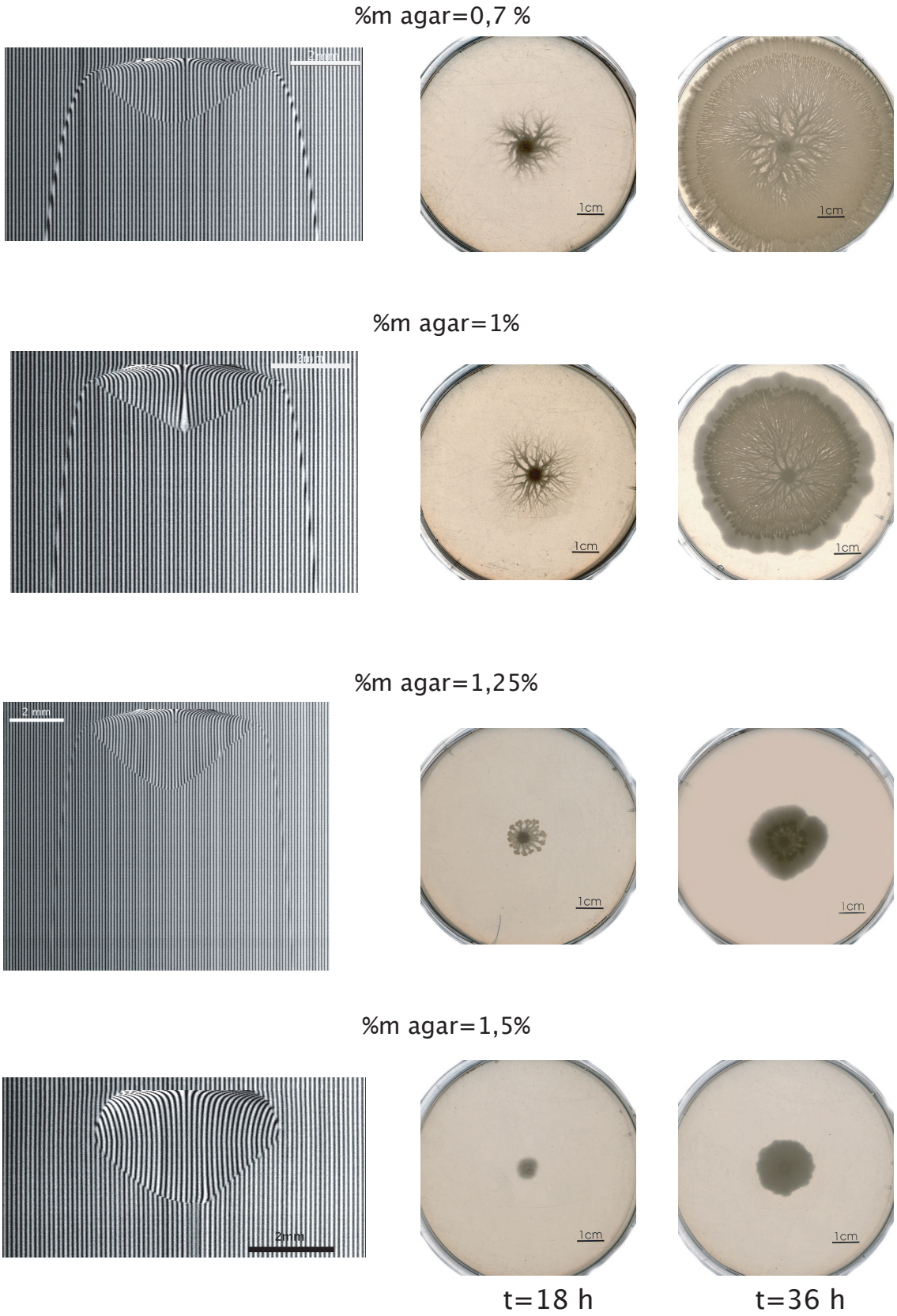


FIG. 3.12: Etat du swarming à t = 18 h et t = 36 h après inoculation de *B. subtilis* sur milieu B-medium à différentes concentrations en agar

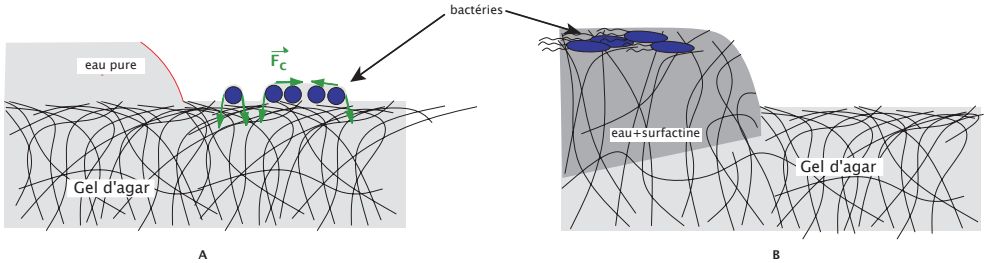


FIG. 3.13: Figure a : les bactéries sont plaquées à la surface du gel par les forces capillaires. Figure b : l'action de la surfactine sécrétée par les bactéries a permis de délier et diluer localement le réseau polymérique. Les bactéries se propagent dans cette phase qui facilite leur mouvement.

3.3 Dynamique d'étalement : aire en fonction du temps

Afin de caractériser la dynamique d'étalement d'une goutte de surfactant sur un gel d'agar, nous allons regarder comment la zone mouillée par la goutte et le front varie avec le temps.

3.3.1 Méthode de mesure

L'étalement d'une goutte de surfactine à la surface d'un gel de culture présente un étalement axisymetrique (voir fig. 3.1). La mesure de l'extension radiale lors de l'étalement semble aisée à partir du diagramme spatio-temporel. Cependant la zone d'étalement n'étant pas toujours parfaitement circulaire, il est plus judicieux d'effectuer cette mesure au cours du temps grâce à un logiciel d'analyse d'images : *ImageJ*. En ajustant un cercle aux bords du front, on obtient une mesure de l'aire du disque ainsi défini. Dans la pratique, la zone d'étalement n'est jamais parfaitement circulaire, il faut donc essayer de définir le cercle qui épouse au maximum les contours du front.

Le relevé progressif de l'aire d'étalement, effectué manuellement, est un travail qui se révèle rapidement long et fastidieux. La dynamique d'étalement, rapide dans les premières dizaines de secondes, impose une mesure pour chaque image du film (acquisition à 1 image/s). Dans la seconde partie du processus d'étalement, la dynamique beaucoup plus lente incite à n'effectuer qu'un relevé d'aire toutes les dix ou vingt secondes. Couplé à l'erreur potentielle faite par l'appréciation à l'oeil nu, cette manière de procéder peut parfois manquer de précision.

Automatiser le processus de détection de l'aire en définissant un critère strict permet de s'affranchir de ces difficultés. L'automatisation de la mesure reposera sur une reconnaissance de la forme de la zone d'étalement, puis sur la définition du critère pour obtenir le meilleur ajustement circulaire possible de cette zone.

La première étape est donc de trouver un moyen permettant d'isoler la structure du front sur l'image. Une des méthodes classiques pour faire ressortir les contours

en traitement de l'image est d'effectuer une convolution de l'image I par un filtre adéquat M. La nouvelle image I' obtenue est telle que :

$$I' = I * M \tag{3.2}$$

Avec I la matrice des pixels $a_{i,j}$ constituants l'image d'origine. M est le noyau de convolution, c'est une matrice constituée des éléments $m_(i,j)$, à choisir selon le résultat désiré. Et I' l'image obtenue par convolution de I par M. Plus formellement cette opération discrète permet de calculer la valeur de l'ensemble des pixels de la nouvelle image I' tel que :

$$I' = \sum_{i=0}^{n} \sum_{j=0}^{p} a_{i,j} \times m_{n-i,p-j} \tag{3.3}$$

Pour choisir le filtre M le mieux adapté, il convient d'observer la taille et la nature des structures. L'image est constituée d'un motif de grille formé par une alternance de franges verticales sombres et claires. La seconde structure visible est la tache axisymétrique dont la courbure du front déforme le motif de la grille. Cette déformation induite par le front provoque une rupture dans la continuité verticale des franges (3.14, image de gauche). On va donc choisir un filtre qui gomme les structures verticales mais reste sensible aux variations horizontales. On va également choisir une dimension de la fenêtre de convolution analogue à la période des franges verticales (environ 5 pixels) afin de s'assurer que l'élimination de ces dernières soit efficace. Le filtre choisi aura la structure suivante :

$$M = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & -1 & -1 & -1 \end{pmatrix}$$

Ce filtre possède le double avantage de donner une contribution nulle aux structures verticales tout en détectant les variations horizontales. Un exemple de traitement d'une image par convolution avec ce filtre est présenté fig. 3.14 (image de droite). L'image obtenue après ce traitement montre que les structures verticales ont effectivement été éliminées. L'image est ensuite contrastée puis seuillée afin d'augmenter la visibilité du front pour optimiser la détection. Seul subsiste le front circulaire et un certain bruit (taches blanches) qui peut être attribué à des défauts de surface du gel ayant la même taille caractéristique que l'épaisseur du front.

3.3.2 Dynamique d'étalement

L'étalement d'une goutte de surfactine se caractérise par une dynamique à deux temps (cf fig. 3.1) : l'étalement de la goutte puis la propagation du front. Cette tendance se retrouve sur les courbes d'aires en fonction du temps. Cette tendance se révèle plus nettement au passage à l'échelle logarithmique. Deux domaines linéaires

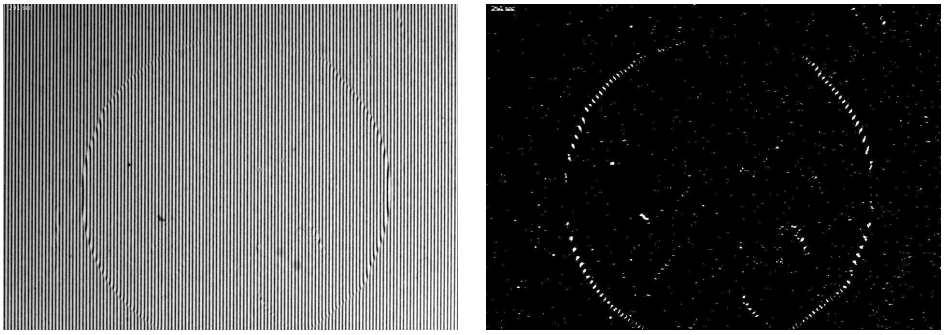


FIG. 3.14: Figure de gauche : image sans traitement. Figure de droite : image obtenue après convolution et seuillage

deviennent alors décelables et une brisure de pente marque le passage d'un régime à l'autre. Ces expansions linéaires en échelle log-log montrent un comportement en lois de puissance du temps par chacun de ces domaines tel que : $A(t) \propto A_0\, t^{\alpha}$ pour le régime d'étalement de la goutte et $A(t) \propto A_0\, t^{\beta}$ pour le régime de propagation du front. Avec $A(t)$ l'aire au temps t et A_0, l'aire initiale au moment du dépôt de la goutte

3.3.3 Influence de la concentration du gel

Les mesures sont réalisées sur le milieu de culture B pour différentes concentrations en agarose. Pour chaque expérience, une goutte est déposée à la surface du gel, puis l'aire d'étalement est mesurée en fonction du temps, soit par la méthode décrite précédemment, soit manuellement en délimitant la zone par un cercle ou une ellipse. Les courbes aires en fonction du temps peuvent ainsi être tracées (cf fig. 3.15).

Les représentations logarithmiques permettent de mettre en évidence les différents régimes d'étalement. L'allure générale des courbes d'étalement change pour un gel de milieu B, concentré en agarose à 2 %. Ceci est dû au fait qu'aucun front n'a pu être observé pour des gels aussi concentrés. Le décroissance rapide mesurée alors correspond à la rétraction de la goutte jusqu'à sa résorption complète. Le tableau 3.1 présente les exposants moyens mesurés pour chaque régime en fonction de la concentration du gel en agar. Dans les deux régimes d'étalement (gouttes et front) l'exposant décroît à mesure que la concentration en agar augmente. Comme le montre la figure 3.16, dans le cas du régime d'étalement du front, la diminution de l'exposant est plus faible mais aussi plus régulière et la dispersion des mesures pour une même concentration est plus faible .

Le changement de la concentration du gel en agar influe donc sur la dynamique des deux régimes. Deux pistes pour expliquer ce phénomène sont privilégiées. La première concerne la variation des propriétés mécaniques du gel. L'augmentation de la rigidité du gel pourrait perturber la dynamique d'étalement en agissant comme un inhibiteur de ce processus. La seconde hypothèse porte sur le changement de l'état de surface

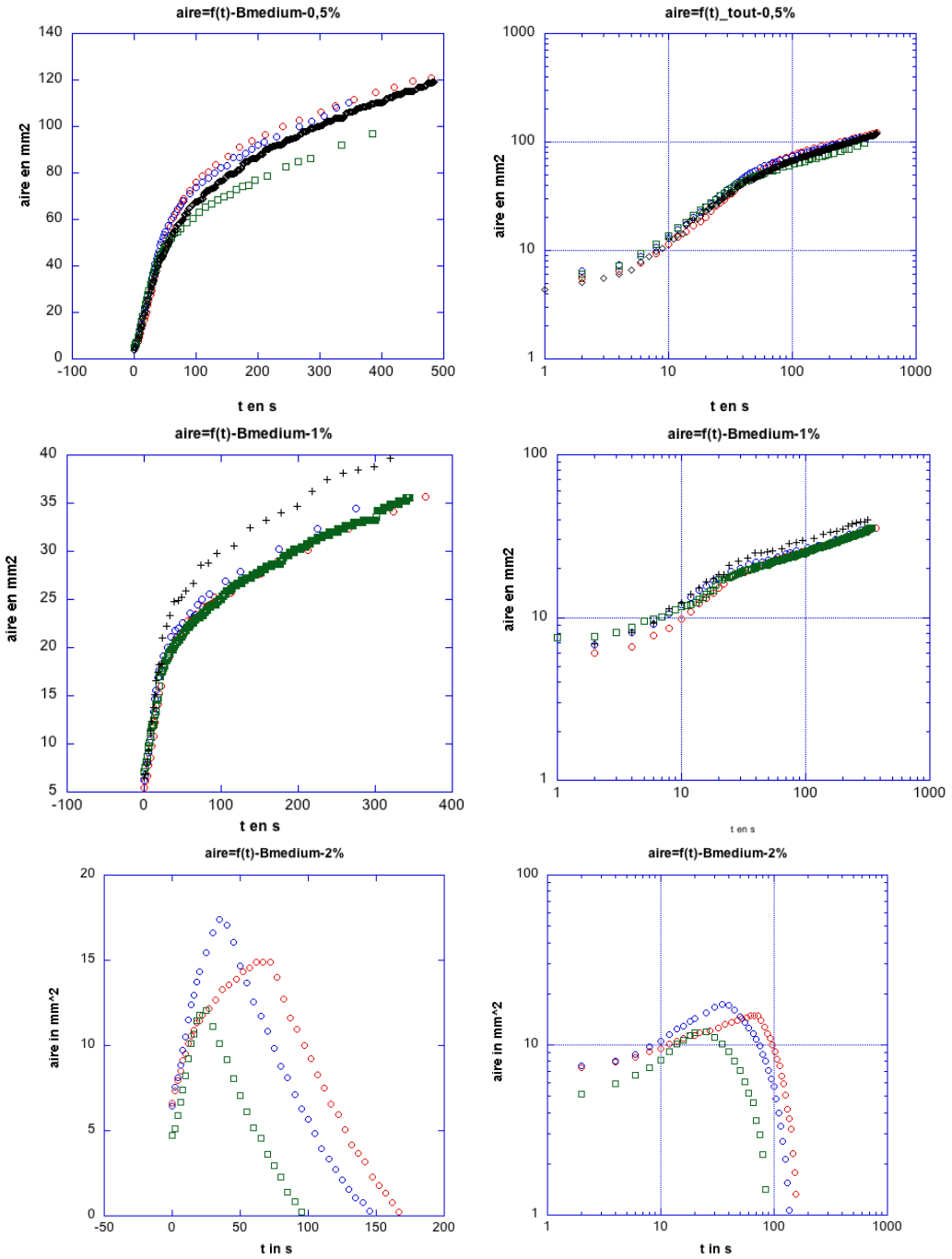


FIG. 3.15: Aires en fonction du temps pour étalement de gouttes de 1 μL de surfactine à 1 g/L sur gels de milieu B à différentes concentrations : 0,5 %, 1 %, 2 %. Le passage à la représentation logarithmique (figures de droite) montre l'existence de deux régimes d'étalement. Pour les gels à 2 %, l'aspect des courbes est différent à cause de l'absence du front : les gouttes s'étalent et se rétractent.

des gels. Des expériences récentes d'AFM ([43]) ont montré qu'une augmentation de la concentration en agar pour un gel s'accompagnait d'une augmentation de la rugosité de surface. Or, une surface plus rugueuse a davantage de chances de piéger la ligne de contact durant l'étalement.

TAB. 3.1: Exposants moyens d'étalement mesurés pour l'étalement de gouttes de $1\mu L$ de surfactine à 1g/L et la propagation du front pour différentes concentrations massiques du milieu B-medium en agar.

m % en agar	exposant étalement de la goutte : α	exposant propagation du front β
0,5	0,88 ± 0,05	0,33 ± 0,01
0,70	0,73 ± 0,05	0,3 ± 0,02
1	0,55 ± 0,09	0,25 ± 0,01
1,25	0,68 ± 0,1	0,23 ± 0,02
2	0,35 ± 0,1	

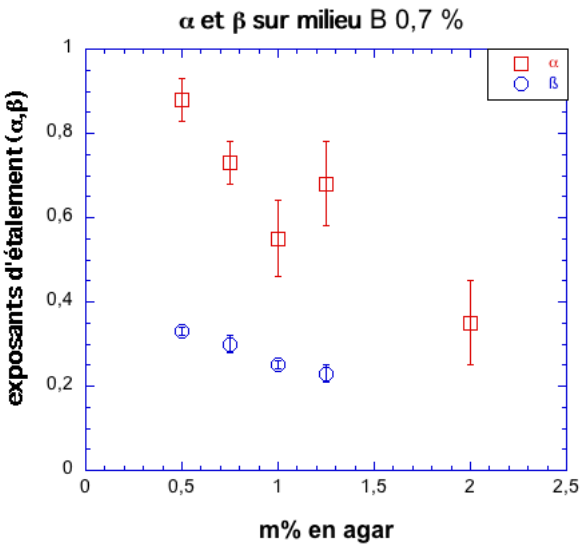


FIG. 3.16: Exposants d'étalement moyens α et β déterminés pour l'étalement d"une goutte de 1 μL de surfactine à 1 g/L sur gel B-medium 0,7 %

3.3.4 Influence du volume de la goutte déposée

L'influence de la quantité initiale de liquide et de surfactant disponible pour l'étalement est inspectée en faisant varier le volume de goutte déposé. Les mesures sont réalisées avec des gouttes de 2 μL de surfactine à 1 $g.L^{-1}$. Les courbes

d'étalement sont présentées fig. (3.18). Les exposants des deux régimes d'étalement sont présentés sur le tableau 3.2. Les exposants mesurés présentent la même décroissance que celle observée pour les gouttes de 1 μL (voir fig. 3.17) avec l'augmentation de la concentration en agar. Pour une concentration d'agar donnée, les exposants relevés ont des valeurs très proches, aussi bien pour les gouttes de1 μL que de 2 μL. Il n'y a donc pas d'effet notable sur la dynamique lorsque le volume déposé est doublé.

TAB. 3.2: Exposants moyens d'étalement mesurés pour l'étalement de gouttes de 2 μL de surfactine à 1 g/L et la propagation du front pour différentes concentrations massiques du milieu B-medium en agar.

m % en agar	exposant étalement de la goutte : α	exposant propagation du front : β
0,5	0,83 ± 0,1	0,32 ± 0,01
0,70	0,73 ± 0,03	0,26 ± 0,01
1	0,67 ± 0,05	0,24 ± 0,01
1,25	0,68 ± 0,04	0,20 ± 0,005

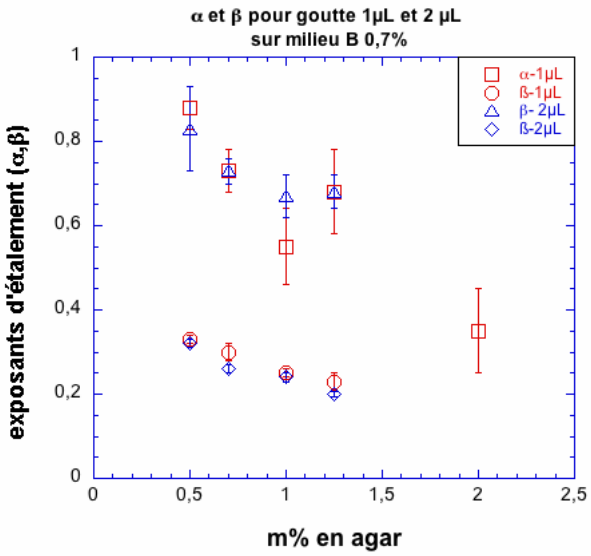


FIG. 3.17: Exposants α et β pour l'étalement de gouttes de 1 μL et 2 μL de surfactine à 1g/L pour différentes concentrations massiques du milieu B en agar.

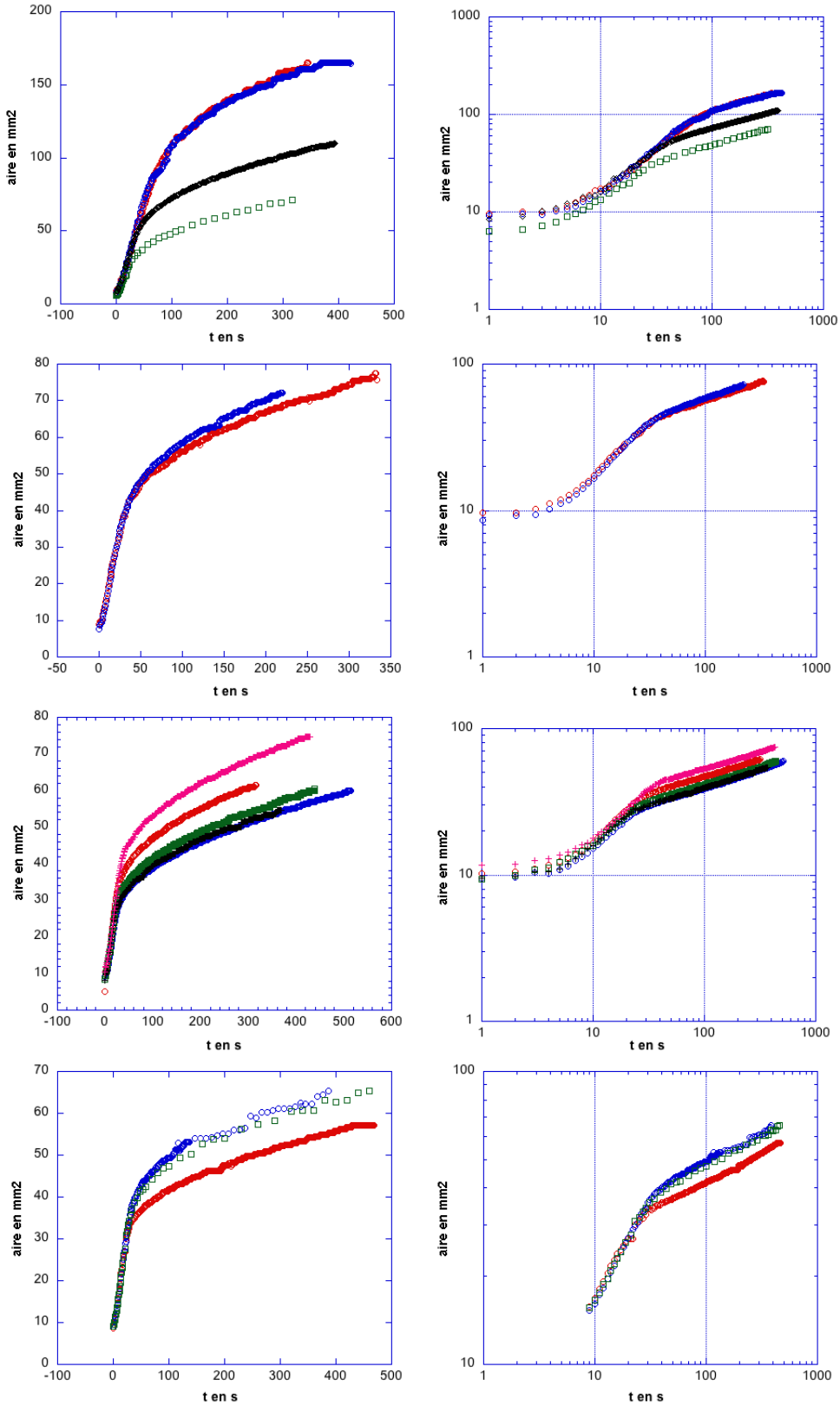


FIG. 3.18: Aire en fonction du temps pour étalement de gouttes de 1 μL de surfactine à 1 g/L sur gels de milieu B à différentes concentrations : 0,5 %, 0,75 %, 1 % et 1,25 %. Le passage à la représentation logarithmique (figures de droite) montre l'existence de deux régimes d'étalement

3.3.5 Influence de la concentration en surfactant

A présent, nous nous intéressons à la quantité de surfactant disponible dans une goutte de même volume. Les autres expériences d'étalement sur gel [19, 47, 78] montrent qu'une variation de tension de surface pour la goutte déposée ne modifie pas la valeur de l'exposant. Afin de quantifier un éventuel effet de la concentration en surfactant sur la dynamique d'étalement, nous allons faire varier la concentration en surfactine d'une goutte de 1 μL sur un gel de milieu B à 0,7 % d'agar. Les exposants moyens mesurés sont présentés sur le tableau 3.3. Bien que la dispersion dans la mesure de α soit assez importante, celui-ci ne semble pas affecté par le changement de concentration en surfactine. Par contre, une légère tendance à l'augmentation de β est perceptible lorsque le surfactant est plus concentré (de 0,29 pour une goutte à 0,1 g.L^{-1} de surfactine jusquà 0,44 pour une goutte à 2 g.L^{-1} de surfactine). La dynamique du front apparaît donc comme sensible à la quantité de surfactant disponible alors que la dynamique d'étalement de la goutte, quant à elle, n'en dépend pas.

La même expérience est réalisée sur un gel de milieu LB à une concentration en agar également de 0,7 %. Les exposants moyens de chaque régime sont établis à partir des courbes d'étalement (voir tableau 3.4). L'écart constaté par rapport aux exposants moyens obtenus sur un gel de milieu B à concentration en agar identique est notable (cf fig. 3.19). En ce qui concerne le domaine d'étalement de la goutte, il existe approximativement un facteur 2 entre l' exposant α relevé pour le milieu B et le milieu LB. Une différence est également visible pour l' exposant β : la tendance à l'augmentation de ceux-ci lorsque la concentration en surfactine augmente est bien visible mais moins marquée que dans le cas du B-medium. Il apparaît donc que les exposants des régimes d'étalement α et β ne présentent pas un caractère universel puisqu'ils varient d'un milieu de culture à l'autre bien que ceux-ci présentent une même concentration en agar. Puisque que leurs propriétés mécaniques est identique, il semble que la composition chimique de ces milieux de cultures joue un rôle clef dans le dynamique d'étalement de surfactant à leur surface.

TAB. 3.3: Exposants d'étalement pour une goutte de 1 μL à différentes concentrations en surfactine sur gel de milieu B à 0,7 %.

	milieu B 0,7 %	
Concentration en surfactine g/L	Exposant étalement de la goutte : α	Exposant propagation du front : β
0,1	1,04 ± 0,05	0,29 ± 0,02
0,25	0,75 ± 0,12	0,35 ± 0,06
0,5	0,9 ± 0,1	0,39 ± 0,03
1	0,83 ± 0,05	0,39 ± 0,04
2	0,85 ± 0,1	0,44 ± 0,05

TAB. 3.4: Exposants d'étalement pour une goutte de 1 μL à différentes concentrations en surfactine sur gel milieu LB 0,7 %.

	milieu LB 0,7 %	
Concentration en surfactine g/L	Exposant étalement de la goutte : α	Exposant propagation du front : β
0,1	0,54 ± 0,1	0,24 ± 0,01
0,25	0,36 ± 0,1	0,29 ± 0,04
0,5	0,5 ± 0,04	0,3 ± 0,01
1	0,45 ± 0,05	0,32 ± 0,06
2	0,27 ± 0,08	0,33 ± 0,05

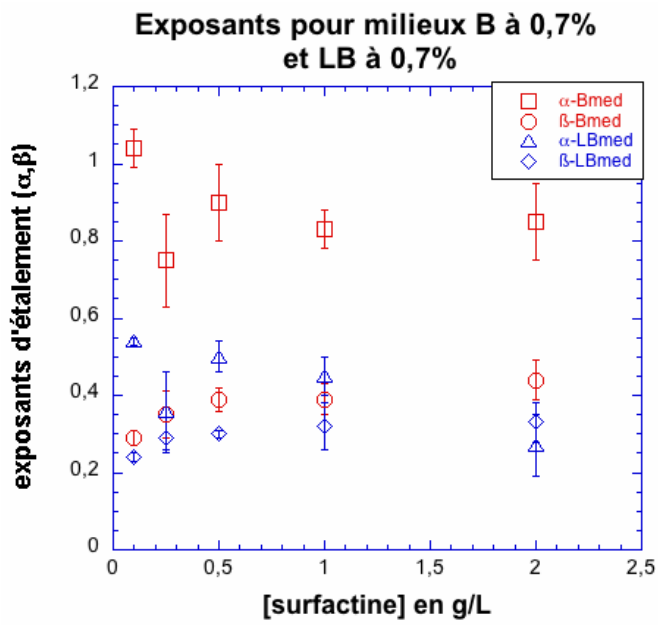


FIG. 3.19: Exposants d'étalement moyens α et β d'une goutte de 1 μL à différentes concentrations en surfactine obtenus sur les milieux B à 0,7 % et LB à 0,7 %. L'écart observé entre les valeurs des exposants pour ces deux milieux montre que la dynamique d'étalement sur des gels de même concentration en agar mais de composition chimique différente n'est pas universelle. Alors que α décroît avec la concentration en agar, β quant à lui augmente.

3.3.6 Discussion

La littérature est richement fournie en études concernant l'étalement de liquides non-volatiles et non réactifs sur des surfaces liquides ou solides. L'étalement de surfactants a également été beaucoup étudié sur support liquide et solide. Les solutions polymères et les gels se situent entre le comportement d'un solide et d'un liquide notamment à cause de leur composante élastique très marquée qui est absente chez les liquides et qui est très limitée chez les solides. Etonnament, peu d'études se sont intéressées à l'étalement sur ces substrats aux propriétés viscoélastiques. Les expériences d'étalement de gouttes à la surface de gels montrent bien souvent un caractère axisymétrique (*Kaneko et al.* [47] *Szabó et al.* [78]) mais peuvent aussi présenter des formes étoilées nommées "starburst" ou "wispy drops" comme mentionné par *Daniels et al.* [19]

Parmi les études traitant de l'étalement sur gels, la majeure partie porte sur l'étalement de liquides à faible tension de surface comme c'est le cas pour *Kaneko et al.* et *Szabo et al.*. Le cas d'étalement de solutions de surfactants est encore plus rare et seuls les travaux récents de *Daniels et al.* explorent cette voie. Il faut cependant noter que ces expériences sont réalisées sur des gels très faiblement concentrés en agar (la concentration massique varie de 0,04 % à 0,16 %). L'exposant caractérisant la dynamique d'étalement semble être universel et la valeur mesurée est de 0,75 quelque soit la concentration d'agar, la tension de surface de la goutte ou encore la taille de la goutte déposée. Ces gels "dilués" sont très fragiles, se déforment très facilement et résistent très peu à l'écoulement lorsque l'on incline la coupelle. Les propriétés viscoélastiques de ce type de gel sont par conséquent bien différentes de celles des gels que nous avons utilisés qui présentent une résistance totale à l'écoulement. Par ailleurs, le mécanisme même de diffusion du surfactant proposé par les auteurs semble différent du nôtre, puisqu'ils évoquent une propagation dans le gel par fracturation, ajoutant ainsi une composante dissipative supplémentaire.

Les mesures effectuées par *Kaneko et al.* et *Szabó et al.* sont réalisées sur des gels de poly-2acrylamido-2methylpropanesulfonic acid (PAMPS). Les deux articles proposent une étude de la dynamique d'étalement de l'éthanol et du tetrahydrofurane (THF) dans le cas de *Szabó*, et de l'éthanol et de solution mixtes d'huiles silicone et de diethyl ether pour *Kaneko*. Les exposants d'étalement sont déterminés dans chaque cas. Pour *Szabó* une valeur proche de 0,5 est relevée pour l'étalement de l'éthanol et du THF quelque soit la concentration du gel. *Kaneko*, quant à lui, indique deux valeurs distinctes de l'exposant suivant le caractère miscible du liquide étalé avec le solvant du gel : 0,3 pour les fluides non-miscible (solutions huile silicone + diethyl ether) et 0,45 pour les miscibles (éthanol), indépendamment de la concentration du gel. Les résultats de *Kaneko* confirment les mesures de *Szabó* pour les liquides miscibles. Contrairement à ces observations, dans notre cas, les exposants d'étalement pour la goutte montrent une certaine sensibilité à la concentration du gel en polymères. Il est probable que cette différence s'explique par la nature même des gels utilisés : chimique pour *Szabó* et *Kaneko*, physique dans nos expériences. *Kaneko* mentionne qu'une variation de l'exposant est observée sur les solution PAMPS dont le comportement

viscoélastique varie avec la concentration en polymère : plus la solution est concentrée et plus le caractère élastique s'affirme au détriment du caractère visqueux. Un gel physique est constitué d'un enchevêtrement de polymères qui piègent le solvant. A la différence du gel chimique, il n'est pas "réticulé". Sa nature le situe donc entre la solution de polymère liquide et le gel chimique polymérisé. Il n'est pas impossible que cette variation de l'exposant soit à relié à la nature même du gel.

Les mesures *In situ* effectuées par l'équipe de S. Séror [25], par carottage de petits cylindres de gel indiquent des concentrations en surfactine de l'ordre de 10^{-6} mol.L^{-1} soit une concentration massique de l'ordre de 10^{-3} g.L^{-1}, si l'on prend pour masse molaire de la surfactine la valeur donnée par le fabriquant Sigma Aldrich : M_{surf}[1] = 1036,34 g.mol^{-1}. Leur méthode de synthèse par obtention à partir de bactéries *B. subtilis* permet d'espérer que la valeur de la masse molaire si elle n'est pas rigoureusement exacte (puisqu'elle dépendra a priori du ration de concentration entre surfactines C13, C14 et C15), en est néanmoins assez proche. Cette concentration *In situ* semble faible comparée aux concentrations utilisées dans nos expériences. Il faut toutefois noter que la méthode utilisée pour determiner la concentration *In situ* [25], donne le ratio de quantité de surfactine détectée par rapport au volume de matière de l'échantillon : la concentration ainsi donnée est déterminée pour le volume de gel prélevé. Or la surfactine est à priori localisée en surface du gel. Pour obtenir la concentration *In situ* réelle il faut donc ramener le calcul de la concentration volumique sur la hauteur h réelle concernée par l'étalement, soit h de l'ordre de 50 μm contre une hauteur de carotte de gel de 5 mm. La concentration *In situ* réelle est donc $C_{In\ situ} \sim 10^{-3} \times \frac{5.10^{-3}}{5.10^{-5}} = 10^{-1}$ g.L^{-1}. Cette valeur correspond a la limite basse des concentrations en surfactine utilisées dans nos expériences et permet donc de transposer les résultats obtenus dans le cadre du processus de swarming chez *B. subtilis* sur milieu B et LB.

3.3.7 Formulation d'un modèle d'étalement : une piste de réflexion

Nous allons essayer ici, à partir d'arguments qualitatifs simple, basés sur les processus physiques en présence, de prédire des lois de comportement du rayon de la zone d'étalement en fonction du temps. En effet, les exposants des lois de puissance que nous mesurons pour la propagation du front de surfactine semblent assez éloignés du modèle présenté par *Szabó et al* [78] qui est basé sur l'étalement de liquide a faibles tensions de surface mais ne contenant aucun surfactant

Modèle d'écoulement simple

Si l'on se place dans le cas de l'expérience de *Szabó et al.* : une goutte d'un liquide miscible s'étale spontanément sur un gel. Cette goutte est soumise à 2 forces : une effet de type Marangoni où la différence de tension de surface entre le gel et le liquide crée une force motrice tirant le liquide vers l'extérieur et une force visqueuse dissipative

[1] Données disponibles sur le site web de Sigma Aldrich ; fiche produit *surfactin*

créée par l'écoulement du liquide sur une épaisseur surfacique ζ faible, de l'ordre de grandeur d'une maille du gel. Cette localisation résulte d'une approche type modèle de Brinkman [11], la friction sur le filet polymérique limitant fortement l'expansion spatiale du profil de vitesse. En faisant le bilan dynamique de ces forces sur une tranche d'angle ψ (voir figure 3.20), nous pouvons écrire :

$$R\psi\Delta\gamma\, U = \frac{R^2}{2}\psi\,\zeta\frac{\eta}{2}\left(\frac{\partial U}{\partial z}\right)^2 \tag{3.4}$$

Avec R le rayon de la zone en étalement, $\Delta\gamma$ la différence de tension de surface entre liquide et gel, U la vitesse d'étalement, ψ l'angle de la tranche considérée, ζ la taille caractéristique d'une maille de gel

soit en écrivant $U \simeq \frac{dR}{dt} = \dot{R}$ et $\frac{\partial U}{\partial z} \simeq \frac{\dot{R}}{\zeta}$:

$$R\psi\Delta\gamma\dot{R} \simeq \frac{R^2}{2}\psi\,\zeta\frac{\eta}{2}\left(\frac{\dot{R}}{\zeta}\right)^2 \tag{3.5}$$

on arrive alors à la relation suivante :

$$4\frac{\Delta\gamma}{\eta}\zeta \simeq R\dot{R} \tag{3.6}$$

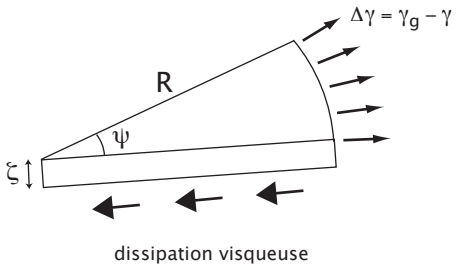


FIG. 3.20: Forces s'exerçant sur une tranche d'angle ψ d'une goutte liquide en étalement axisymmetrique sur un gel. La différence des tensions de surface entre le gel (γ_g) et le liquide (γ) tire sur ce dernier. La force de dissipation visqueuse créée par l'écoulement du liquide sur une épaisseur ζ s'oppose à cette mise en mouvement du fluide.

Par intégration nous retrouvons bien la dépendance en R(t) $\sim t^{\frac{1}{2}}$ annoncée par *Szabó et al.* Ce modèle suppose un écoulement dans le volume du gel mais ne prend pas en compte le gonflement derrière le gel observé dans nos expériences.

Prise en compte du gonflement du gel

Dans notre cas, les profils de pente et de hauteur reconstruits lors de l'étalement d'une goutte d'eau et de surfactine à la surface d'un gel d'agar mettent en évidence

un gonflement à l'emplacement du front mais aussi derrière lui. En schématisant, nous pouvons décrire cette situation par la propagation d'une épaisseur de liquide $h(t)$ plus haute que dans le cas précédent, de rayon variable au cours du temps $R(t)$, à la vitesse $U \simeq \frac{dR}{dt}$ (cf fig. 3.21.a). La conservation du volume V de la goutte au cours du processus impose :

$$V \simeq \pi R(t)^2 h(t) \tag{3.7}$$

Avec R(t) le rayon de la zone de hauteur h(t) au cours du temps et h(t) la hauteur de cette zone au cours du temps.

En réécrivant à nouveau de bilan des forces dans cette configuration, nous obtenons :

$$R\psi\Delta\gamma\dot{R} \simeq \frac{R^2}{2}\psi h\frac{\eta}{2}\left(\frac{\dot{R}}{\zeta}\right)^2 \tag{3.8}$$

soit :

$$4\frac{\Delta\gamma}{\eta}\frac{\zeta^2}{h} = R\dot{R} \tag{3.9}$$

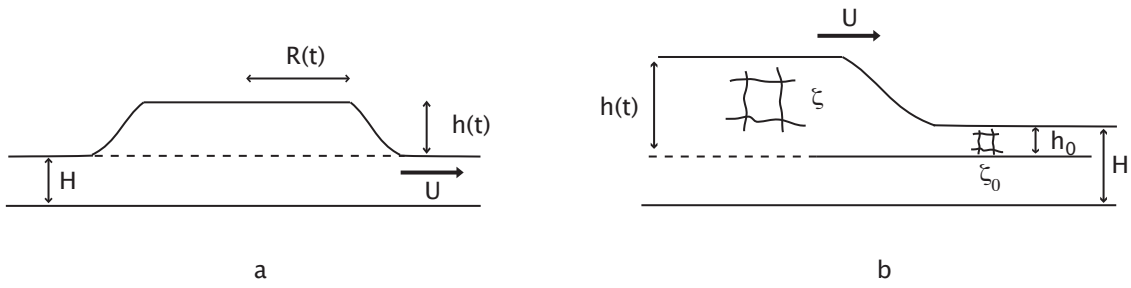


FIG. 3.21: Figure.a : représentation schématique de l'étalement par gonflement d'un front de surfactine de hauteur h(t) et de rayon R(t) variable à la vitesse U sur un gel de hauteur initiale H. Figure b : situation identique à la figure a, en considérant le gonflement de surface d'une couche d'épaisseur h_0 constituée de n mailles de taille caractéristique ζ_0. Après passage du front, le gel gonfle jusqu'à une hauteur h et les mailles se dilatent jusqu'à atteindre la taille ζ. Le nombre de mailles se conserve après gonflement.

Notons que si l'on conserve comme le proposent *Szabó et al.*, l'échelle ζ comme échelle de dissipation visqueuse, le liquide circule dans des "tubes" de diamètre hydrodynamique d'ordre ζ. A ce propos, le gonflement laisse supposer que la maille du gel ζ ne va pas rester constante et qu'elle augmente lorsque le liquide en mouvement envahit

le gel. En l'estimant proportionnelle à h(t), nous pouvons alors écrire :$\zeta \sim h(t) \sim \frac{V}{\pi R^2}$ et la relation (3.9) devient :

$$4\frac{\Delta\gamma}{\eta\pi}V = R^3\dot{R} \tag{3.10}$$

L'intégration donne, alors, une dépendance du rayon en $t^{\frac{1}{4}}$:

$$R(t) \sim \left(4\Delta\frac{\gamma}{\eta\pi}V\right)^{\frac{1}{4}} t^{\frac{1}{4}} \tag{3.11}$$

Pour essayer de préciser l'échelle ζ, on considère une zone de gel en avant du front celle-ci à une épaisseur h_0 où la taille des pores y est notée ζ_0. Le passage du front à cet endroit provoque un gonflement de la zone dont la nouvelle épaisseur est appelée h, et une dilatation des mailles dont la nouvelle taille est ζ (voir fig. 3.21.b). La conservation du nombre maille n, quant à elle, impose :

$$n = \frac{h}{\zeta} = \frac{h_0}{\zeta_0} \tag{3.12}$$

Ainsi la relation (3.9) peut être exprimée en fonction de ces nouveaux paramètres

$$R\dot{R} \simeq 4\frac{\Delta\gamma}{\eta}\left(\frac{\zeta_0}{h_0}\right)^2 h \tag{3.13}$$

conduisant à

$$R^3\dot{R} \simeq \frac{4}{\pi}\frac{\Delta\gamma}{\eta}V\left(\frac{\zeta_0}{h_0}\right)^2 \tag{3.14}$$

Puis par intégration

$$R \sim \left(\frac{16}{\pi}\frac{\Delta\gamma}{\eta}V\frac{\zeta_0^2}{h_0}\right)^{\frac{1}{4}} t^{\frac{1}{4}} \tag{3.15}$$

Loi de répartition du surfactant

Jusqu'ici, nous avons supposé une différence de tension de surface $\Delta\gamma = \gamma_g - \gamma$ constante comme origine de la force motrice qui pousse la goutte à s'étaler. Cependant la tension de surface du liquide γ varie proportionnellement avec la concentration surfacique en surfactants Γ comme.

$$\Delta\gamma(\Gamma) = Surface \times \Gamma \tag{3.16}$$

Par ailleurs, si le surfactant se répartie par un processus de diffusion/convection, il est plus judicieux d'introduire une dépendance de la concentration surfacique par rapport à sa position sur l'ensemble de la zone d'étalement, telle que :

$$\Gamma(R) = \Gamma_0 \left(\frac{R_0}{R}\right)^n \tag{3.17}$$

D'où une dépendance du même type pour $\Delta\gamma(R)$:

$$\Delta\gamma(R) = \Delta\gamma_0 \left(\frac{R_0}{R}\right)^n \tag{3.18}$$

En remplaçant dans l'expression (3.14), on obtient :

$$R^{n+3}\dot{R} = \frac{4}{\Pi}\frac{\Delta\gamma_0}{\eta}R_0 V\frac{\zeta_0^2}{h_0} \tag{3.19}$$

Puis par intégration :

$$R(t) \sim \left(\frac{4}{\Pi}\frac{\Delta\gamma_0}{\eta}R_0 V\frac{\zeta_0^2}{h_0}\right)^{\frac{1}{n+4}} t^{\frac{1}{n+4}} \tag{3.20}$$

La prise en compte de la répartition du surfactant à la surface du gel apparaît comme un argument intéressant pour expliquer la faiblesse de nos exposant d'étalement pour le front de surfactine. En posant l'hypothèse d une décroissance de la concentration en surfactant en $\Gamma(R) = \Gamma_0 \left(\frac{R}{R_0}\right)^2$, l'étalement se fait en $R(t) \sim t^{\frac{1}{6}}$ et se rapproche des exposants déterminés dans nos expériences. Par ailleurs le liquide se déplaçant dans une zone plus étendue que dans le cas de *Szabó et al.*, la dissipation visqueuse est donc plus importante et contribue également au ralentissement de l'étalement avec le temps.

Une contribution dissipative supplémentaire : la dissipation viscoélastique.

La propagation d'un front de surfactine à la surface d'un gel évoque la situation de l'avancée d'une ligne de contact sur une surface déformable. Une analyse de la situation d'étalement d'une goutte liquide sur un tel substrat menée par *Carré et Shanahan* [15] à mis en évidence un effet dissipatif lié à la nature du substrat. Il s'agit de la dissipation viscoélastique liée à la déformation de la surface par la tension superficielle du liquide au niveau de la ligne de contact. En s'inspirant de cette situation, nous pouvons compléter le bilan dynamique des forces. La prise en compte de cette nouvelle composante conduit à :

$$R\psi\Delta\gamma\dot{R} = \frac{R^2}{2}\psi h\frac{\eta}{2}\left(\frac{\dot{R}}{\zeta}\right)^2 + \frac{\Delta_p\gamma^2}{E\epsilon}\dot{R}R\psi \tag{3.21}$$

Avec E le module de Young du gel, γ la tension de surface du liquide, ϵ une longueur de coupure microscopique et Δ_p un coefficient de perte mesurant le taux d'énergie élastique perdue par frottements internes lorsque la ligne de contact avance en déformant le gel. Le développement de cette expression conduit à :

$$R^3\dot{R} = \frac{4}{\eta\Pi}V\left(\frac{\zeta_0}{h_0}\right)^2\left(\Delta\gamma - \Delta_p\gamma\frac{l}{\epsilon}\right) \tag{3.22}$$

puis, après intégration, à :

$$R(t) = \left(\frac{4}{\eta\Pi}V\left(\frac{\zeta_0}{h_0}\right)^2\left(\Delta\gamma - \Delta_p\gamma\frac{l}{\epsilon}\right)\right)^{\frac{1}{4}} t^{\frac{1}{4}} \tag{3.23}$$

avec l une longueur définie comme le rapport entre la tension de surface du liquide et et du module de Young : $l = \frac{\gamma}{E}$.

Il apparaît donc que l'effet de la viscoélasticité en tant que source dissipative dépends du rapport $\Delta_p\gamma\frac{l}{\epsilon}$: s' il est petit devant $\Delta\gamma$, alors cet effet sera négligeable mais s'il est suffisamment grand, alors la dissipation viscoélastique sera dominante et pourra même tuer l'effet de "front". Cependant cet effet nécessiterait que les gels en question aient un module de Young assez faible donc, une faible concentration en agar.
Cette observation est peut-être à rapprocher des observations de *Daniels et al.* où des structures en étoiles et des arborescences apparaissent lors du dépôt d'une goutte de surfactants sur des gels très "mous". En effet, on peut imaginer que ce mode de propagation se substitue à la propagation du front qui ne peut plus exister dans ces conditions.

Nous ignorons la valeur à attribuer à ϵ et à Δ_p mais nous pouvons quantifier l'ordre de grandeur de l pour nos gels d'agar du moins concentré au plus concentré en posant 40 mN/m $\lesssim \gamma \lesssim$ 70 mN/m : on obtient, $10^{-7}m \lesssim l \lesssim 10^{-5}m$. Cette question est en fait reliée à une problématique évoquée dans l'introduction et développée dans le chapitre suivant : le mouillage des gels. Cette thématique est mal connue même sans ajouts de surfactants. Nous reviendrons sur ces questions plus avant dans le chapitre suivant.

3.4 Etalement de surfactine sur d'autres types de gel

L'étude de l'étalement d'une goutte de surfactants sur un milieu de culture apparaît comme une situation complexe : il s'agit d'un système ou le gel est mélangé à différentes solutions ioniques pour servir de support nutritif aux bactéries. La non-universalité de l'exposant d'étalement pour des milieux de culture de composition chimique différente mais dont les propriétés physiques sont les mêmes montre que la nature chimique des solutions nutritives joue un rôle dans le processus. Dans le souci de simplifier le système étudié mais aussi les conditions expérimentales de fabrication des gels, nous avons choisi d'observer le comportement de gouttes de surfactine à la surface de gels d'agar purs afin de savoir s'il existe un exposant d'étalement unique pour la propagation du front en l'absence de solutions nutitives.

3.4.1 Etalement de surfactine sur gel d'agar.

Ces expériences sont réalisées avec le dispositif expérimental décrit au chapitre 2, pour une gamme de concentration en gélose comprise entre 0,5 % et 2 %. Les images tirées des expériences sont exposées figures (3.22), (3.23) et (3.24). Les différents clichés illustrent le processus d'étalement à différent instants pour chaque concentration en agar.

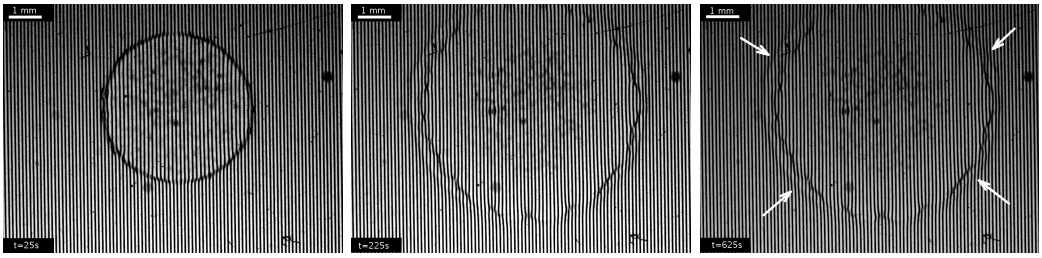


FIG. 3.22: Séquence d'étalement d'une goutte de 1 μL de surfactine à 1g/L sur gel d'agar à 0,5 %. Les images, de gauche à droite, correspondent aux instants t = 25 s, t = 225 s et t = 625 s. Un front très irrégulier et peu prononcé est visible (repéré par les flèches noires à t = 625 s

Dans le cas de gel d'agar à 0,5 %, un front apparaît mais est très peu visible (repéré par des flèches). Ce font semble très peu prononcé et trop irrégulier pour être mesuré par la méthode utilisée jusqu'alors. En outre il ne semble pas du tout animé de la même dynamique que dans le cas du milieu B ou du milieu LB : à 635 secondes du dépôt le front s'est tous juste détaché de la goutte. Pour les autres concentrations en agar, aucun front n'est détecté. La goutte s'étale puis se rétracte et disparaît.

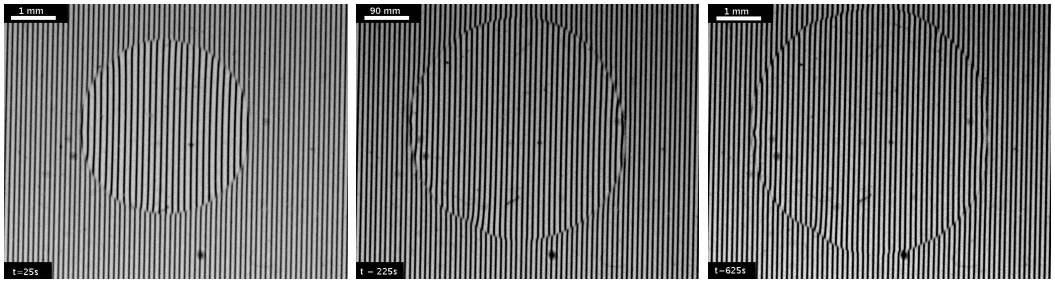


FIG. 3.23: Séquence d'étalement d'une goutte de 1 μL de surfactine à 1 g/L sur gel d'agar à 0,7 %. Les images, de gauche à droite, correspondent aux instants t = 25 s, t = 225 s et t= 625 s. Aucun front ne peut être observé

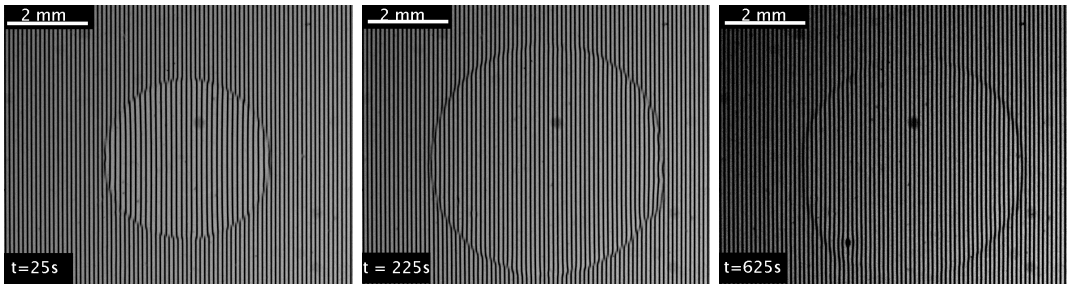


FIG. 3.24: Séquence d'étalement d'une goutte de 1 μL de surfactine à 1 g/L sur gel d'agar à 1 %. Les images, de gauche à droite, correspondent aux instants t = 25 s, t = 225 s et t = 625 s. Aucun front ne peut être observé

3.4.2 Une tentative de restitution du front de gonflement : surfactine sur agar + NaCl

Les mesures précédentes ont montré que les gels contenant des sels ioniques en solution permettent d'obtenir un front de gonflement se propageant avec le temps. Afin de confirmer cette hypothèse, nous allons ajouter au gel lors de sa préparation du sel de NaCL pour observer si cela suffit à la restitution du front lors de l'étalement. Une goutte de 1 μL de surfactine à 1 g.L^{-1} est déposée à la surface d'un gel d'agar à 0,7 % et contenant 2 % de NaCl (cf fig. 3.25). La plupart des expériences réalisées montrent le même comportement que l'étalement de surfactine sur agar pur à 1 % : la goutte s'étale puis se rétracte et aucun front n'est décelé. Cependant, dans certaines expériences, un front est visible (repéré par les flèches blanches sur la figure 3.25)

3.5 La nature du surfactant joue-t-elle un rôle ?

Après avoir étudié l'influence de la composition du gel sur le processus d'étalement, nous allons nous intéresser à la nature du surfactant utilisé. L'existence du front

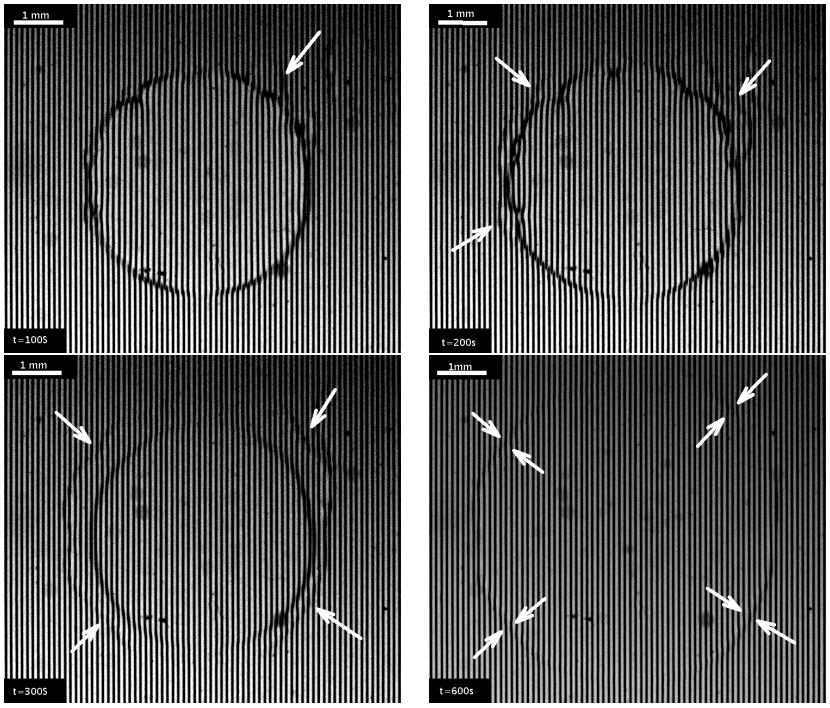


FIG. 3.25: Etalement d'une goutte de 1 μL de surfactine à 1 g.L^{-1} sur un gel d'agar à 1 % contenant 2 % de NaCl. Un front apparaît progressivement (marqué par les flèches blanches) au cours du processus d'étalement

de gonflement a pu être démontré en présence de surfactants d'origine biologique. Ce phénomène est-il généralement observé en présence de tensioactifs ou bien au contraire est-il spécifique à une classe précise de surfactants ? En effet, de nombreuses études d'étalement de surfactants de nature anionique ou cationique sur support solide [30,56] ou liquide [1,2,81] ont montrées qu'un surfactant produit une instabilité de digitation ou un caractère démouillant [3] durant le processus. Dans d'autres cas, l'étalement de surfactants non-ioniques sur des surfaces hydrophiles produisent également ce type d'instabilité [13, 14]. Nous nous proposons donc de tester ici, sur des gels de milieu B et d'agar seul, l'effet de l'étalement d'un surfactant anionique, le SDS, cationique, Le CTAB, et non-ionique, le $C_{12}E_8$. Quelques caractéristiques de ces produits sont rappelées tableau.(3.5)

Les solutions acqueuses de SDS, CTAB et $C_{12}E_8$ utilisées sont toutes de concentration 3 g/L afin d'être sûr de se situer au dessus de la CMC.

3.5.1 Etalement sur milieu B 0,7 %

Le résultat de l'étalement de chaque type de surfactant est montré figure 3.26 pour le $C_{12}E_8$, figure 3.27 pour le CTAB et figure 3.28 pour le SDS. Dans chaque cas

TAB. 3.5: Les différents types de surfactants utilisés

	SDS	CTAB	$C_{12}E_8$
Nom	Sodium Dodecyl Sulfate	Hexadecyltrimethylammonium bromid	Octaethyl glycol monododecyl ether
CMC (mM)	7 à 10 (à 20-25°C)	1	NC
γ_{CMC} (mN.m^{-1})^2	30	35	33,7
Masse molaire ($g.mol^{-1}$)	288,38	364,45	538,75
Nature	Anionique	Cationique	Non-ionique

la présence d'un front est visible mais beaucoup moins marqué que dans le cas de la surfactine. Afin de mieux visualiser ces fronts très peu prononcés, une image est construite en soustrayant l'image du gel avant dépôt à l'image de l'étalement à un temps t. Ce mode de visualisation permet de faire ressortir uniquement les régions de l'image qui ont bougé entre l'instant t et le gel avant le dépôt. Cette méthode permet de révéler la présence du front qui est à peine détectable visuellement (par exemple dans le cas de l'étalement de SDS à t = 680 s (fig. 3.28). Les fronts de gonflement sont donc observés pour tous types de surfactants mais ils sont bien moins développés qu'avec la surfactine.

3.5.2 Etalement sur gels d'agar 1 %

De la même manière que pour le milieu B, les expériences d'étalement sont conduites sur une gel d'agar pur à 1 % pour le SDS (fig. 3.29) et le CTAB (fig. 3.30). Cette fois-ci aucun front ne peut être détecté visuellement. Cette observation vient donc confirmer que la composition chimique des milieux nutritifs joue un rôle déterminant dans l'existence du front lors de l'étalement d'une goutte de surfactant à sa surface.

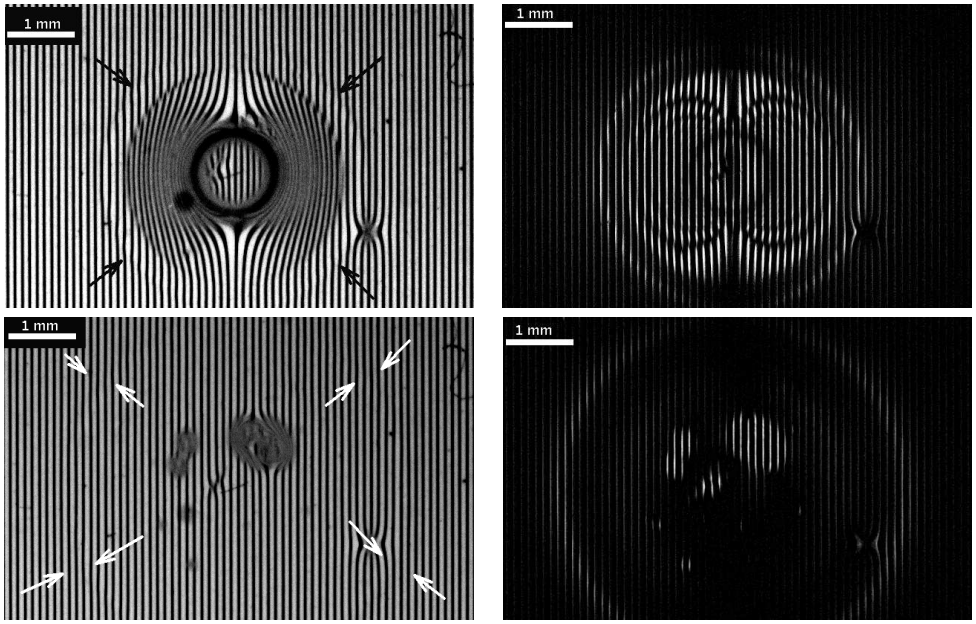


FIG. 3.26: Les figures de gauche montrent l'étalement d'une goutte de $1\mu L$ de $C_{12}E_8$ sur milieu B 0,7 % à t = 65 s (photo du haut) et t = 330 s (photo du bas). Les flèches repèrent la position du front. Les figures de droite représentent les images à t = 65 s et t = 330 s auxquelles la première image a été retranchée. Ainsi le front se révèle et apparaît comme un contour blanc autour de la goutte

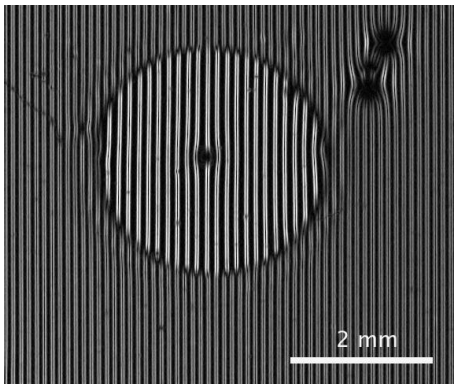


FIG. 3.27: Goutte de 1 μL de CTAB sur milieu B 0,7 %. On perçoit faiblement un front à l'extérieur des bords de la goutte

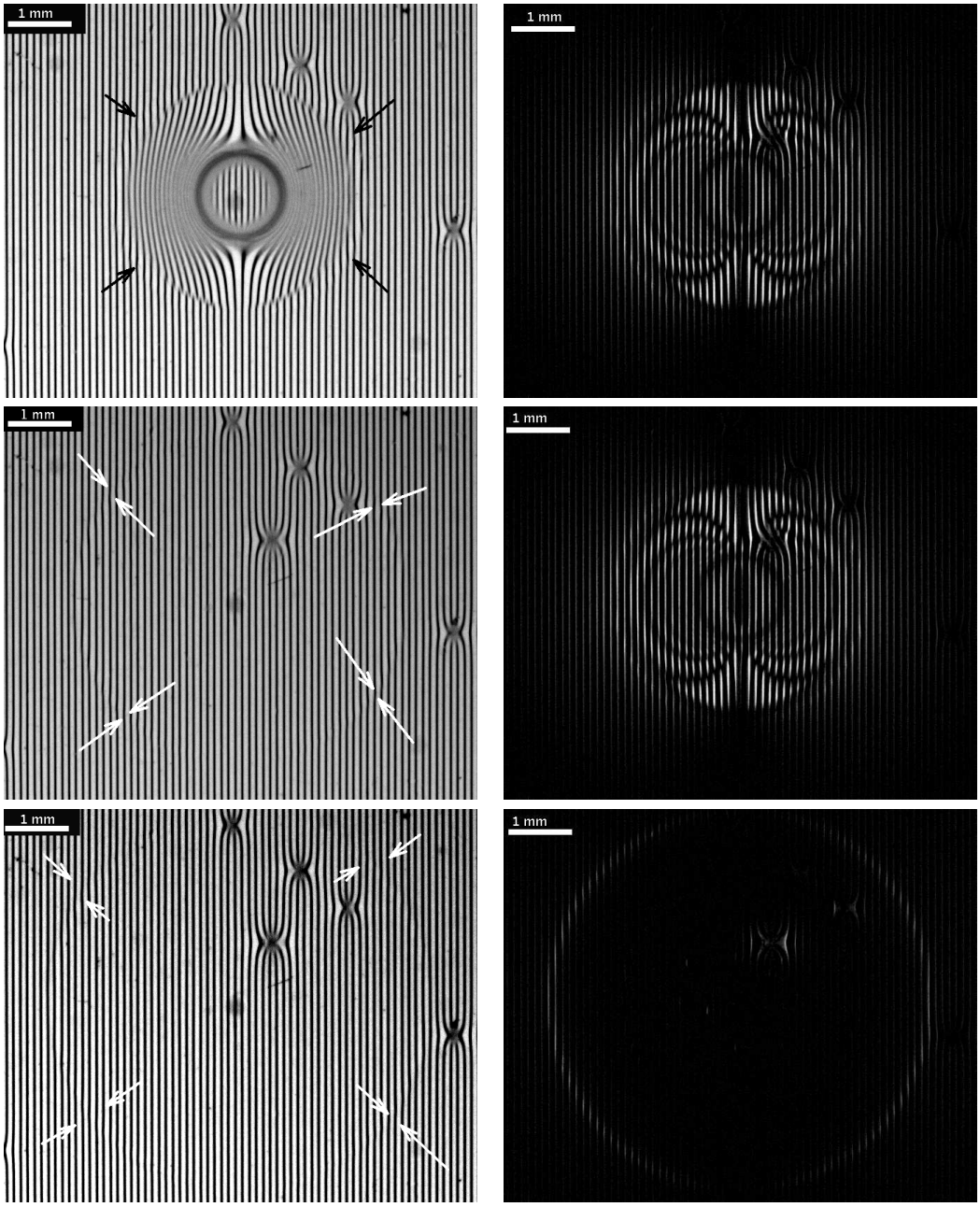


FIG. 3.28: Les figures de gauche montrent l'étalement d'une goutte de 1 μL de SDS sur milieu B 0,7 % à t = 65 s (photo du haut), t = 330 s (photo du milieu) et t = 680 s (photo du bas). Les flèches repèrent la position du front. A droite, les images sont construites comme la différence entre l'image de gauche au temps t et une image du gel avant dépôt.

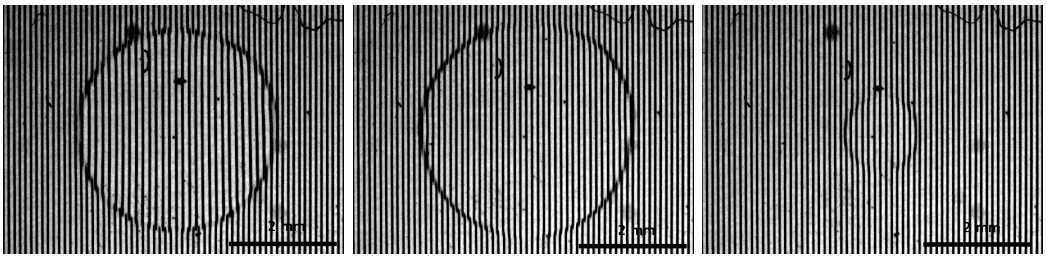


FIG. 3.29: Goutte de 1 μL de SDS sur gels d'agar à 1 % à différents instants. Aucun front n'est détecté

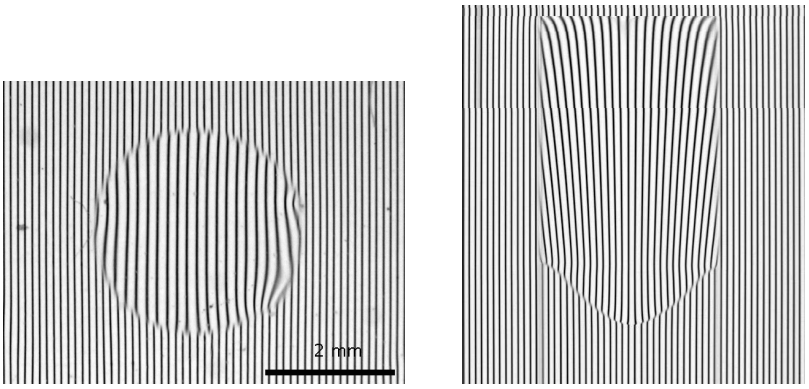


FIG. 3.30: Figure de gauche : goutte de 1 μL de CTAB sur gel d'agar à 1 %. Figure de droite : diagramme spatio-temporel de la goutte. Comme le montrent ces images, aucun front n'est détecté

3.6 Etalement d'huile

L'étalement de surfactine sur milieux de culture a permis de mettre en évidence l'existence de deux régimes d'étalement : un concernant la goutte elle-même et l'autre concernant le front de gonflement. L'étalement de gouttes d'un liquide de faible tension de surface et de viscosité proche de l'eau sur les mêmes supports est intéressante afin de comparer les dynamiques d'étalement. Nous avons utilisé ici de l'huile silicone rhodorsil V5 de viscosité 5 cP. L'huile V5 est un liquide de choix pour cette expérience. De plus, elle n'est pas volatile sur le temps envisagé pour l'expérience. Les expériences sont conduites de la même manière que dans le cas de la surfactine : des gouttes de 1 μL d'huile sont déposées à la surface de gels d'agar (cf fig. 3.32) de différentes concentrations massiques (de 0,5 % à 5 %). De manière assez surprenante, les courbes d'étalement d'aire en fonction du temps sont assez semblables, indépendamment de la concentration en agar (cf fig. 3.31). Le passage en échelle log-log montre qu'il existe également deux régimes d'étalement. En outre, les exposants d'étalement de chaque régime ont des valeurs semblables quelque soit la concentration du gel en agar. Les valeurs calculées sont les suivantes :

- $\alpha = 0,33 \pm 0,04$
- $\beta = 0,67 \pm 0,05$

Cette observation est assez étonnante puisque dans ce cas de figure il n'existe pas de front de gonflement, il s'agit simplement d'une goutte d'huile qui s'étale spontanément sans se rétracter. De manière plus surprenante encore l'étalement semble s'accélérer avec le temps puisqu'à partir de t =100 s- 200 s l'exposant a une valeur plus élevée que dans les premiers instants (t < 100 s). Cette situation d'étalement d'un liquide non-miscible sur un gel d'agar présente un exposant d'étalement à temps long (t > 100s) du type $r(t) \sim r_0 t^{0,33}$. Cet exposant est très proche de celui annoncé par *kaneko et al.* [47] pour une situation similaire sur gels PAMPS :$r(t) \sim r_0\, t^{0,3}$.

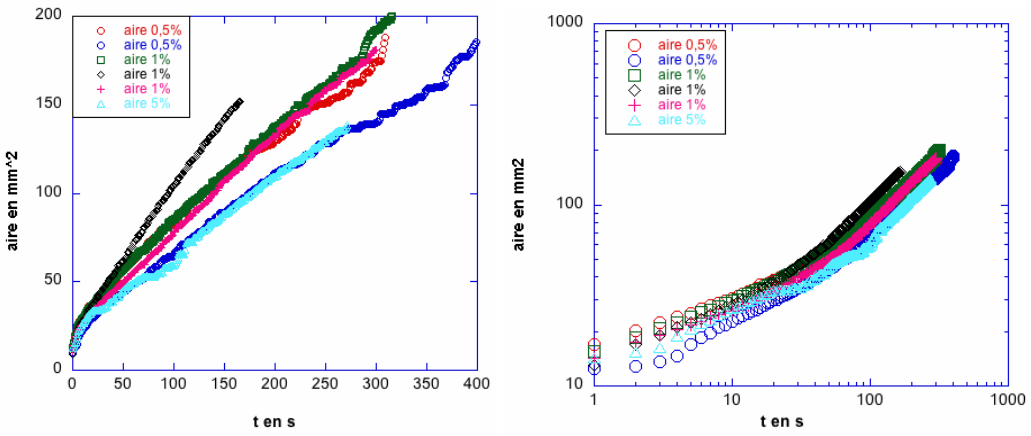


FIG. 3.31: Aire en fonction de temps pour goutte de $1\mu L$ d'huile V5 sur gels d'agar à différentes concentrations massiques. Figure de gauche : aire en fonction du temps. Figure de droite : aire en fonction du temps en échelle log-log.

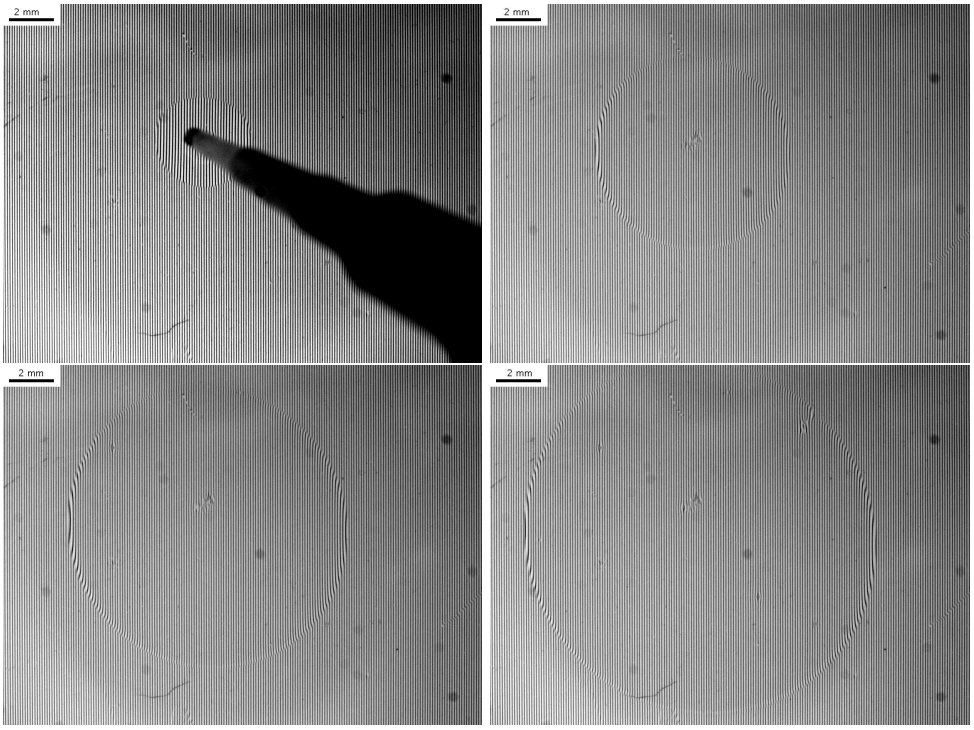


FIG. 3.32: Etalement d'huile silicone V5 sur gel d'agar à 1 % à t = 3 s (en haut à gauche), t = 65 s (en haut à droite), t = 170 s (en bas à gauche) en t = 300 s (en bas à droite). La goutte d'huile s'étale spontanément et aucune rétraction de la goutte n'est observée.

3.7 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié la structure et la dynamique du front de surfactine. Notre méthode de détection nous a permis de sonder la surface libre du gel nutritif lors de l'étalement d'une goutte de surfactine et de la propagation du front associée. Les mesures d'amplitude mettent en évidence un gonflement local de la zone couverte par ce front en propagation. Ses caractéristiques comme son amplitude et sa vitesse dépendent non seulement des propriétés physiques du gel mais aussi de la concentration en surfactants de la goutte initiale. Il est étonnant de constater qu'aux temps longs la structure du bord du front se conserve au cours de la propagation. Plus le gel est rigide (donc concentré en agar) mécaniquement, moins le front est développé, à tel point que pour des gels de concentration supérieure ou égale à 2 % en agar, celui-ci n'est plus détéctable. Cette observation est un facteur clé dans la compréhension du swarming chez *B. subtilis* puisque le développement de ce phénomène en fonction de la concentration du milieu en agar est parfaitement corrélé au développement du front de surfactine : ainsi une absence de front rend le swarming inopérant comme observé sur des gels de milieu B à 2 %. Il est, à ce propos, probable que la surfactine modifie l'état de surface du gel pour faciliter la progression des bactéries.

La dynamique d'étalement d'une goutte de surfactine sur un milieu de culture à base d'agar présente 2 régimes en loi de puissance du temps : $r(t) \sim r_0\, t^{\alpha}$ pour la goutte, et $r(t) \sim r_0\, t^{\beta}$ pour le front de surfactine. Pour ces deux régimes, nos mesures montrent que les exposants diminuent avec l'augmentation de la concentration du gel($0{,}12 < \alpha < 0{,}44$ et $0{,}12 < \beta < 0{,}16$), ne semblent pas dépendre du volume initiale de la goutte et augmentent avec la concentration en surfactine tout en variant significativement d'un milieu de culture à l'autre($0{,}42 < \alpha < 0{,}52$ et $0{,}15 < \beta < 0{,}22$ pour milieu B, $0{,}13 < \alpha < 0{,}27$ et $0{,}12 < \beta < 0{,}16$ pour milieu B) : ils ne présentent donc pas un caractère universel. Un modèle présenté par *Szabó et al.* [78] pour expliquer l'étalement d'une goutte liquide à faible tension de surface, prédit une loi d'étalement en $r(t) \sim r_0\, t^{\frac{1}{2}}$ assez éloignée de nos observations aux temps long, c'est à dire pour la propagation du front de surfactine. En s'inspirant des mécanismes physiques invoqués, nous en proposons une nouvelle formulation en introduisant une dissipation visqueuse dans un volume plus grand ainsi qu'une prise en compte de la dilution du surfactant au cours de la propagation. Ces deux nouveaux ingrédients permettent de prédire des exposants d'étalement plus faibles et suffisent à décrire nos observations. La nature viscoélastique des gels implique qu'une contribution dissipative de cette nature joue probablement un rôle et peut même dans certains cas inhiber le front. Cette prédiction reste à préciser pour des gels connus et mieux maîtrisés.

Enfin, les tentatives d'étalement de surfactine sur des gels d'agar purs ont montré que le front de surfactine ne peut exister que sur des gels contenant des sels dissous (milieux nutritifs), ce qui suggère une propagation liée à la physico-chimie. L'utilisation d'autres surfactants sur milieux de culture montre l'existence d'un semblant de

front de surfactant mais qui n'est comparable aux résultats obtenus avec la surfactine ni en termes de dynamique ni en termes de structure. A cette occasion, aucun effet lié à la nature chimique du surfactant n'a été relevé. Enfin, de manière très surprenante l'étalement d'huile silicone de viscosité proche de l'eau sur des gels d'agar purs montre également l'existence de deux régimes d'étalement dont la dynamique,à la différence de la surfactine, s'accélère lors du passage au second régime.

4 Comportement d'une goutte d'eau à la surface d'un gel

D'une façon générale, les propriétés de mouillage statique et dynamique des substrats dépendent de leur nature : des surfaces présentant des défauts comme de la ruguosité [22, 60, 67, 71] ou des inhomogénéités chimiques [18, 22] peuvent voir leurs propriétés de mouillage varier considérablement.

Pour des substrats rigides, la composante verticale de la tension de surface liquide/air n'est pas en mesure de les déformer. En revanche, dans le cas des gels, leur caractère déformable peut être à l'origine d'un effet nouveau : la composante verticale agit comme une force le long de la ligne triple et déforme le substrat en le tirant vers le haut. Cette déformation si elle est suffisamment importante peut bloquer la dynamique d'étalement de la goutte et introduire une hystérésis de mouillage spécifique [74–76]. Cette piste à été explorée pour les élastomère [29] mais reste très peu connue dans le cas des gels [4, 63, 90]. La situation d'une goutte de solvant en mouillage partiel sur un gel constitué du même liquide est complexe. Elle mêle plusieurs composantes dont nous ignorons les contributions spécifique : physico-chimie, mécanique et impuretés de surface des gels.

4.1 Observations expérimentales

Nous nous intéressons au comportement d'une goutte d'eau posée à la surface d'un gel d'agar. Nous utilisons le même dispositif expérimental que précédemment. Une goutte d'eau est déposée à la surface d'un gel de milieu B à 0,7 %(cf. fig. 4.1)

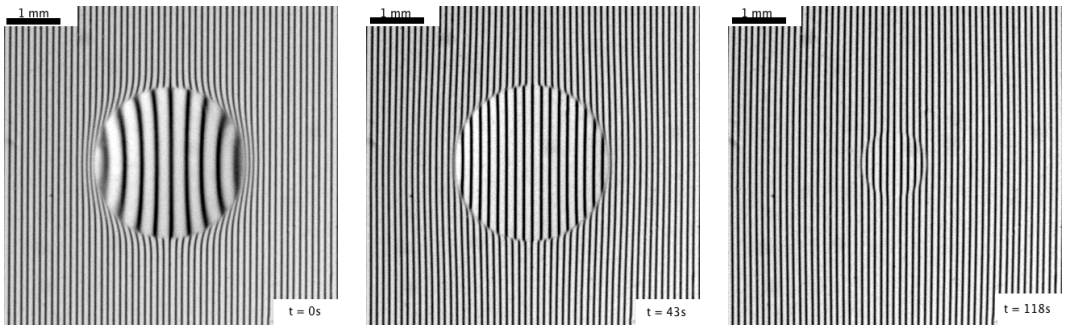


FIG. 4.1: Goutte d'eau de 1 μL à la surface d'un gel de milieu B 0,7 % à différents instants, t = 0 s (instant du dépôt), t = 43 s et t = 118 s

Comme on peut le voir la goutte d'eau ne s'étale pas complètement. Elle présente une extension radiale finie et l'interface air/liquide forme un angle de contact non nul avec la surface du gel. La goutte est donc en situation de mouillage partiel.

Cette observation est assez étonnante puisqu'on s'attendrait à priori à une situation de mouillage total compte tenu de la forte teneur en eau du substrat (plus de 99 %). Il apparaît donc que le fait d'ajouter une faible quantité de biopolymères d'agar à de l'eau, modifie les conditions de mouillage d'une goutte de solvant déposée sur ce même solvant.

Au moment du dépôt, une variation dans l'espacement du motif de la grille montre nettement une déformation du substrat tout autour de la ligne de contact (cf fig. 4.1 à t = 0 s). Dès lors l'extension radiale de la goutte reste fixée jusqu'à l'amorce de la phase de rétraction de la goutte. A compter du dépôt, le motif de grille observé à travers la goutte devient de plus en plus serré et de moins en moins déformé. Cette régularisation du motif traduit une diminution de la courbure de l'interface eau/air. Cette variation de la courbure à bords fixés indique donc non seulement une variation du volume de la goutte mais aussi de l'angle de contact.

Une représentation spatio-temporelle d'une goutte d'eau à la surface du gel (fig. 4.2) permet de visualiser de manière plus synthétique toutes ces observations : la ligne de contact ne bouge pas du dépôt de la goutte jusqu'à sa disparition. Les déformations autour de la ligne de contact après le dépôt sont visibles à l'oeil nu par rapport à l'état de surface du gel initial. Ce diagramme permet également de remarquer que ces déformations semblent s'estomper légèrement après la disparition de la goutte d'eau. Cependant une déformation résiduelle persiste, indiquant une diffusion de la goutte dans le gel. Enfin l'atténuation de la déformation du motif de la grille montre clairement la variation continue de la courbure de la goutte jusqu'à la phase de rétraction. Dans le cas de la calotte sphérique, la courbure de l'interface impose la valeur de l'angle de contact de l'interface air/liquide avec le substrat qui présente donc une hystérèse. Lorsque la courbure a suffisamment diminué pour que l'angle de contact devienne égal à l'angle de retrait, la goutte entame sa phase de rétraction, ses bords reculent en se rapprochant l'un de l'autre jusqu' à disparition complète de la goutte.

4.2 Mesure de l'angle de contact : considérations et méthode

Nous allons utiliser deux méthodes différentes pour mesurer les angles de contact d'avancée et de reculée à la surface des gels d'agar.

4.2.1 Angle d'équilibre

Lors de la mise en contact de l'eau avec la surface du gel lors de la phase de déposition, la goutte adopte instantanément une extension et un angle de contact fini. La méthode optique de détection utilisée permet de mesurer la pente locale pour

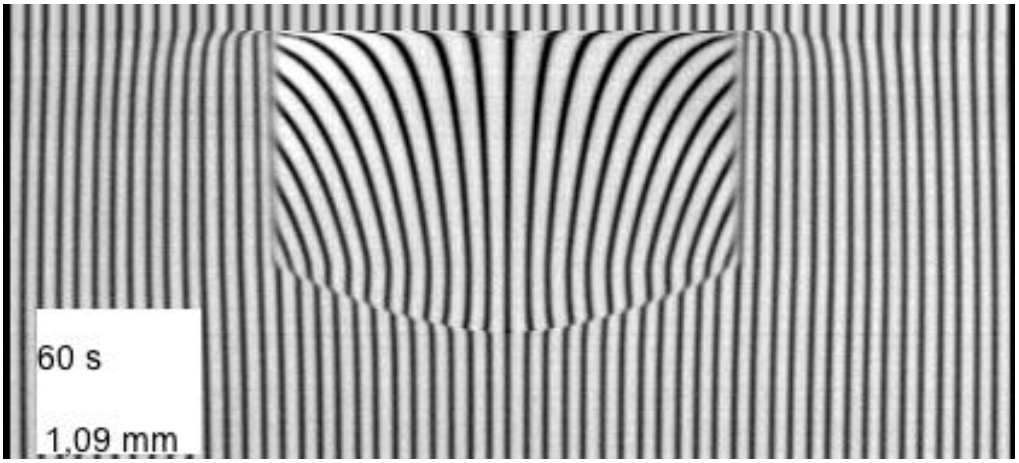


FIG. 4.2: Diagramme spatio-temporel d'une goutte eau de $1\mu L$ sur gel de milieu B 0,7 %

une coupe radiale. En assimilant le bord de la ligne triple à un dièdre :

$$\left.\frac{dh}{dr}\right|_{r=R} = \tan\theta \approx \theta \quad \textit{pour } \theta \textit{ petit} \tag{4.1}$$

En relevant le calcul de la pente locale au bord de la ligne triple, il est possible d'obtenir une mesure de l'angle que la goutte forme avec l'horizontale : dans notre cas, l'angle de contact mesuré est définie par rapport à un substrat parfaitement horizontal, c'est-à-dire loin de la goutte. Nous verrons que le lien entre pente et surface du gel peut être plus subtil car en réalité la goutte déforme le substrat.

Remarque : Nous ne possédons pas, en réalité, la mesure de la courbure au niveau de la ligne de contact : en effet la prise d'images effectuée par le dessus ne permet pas d'avoir une déformation optiquement nette à ce niveau. La première mesure fiable se situe à une distance proche de la ligne de contact mais constitue une mesure approchée dans l'hypothèse où la pente varie peu entre le bord de la goutte et la position r' : c'est-à-dire si $\left.\frac{dh}{dr}\right|_{r=r'} \approx \left.\frac{dh}{dr}\right|_{r=R}$ (cf fig. 4.3). Par ailleurs seules les lignes blanches sont utilisées comme mesures réelles dans le processus de traitement numerique.

4.2.2 Evolution de l'angle de contact au cours du processus

La figure 4.4 montre l'évolution de l'angle de contact d'une goutte d'eau de 1 μL au cours du temps. L'angle de contact mesuré au dépôt ne peut fournir, tout au plus, qu'une limite basse de l'angle d'avancée. L'angle de contact décroît ensuite continûment et corrélativement à la courbure de la goutte. A partir d'une valeur limite, l'angle de contact ne décroît plus et forme un palier. Ce palier correspond à la phase de rétraction de la goutte. La valeur de l'angle constant mesurée durant

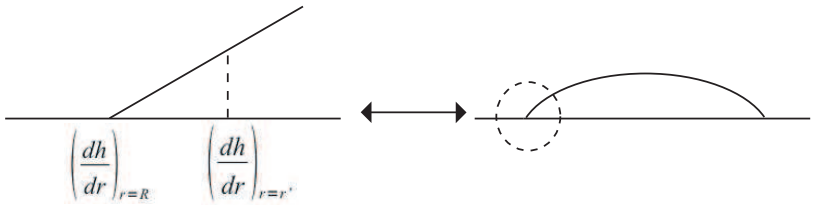


FIG. 4.3: Approximation de la pente au bord de la goutte : à une distance r' suffisamment proche de r, la pente en r' est voisine de celle en$r$,tel que, $\frac{dh}{dr}\big|_{r=R} \approx \frac{dh}{dr}\big|_{r=r'}$

cette phase est donc celle de l'angle de retrait. Puis, lorsque la goutte disparaît complètement l'angle tombe à zéro.

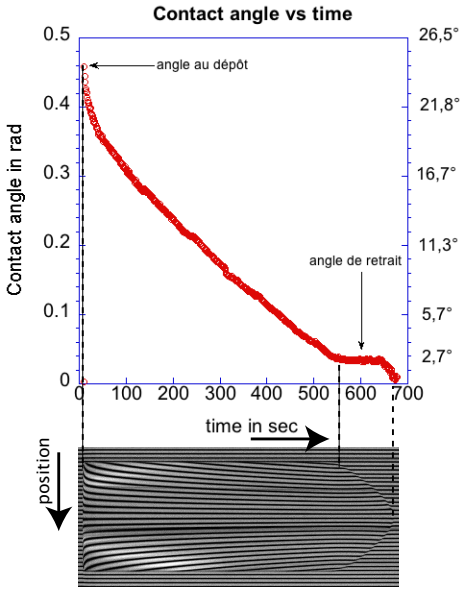


FIG. 4.4: Angle de contact d'une goutte de $1\mu L$ obtenue par le méthode de détection optique au cours du temps. L'angle décroît entre la moment du dépôt et le moment où la rétraction du liquide s'amorce. Au moment du retrait, l'angle prend une valeur fixe correspondant à un palier sur la courbe d'évolution de l'angle (vers 550 s). La valeur de l'angle pour ce palier est une mesure directe de l'angle de retrait

4.2.3 Angle de retrait

Si l'angle d'avancée ne peut être obtenu par cette méthode, cette dernière est en revanche parfaitement adaptée à la mesure de l'angle de retrait. En effet la méthode de détection optique est sensible aux faibles variations de pente (grâce à la plus grande quantité de points de mesure disponibles), donc capable de détecter des angles de contact très petits.

On peut noter (cf fig. 4.4) que la phase de rétraction s'effectue a angle constant. Cette mise en mouvement spontanée de la goutte à un angle fixe marque la valeur minimale possible de l'angle. Une bonne mesure de cet angle de reculée peut être obtenue en prenant la valeur moyenne de l'angle sur le palier.

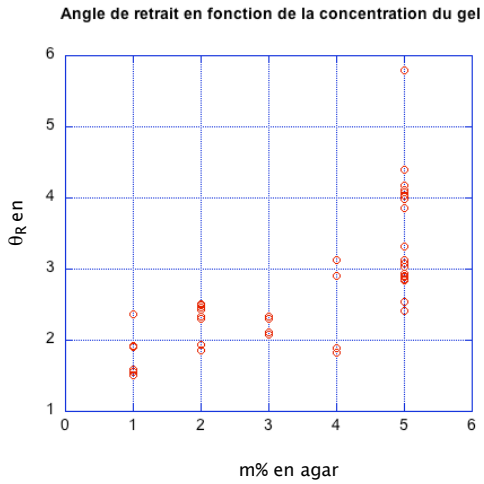


FIG. 4.5: Angles de retraits déterminés à partir de la méthode optique pour des gouttes d'eau de 1 μL sur des gels à différentes concentrations d'agar

Les mesures ont été effectuées pour des concentrations massiques d'agar comprises entre 1 % et 5 % et sont indiquées sur la figure 4.5. En dessous de 1 %, le domaine élastique des gels se restreint et la déformation imposée par une goutte d'eau peut être permanente. Ainsi même après disparition de la goutte, le substrat reste un peu déformé (fig. 4.6).

4.2.4 Angle d'avancée

La mesure de l'angle d'avancée ne peut être obtenue directement par la méthode de précédente. Pour mesurer l'angle d'avancée, il existe différentes méthodes comme la mesure de l'angle au seuil du mouvement sur plan incliné ou encore la déflexion laser [23], ... Ces méthodes ne sont pas facilement transposables à notre dispositif expérimental, essentiellement à cause de la diffusion de liquide dans le gel. Le choix se porte sur une méthode simple à mettre en oeuvre : la mesure de l'angle de contact d'une goutte gonflée artificiellement par visualisation de dessus.

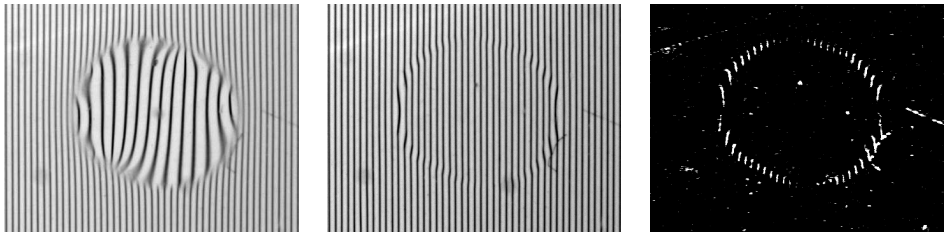


FIG. 4.6: Image a : goutte d'eau sur gel d'agar 0,5 %. Image b : la zone initiale d'accrochage de la ligne contact reste déformée, même après disparition de la goutte. Image c : image b après filtrage pour éliminer le motif de grille. La zone de déformation est nettement visible

4.2.5 Mesure de l'angle d'avancée par la méthode de gonflement d'une goutte

Le principe est le suivant : une goutte est initialement déposée à la surface du gel. Elle est gonflée à l'aide d'un pousse-seringue. En filmant de dessus, l'accroissement de surface de la goutte est relevé en fonction du temps. A partir d'une certaine quantité de volume de liquide injectée, la goutte atteint son angle d'avancée, entame son extension radiale à angle fixe, puis transite vers l'état de flaque (illustration fig. 4.7). Pour une flaque suffisamment étendue la relation entre augmentation de volume et accroissement de surface devient linéaire (cf figure.4.8), on peut approximer l'accroissement de volume par :

$$\Delta V = h \times \Delta S \tag{4.2}$$

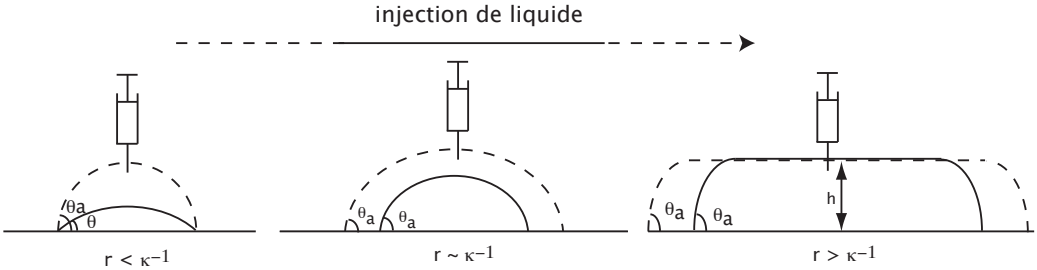


FIG. 4.7: Gonflage progressif d'une goutte initialement à l'angle θ jusqu'à l'angle d'avancé θ_a à l'aide d'un pousse-seringue. La goutte se met alors en mouvement, à angle θ_a constant, tout en augmentant sa surface de contact avec le substrat. Enfin lorsque le rayon de la goutte excède la longueur capillaire κ^{-1}, elle transite alors vers un état "flaque" dont l'accroissement de volume se poursuit à hauteur h et langle de contact θ_a constants

avec ΔV l'augmentation de volume de volume de la flaque liquide entre deux intervalles de temps et ΔS l'accroissement de surface correspondant. La hauteur de flaque h peut être facilement déterminée en portant ΔV en fonction de ΔS et en relevant la pente de la région linéaire.

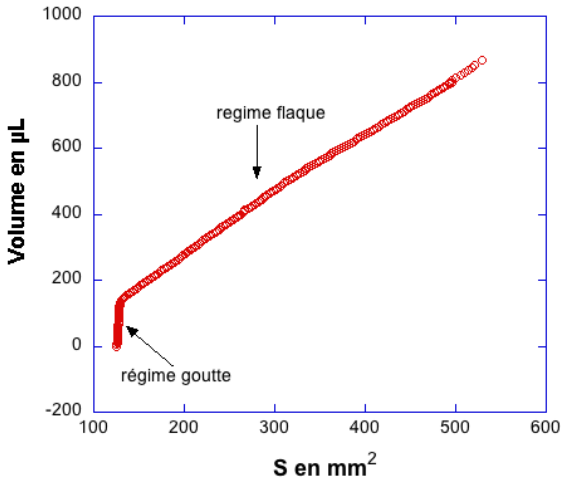


FIG. 4.8: Variation du volume d'une goutte gonflée avec un pousse seringue en fonction de sa variation de surface. Le régime de goutte correspond à la partie verticale de la courbe (début du processus de gonflage) où l'eau injectée vient "gonfler" la goutte, dont la surface varie peu, pour amener l'angle de contact jusqu'à θ_a. Une fois l'angle d'avancée atteint, la goutte augmente sa surface de contact avec le gel et transite vers le régime de flaque, où l'augmentation de volume varie linéairement avec l'augmentation de surface de la flaque de hauteur h et d'angle θ_a. Attention, la surface mesurée n'est pas celle de la goutte seule, elle contient une partie de la surface occupée par l'aiguille sur l'image.

En considérant qu'à chaque instant la goutte est en équilibre quasi-statique, l'angle d'avancée θ_a est relié à la hauteur de flaque par la relation suivante :

$$h = 2\kappa^{-1} \sin \frac{\theta_a}{2} \tag{4.3}$$

Avec $\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{\gamma}{\rho g}}$ la longueur capillaire, γ la tension de surface eau/air, ρ masse volumique de l'eau. Soit :

$$\theta_a = 2 \arcsin \frac{h}{2\kappa^{-1}} = 2 \arcsin \frac{h\sqrt{\rho g}}{2\sqrt{\gamma}} \tag{4.4}$$

Il est alors possible d'avoir une mesure de l'angle d'avancée pour différentes concentrations massiques en agar (cf fig. 4.9) :

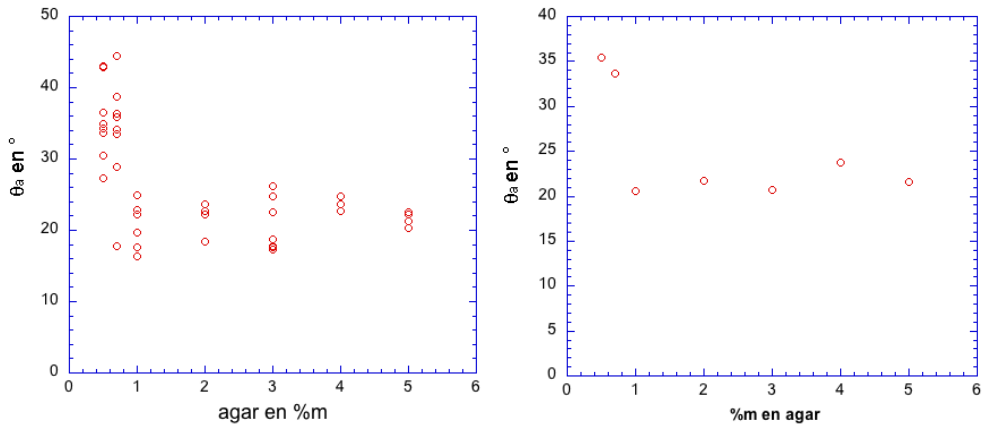


FIG. 4.9: Figure de gauche : angles d'avancée de gouttes d'eau de 1 μL sur gels d'agar de différentes concentrations, déterminés par gonflage de gouttes/flaques. Figure de droite : angles d'avancée moyens pour des gouttes de 1 μL d'eau sur gels d'agars à différentes concentrations

4.2.6 Discussion sur les angles d'avancée et de reculée en fonction de la concentration en agar

Les angles d'avancée et de reculée sont obtenus par les deux méthodes. On constate une variation dans les mesures des angles d'avancée. Cependant les mesures effectuées sur des échantillons de gel issus de la même solution initiale donnent des valeurs d'angle assez proches. En revanche, si l'on compare ces mesures à d'autres obtenues sur d'autres échantillons issus de solutions différentes, des fluctuations relativement importantes peuvent apparaitre. Les angles de contact étant très sensibles à l'état de surface du substrat, ces fluctuations sont attribuées à la différence d'état de surface des échantillons issus de solutions différentes. Il est en effet connu que pour un gel physique formé de polymères, la densité du réseau dépend entre autres de l'histoire thermique de la solution initiale. Il est dès lors envisageable que l'état de surface des échantillon de gel soit également influencé par le traitement thermique subi, ce qui peut expliquer les variations d'angles de contact mesurés sur des échantillons différents. En moyenne, les angles d'avancée affichent une valeur qui semble constante, si l'on tient compte de la dispersion des mesures évoquées plus haut, pour des fractions massiques comprises entre 1 % et 5 %. Une augmentation de l'angle d'avancée apparaît toutefois lorsque la fraction massique passe en-dessous de 1 %.

Les angles de reculée présentent une faible tendance à la croissance lorsque l'on augmente la concentration massique du gel sur la gamme de mesure (de 1 % massique à 5 % massique). Les valeurs mesurées sont plus homogènes que celles des angles d'avancée.

Comme on peut le voir sur la figure 4.10, il existe une hystérésis du mouillage très marquée à la surface des gels. Cette hystéresis est constante ($\Delta\theta \sim 20^{\circ}$) sur une grande

partie de la gamme de concentration en agar :de 1 % à 5 %. Elle augmente encore de manière significative ($\Delta\theta \sim 30^{\circ}$) en dessous de 1 %. Il est légitime de s'interroger sur la raison pour laquelle la surface d'un hydrogel d'agar composé à plus de 95 % d'eau présente une telle hysteresis et pourquoi celle-ci augmente lorsque le gel devient très dilué (m %<1 % en agar), alors qu'elle ne dépend plus de la concentration pour des gels plus concentrés ($1\,\% < m\,\% < 5\,\%$). La variation de la concentration en agar dans les gels joue directement sur les propriétés mécaniques de ce derniers. En outre, nous avons pu observer (cf fig 4.6) que pour des gels à faible teneur en agar, la déformation de leur surface par mouillage est possible. Cette déformation existe-t-elle pour des gels plus concentrés et peut-elle influencer les conditions de mouillage ?

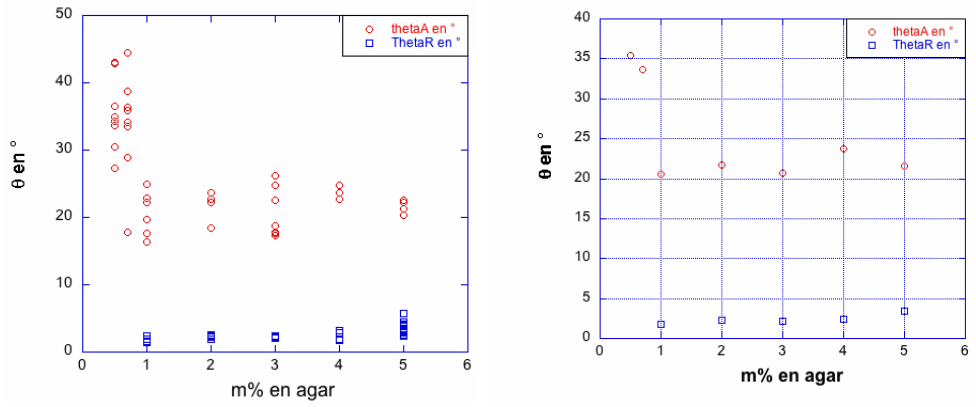


FIG. 4.10: Figure de gauche : angles d'avancée et de reculée mesurés pour des gels d'agar de différentes concentrations massique. Figure de droite : angles d'avancée et de reculée moyens.

4.3 Modification de l'hystérésis de mouillage des surfaces déformables

Le déformation de surfaces molles par mouillage est connue depuis longtemps [32] [9]. Cet effet est dû à la composante verticale de le tension de surface liquide/vapeur. Ce phénomène a fait l'objet de quelques publications théoriques : Rusanov [70] a formulé les conditions d'équilibre thermodynamique et le travail de déformation d'une goutte de liquide à la surface d'un corps élastique. Plus récemment, Shanahan [74] [75], en s'inspirant de l'analyse de Timoshenko [80] sur l'effet d'une force agissant verticalement sur un plan mince et infini, s'est intéressé à l'expression analytique du déplacement vertical et radial du substrat à l'extérieur de la goutte ainsi qu'à la dynamique d'étalement sur support viscoélastique [15] : le calcul montre qu' une

composante dissipative d'origine viscoélastique modifie la dynamique d'étalement de gouttes liquides sur ce type de substrat.

Contrairement à l'étalement sur couche liquide et substrat solide, l'étalement sur des surfaces déformables a fait l'objet de peu de publications expérimentales et peu de données sont disponibles, particulièrement sur les mesures d'angles de contact sur de telles surfaces. Bikerman [9] a montré qu'une goutte de mercure peut déformer un hydrogel. Michaels et Dean [63] ont mesuré les angles de contact d'huiles paraffine sur des hydrogel de silice, les mesures faites avant solidification des gels montrent des écarts de 10°à 20° par rapport a celles réalisées sur les gels solidifiés. Par ailleurs, la déformation de la surface est visible à l'oeil. Plus tard *Andrade et al.* [4] décrivent une observation similaire dans le cas d'une goutte d'eau placée sur un hydrogel hydroxy-acrylate réticulé. Yuk et Jhon ont étudié les angles d'avancée de gouttes d'alkane sur des gel d'hydroxyacrylate plongés dans l'eau ; les variations d'angles d'avancée sont calculées avec la formulation de Rusanov [70] pour la déformation du substrat. Leurs mesures montrent que les variations d'angles due à la déformation du substrat se manifestent lorsque le module de Young du gel est inférieur à 10 kPa mais n'ont pu identifier quelle composante de leur formulation est responsable de la déformation. Plus récemment, Extrand et Kumagai [29] se sont intéressés à la déformation de surfaces de caoutchouc réticulées et et non-réticulées par des gouttes d'éthylène glycol($\gamma = 47,7mN/m$) et d'eau. Ils montrent que l'hystérésis de l'angle de contact augmente quand le module de Young du substrat diminue jusqu'à une valeur limite où l'hystérésis prend une valeur similaire à celle observée sur des substrats de polymères hydrocarbonés d'énergie de surface équivalente. Ils définissent un critère pour que la modification de l"hystérésis soit notable : L'arête de déformation du substrat doit excéder la hauteur de la rugosité locale.

Ce critère est valide pour le caoutchouc dont le module de Young est inférieur à 5 MPa.

4.3.1 Déformation d'une surface par mouillage

En situation de mouillage partiel statique, sur un substrat rigide, la projection horizontale des forces conduit à la relation bien connue de Young-Dupré. La composante verticale est équilibrée par l'élasticité du substrat. Par opposition on utilisera le terme de surface déformable lorsque le substrat est suffisamment "mou" pour être déformé par la projection verticale de la force de mouillage. En d'autres termes, si le module de Young du substrat est suffisamment bas.

En comparant la composante verticale de la tension de surface eau/air au module de Young ($\frac{\gamma \sin\theta}{E}$) on obtient un rapport qui a la dimension d'une longueur (tableau 4.1). Cette distance représente la hauteur caractéristique sur laquelle le substrat est déformé.

Cette déformation, si elle est suffisamment importante, peut modifier les propriétés de mouillage de la surface

TAB. 4.1: Longueur de déformation de la surface du gel

m % agar	$\frac{\gamma \sin\theta}{E}$ en nm
0,5 %	10000
1 %	1000
2 %	200
3 %	140
4 %	85
5 %	60

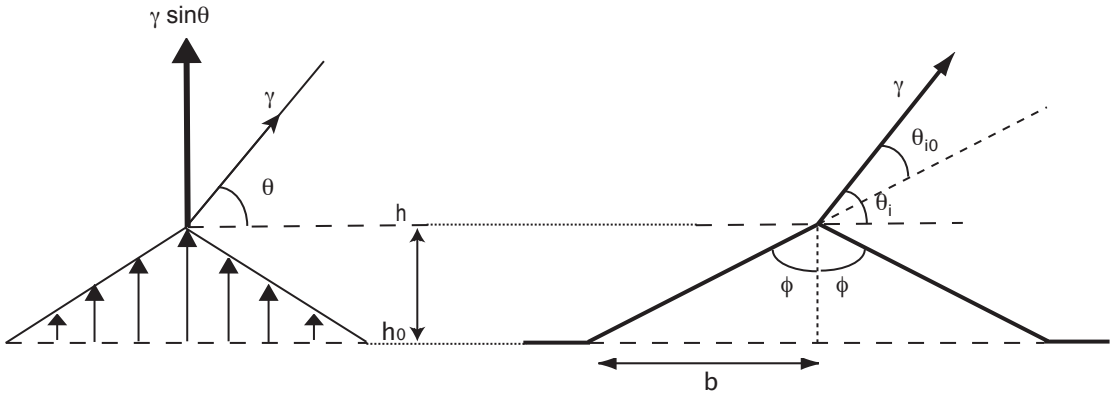


FIG. 4.11: Déformation d'une surface molle de hauteur initiale h_0 par la composante verticale de la tension de surface eau/air : $\frac{\gamma \sin\theta}{E}$

4.3.2 Modification de l'hystérésis de mouillage par déformation du substrat : le modèle d'Extrand et Kumagai

La formation d'une arête de mouillage par capillarité modifie localement l'inclinaison de la surface. De la même manière que la rugosité, on peu supposer que l'inclinaison locale de la pente va modifier l'angle de contact du liquide par rapport à l'horizontale.

Extrand et Kumagai [29] proposent une explication de ce phénomène en combinant une expression purement géométrique avec une approche analytique proposée par Shanahan et de Gennes : ils s'appuient en fait sur Gibbs [32] qui propose une relation reliant l'angle de contact apparent θ_i à l'angle de contact réel sur la surface inclinée $\theta_{i,0}$ (cf fig. 4.11)

$$\theta_i = \theta_{i,0} + 2(\pi/2 - \phi) \tag{4.5}$$

avec θ_i l'angle de contactapparent, $\theta_{i,0}$ représente le véritable angle de contact par rapport à la surface inclinée d'un angle $\pi/2 - \phi$ ou encore l'angle de contact sur la surface non déformée. En remplaçant ϕ par les données du problème :

$$\theta_i = \theta_{i,0} + 2\tan^{-1}(\frac{h}{b}) \tag{4.6}$$

Shanahan [74] a calculé la forme analytique $\zeta(X)$ de la déformation d'une surface élastique au voisinage d'une ligne de contact située en X=X_0 qui engendre une sorte d' arête induite par la composante verticale de la tension de surface du liquide :

$$\zeta = \frac{2\gamma(1-\nu^2)}{\pi E}\left[\sin\theta\ln(\frac{d}{X-X_0}) - \frac{\sin\theta}{2(1-\nu)} + \frac{(1-2\nu)\theta\cos\theta}{2(1-\nu)}\right] \tag{4.7}$$

où $\zeta(X)$ est le hauteur de la surface à une distance X du centre de l'arête de déformation X_0, ν est le coefficient de Poisson, d la portée latérale sur laquelle la déformation agit, E le module de Young du matériau et γ la tension de surface du liquide.

Cette expression présente une singularité lorsque $X \to X_0$. Shanahan et de Gennes [76] donnent une formule approchée dans ce cas c'est a dire lorsque $\zeta(X) \to h$, moyennant une coupure microscopique :

$$h \approx \gamma\sin\theta_i[\frac{4(1-\nu^2)}{E}] \tag{4.8}$$

Signalons ici qu'en toute rigueur, il y à un préfacteur logarithmique, la pente variant en$\frac{1}{x}$. Pour la déterminer, nous dérivons l'expression de la hauteur de la zone déformée par une goutte d'après Shanahan (4.7) :

$$\frac{\partial\zeta}{\partial X} = \frac{2\gamma(1-\nu^2)}{\pi E}\frac{\sin\theta}{X-X_0} \tag{4.9}$$

Il est possible de calculer $\frac{\partial \zeta}{\partial X}$ si l'on connaît E, $\sin\theta$ et $(X - X_0)$. Les résultats obtenus sont comparés aux valeurs de pentes données par notre méthode de reconstruction. Comme le montre la figure 4.12, il existe une bonne correspondance entre les valeurs de pente déterminées expérimentalement et celles issues de la formulation de Shanahan, notamment pour les pentes supérieures à 0,01 rad. En revanche, la distance latérale déformée semble surestimée par rapport aux valeurs mesurées.

Si à présent l'on considère que les hydrogels d'agar sont incompressibles dans la gamme de concentration étudiée, ce qui se traduit par un coefficient de Poisson $\nu = \frac{1}{2}$, alors :

$$h \approx \frac{3\gamma \sin\theta_i}{E} \tag{4.10}$$

En combinant (4.6) et (4.10) et en postulant que le substrat est faiblement déformé, c'est-à-dire $\tan^{-1}(\frac{h}{b}) \sim \frac{h}{b}$ on obtient finalement la relation suivante :

$$\theta_i = \theta_{i,0} \pm \frac{6\gamma \sin\theta_i}{bE} \tag{4.11}$$

Où θ_i peut être l'angle d'avancée θ_a ou de reculée θ_r. Dans le cas de l'avancée la contribution $\frac{6\gamma \sin\theta_a}{bE}$ vient s'additionner à l'angle $\theta_{a,0}$ alors qu'en reculée elle se soustrait à $\theta_{r,0}$. On voit donc bien que la déformation h peut augmenter l'hystérésis naturelle du mouillage.

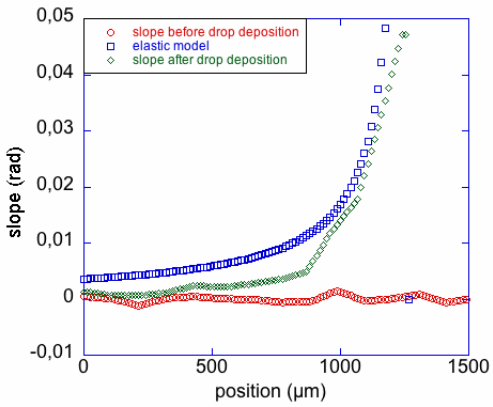


FIG. 4.12: Pente du bord gauche d'une goutte d'eau de$1\mu L$ sur un gel d'agar 0,7 %. La longueur microscopique X_0 est choisie de l'ordre du nanomètre. La courbe rouge représente la pente avant dépôt de la goutte, la courbe verte représente la pente après dépôt et la courbe bleue représente la pente calculée par l'expression de Shanahan pour la déformation de la surface par mouillage.

4.3.3 Angles de contact en fonction du module de Young E

La concentration du gel en agar étant directement reliée à ses propriétés mécaniques, les angles d'avancée et de reculée montrent le même comportement vis à vis au module de Young (cf fig. 4.13) que par rapport à la teneur du gel en agar. L'expression 4.11 montre une dépendance entre l'angle de contact apparent et la composante élastique de gel. Il s'agit d'une relation linéaire où l'angle de contact réel sur le surface est modulé par le rapport entre force capillaire et module de Young du substrat. La détermination de $\theta_{i,0}$ est impossible expérimentalement dans nos condition puisque notre méthode de détection repose sur la comparaison de la surface du gel avant et après dépôt d'une goutte : nous ne mesurons donc que l'angle apparent θi. Extrand et Kumagai proposent une détermination graphique de $\theta_{i,0}$ en portant θ_i en fonction de $\frac{\gamma \sin\theta_i}{bE}$. Dans cette représentation, le prolongement d'un ajustement linéaire en zéro fournit l'angle de contact sur un gel infiniment rigide (E $\rightarrow \infty$) soit l'angle de contact réel non biaisé par la déformation de surface : $\theta_{i,0}$. Dans le cas d'Extrand et Kumagai les données expérimentales s'alignent sur une droite (cf fig.4.14) qui permet de mesurer également b et semble indépendant de E. Cependant cette méthode fonctionne avec moins de précision pour nos mesures. Dans le cas des angles d'avancée, seuls les points correspondants aux gels à 0,5 % et 0,7 % sont sensibles à la variation du terme $\frac{\gamma \sin\theta_i}{bE}$. Les gels à plus forte concentration présentent des angles d'avancée constants indépendamment de la modulation introduite par ce terme. Il existe deux explications possibles à cela : soit le module de Young du gel devient beaucoup trop important et "tue" la contribution $\frac{\gamma \sin\theta_i}{bE}$ lorsque la concentration en agar dépasse les 1 %, soit le terme b présente une dépendance linéaire en $\frac{\gamma}{E}$ dans la région où la concentration dépasse les 1 % et par conséquent la contribution devient identique pour toute concentration supérieure à 1 %. Par cette méthode, nous obtenons toutefois $\theta_{r,0} = 3,1^\circ$ et $\theta_{a,0} = 21,4^\circ$

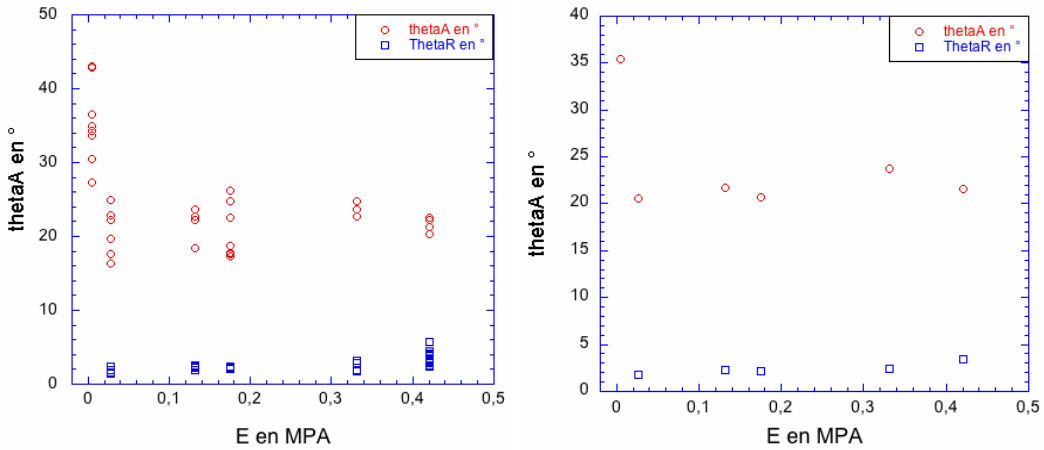


FIG. 4.13: Angles d'avancée et de reculée en fonction du module de Young du gel

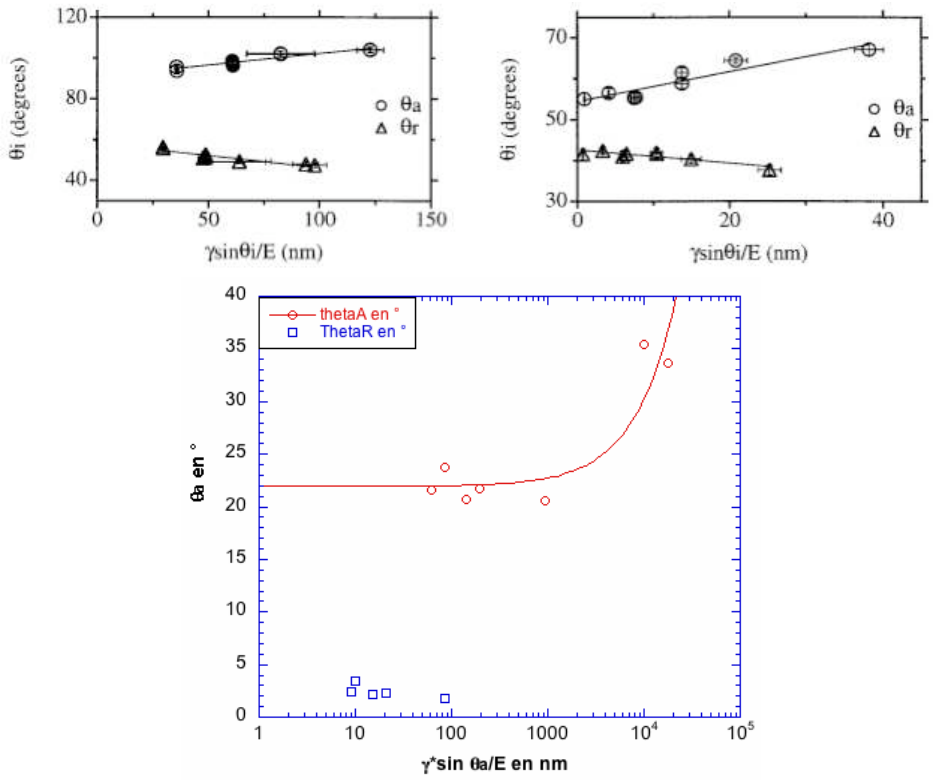


FIG. 4.14: Représentation graphique $\theta_i = \mathrm{f}(\frac{\gamma \sin \theta_i}{bE})$. Figures du haut : données expérimentales obtenues par Extrand et Kumagai. Figure du bas : angles de contact moyens obtenus par nos mesures, représentés en lin-log. La droite montre un exemple d'ajustement linéaire pour un lot de données.

TAB. 4.2: $\Delta\theta = \theta_i - \theta_{i,0}$ pour des gels d'agar de différents modules de Young. Un écart significatif apparaît pour un gel de 0,5 %

m % agar	E en kPa	$\theta_a - \theta_{a,0}$ en °	$\theta_{r,0} - \theta_r$ en °
0,5 %	4,1	14	
0,7 %	2,2	12,3	
1 %	26,3	-0,8	1,29
2 %	132	0,3 0	0,81
3 %	174,8	-0,7	0,90
4 %	330,5	2,3	0,66
5 %	421,3	0,2	-0,36

L'écart entre angle de contact apparent et angle de contact réels (cf. tableau 4.2) montre la contribution de la déformation du gel à la mesure de l'angle de contact. L'écart ne semble significatif que pour les gels à 0,5 % ($\Delta\theta = 14^\circ$) et 0,7 %($\Delta\theta = 12,3^\circ$). En d'autres termes seul un gel suffisamment "mou", donc très faiblement concentré en agar est suffisamment déformable pour modifier significativement l'angle de contact. Les expériences de *Bikerman et al.* [9] et de *Yuk et Jhon* [90] montrent la même tendance. Dans les mesures de Bikerman, une goutte de mercure déforme la surface d'un hydrogel dont le module de Young E est de 6 kPa. Yuk et Jhon montrent que pour les hydrogels dont E est supérieur à 10 kPa, le changement d'angle $\Delta\theta$ n'est pas perceptible et pour les plus mous ($E \simeq 1kPa$), la variation est de l'ordre de 2° à 3°. Dans notre cas, le changement s'opère pour des gels dont le module de Young est de cet ordre de grandeur (E = 4,1 kPa). La variation d'angle de contact mesurée est quant à elle plus importante que dans le cas de *Yuk et Jhon* mais reste dans la gamme de variation mesurée par Michaels et Dean [63]. Connaissant, $\theta_{i,0}$, il est également possible de calculer la déformation latérale du substrat lorsqu'elle est déformée par mouillage.

4.3.4 Echelle de la déformation latérale b selon Extrand et Kumagai

Dans le cadre de leur modèle, Extrand et Kumagai proposent de déterminer graphiquement b en l'assimilant à la pente des droites $\theta_i = \mathrm{f}(\frac{\gamma \sin\theta_i}{bE})$ (fig. 4.14) et fixant ainsi cette valeur quelle que soit la rigidité du substrat. Nous ne procéderons pas de la sorte pour deux raisons : nos données dans ce mode de représentation ne permettent pas un ajustement satisfaisant par une droite ; d'autre part, il n'existe, à priori, aucune raison de penser que la longueur b ne dépende pas du module de Young du gel et donc de sa concentration. Afin de rester dans le cadre du modèle d'Extrand et Kumagai, nous allons utiliser la relation (4.11) pour exprimer b en fonction des autres paramètres connus tel que :

$$b = \frac{6\gamma \sin\theta_i}{(\theta_i - \theta_{i,0})E} \tag{4.12}$$

Les valeurs obtenues par cette méthode (tableau 4.3) sont supérieures de deux ordres de grandeur à celles calculées par Extrand et Kumagai dans le cas de goutte d'eau en mouillage partiel sur des élastomères réticulés ou non ce qui semble en accord avec le fait que les modules de Young de leurs substrats soit cent fois plus élevés que les notres.

TAB. 4.3: Valeurs de b obtenues par la formule d'Extrand et Kumagai (4.12)

Concentration m % gel en agar	b en mm
0,5	0,24
0,7	0,49
1	0,4
2	0,22
5	0,1

4.3.5 Portée latérale de la déformation B : mesures expérimentales

Nous nous sommes posés la question de savoir si l'échelle b introduite par Extrand et Kumagai a un lien avec la portée latérale de la déformation B que nous mesurons directement avec notre dispositif expérimental. Grâce à une représentation spatio-temporelle d'une coupe du centre de la goutte, la déformation du substrat induite par le dépôt de celle-ci (cf fig. 4.15) peut être mesurée à chaque instant de part et d'autre de ses bords. L'estimation de B est obtenue en appréciant à l'oeil la distance sur laquelle on constate un décalage du motif entre l'instant qui précède le dépôt (t = -1 s) et le dépôt de la goutte (t = 0 s) (voir fig. 4.15). Le critère de choix pour la distance mesurée se fait par comparaison de la position des pixels à l'extérieur de la goutte,entre ces deux instants (correspondant à 2 lignes successives sur le diagramme). La mesure s'arrête lorsqu'entre ces 2 lignes successives, la discontinuité entre les pixels appartenant aux franges blanches et noires n'est plus observée. La mesure est effectuée à l'instant du dépôt de la goutte afin d'éviter que la mesure de B soit tronquée par la diffusion de l'eau dans le gel, qui amplifie progressivement sa déformation à mesure qu'elle prend de l'ampleur. Contrairement à la diffusion, la déformation du substrat par mouillage se produit à l'instant de la mise en contact de la goutte avec le gel, elle est donc instantanée. Cependant, à cause de la nature viscoélastique des gels, il faudrait attendre que la contrainte appliquée sur la surface du gel, relaxe vers l'équilibre pour mesurer la déformation réelle du gel lorsque la goutte est en situation de mouillage partiel à l'équilibre. Toutefois dans le cas des gels d'agar, des études dynamiques ont montré que la composante viscoélastique reste faible devant sa composante élastique [87] [37] : la mesure de la déformation par mouillage prise à l'instant du dépôt est donc très voisine de celle qui serait observée sur des temps plus longs.

Les mesures de B effectuées sur des gels d'agar de concentrations différentes (de 0,3 % à 5 %) (voir tableau 4.4) sont du même ordre de grandeur que celles déterminées par la formule (4.12). Toutefois, malgré cette concordance, l'origine du comportement de l'angle de contact en fonction de la concentration du gel en agar ne s'explique pas avec le modèle d'Extrand et Kumagai.

FIG. 4.15: Figure de gauche : bord supérieur droit du diagramme spatio-temporel d'une goutte d'eau sur un gel d'agar. Figure de droite : zoom sur le bord supérieur droit du spatio au moment du dépôt de la goutte (zone entourée sur la figure de gauche). Le trait rouge représente la mesure de B relevée à l'oeil.

TAB. 4.4: Mesure de la portée latérale de déformation B induite par le dépôt d'une goutte d'eau de 1 μL sur des gels d'agar de différentes concentrations

m % en agar	0,3 %	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %
B en mm	0,91	0,3	0,4	0,33	0,23	0,37
	1,22	0,38	0,39	0,22	0,25	0,43
	1,169	0,57	0,38	0,29	0,33	0,33
		0,71	0,34	0,275	0,36	0,34
		0,27	0,37	0,261		0,26
		0,37	0,38	0,31		0,5
		0,40	0,33			0,39
			0,4			0,4
						0,46
						0,3
						0,28
						0,24
						0,67
						0,38
						0,52
						0,32
						0,35

4.3.6 Une nouvelle formulation du problème : la prise en compte de la tension de surface du gel

Dans le but d'essayer de mieux comprendre le rôle respectif des différentes échelles spatiales b et B, nous allons essayer ici de reformuler le problème de la déformation de la surface du gel par la tension de surface du liquide de manière plus générale.

Si une force linéique tire sur la surface d'une portion de gel, celui ci se déforme jusqu'à satisfaire l'équilibre mécanique (cf figure 4.16) :

$$\gamma \sin\theta = Kr\sigma + \gamma_g \frac{\partial \zeta}{\partial x} \tag{4.13}$$

avec r la distance sur laquelle le gel subit un étirement, γ, la tension de surface de l'eau,γ_g celle du gel, σ la contrainte à une distance r dans le volume du gel s'opposant à son étirement, $zeta(x)$ la hauteur de l'interface gel/air à la position x et K un coefficient numérique à définir. A la différence des autres approches existantes de cette situation, nous considérons la contribution due à la tension de surface du gel qui s'oppose à la déformation.

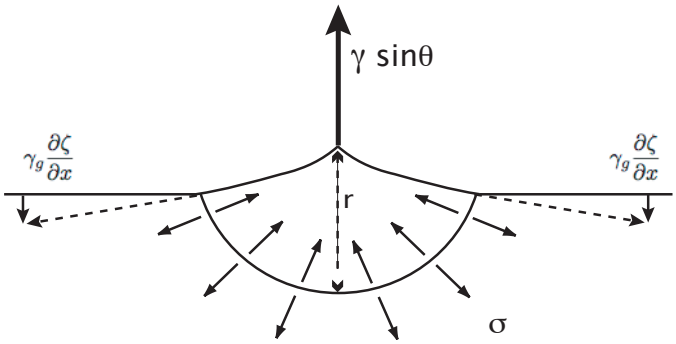


FIG. 4.16: Déformation local d'un gel par la tension de surface d'une goutte déposée à sa surface. La tension de surface déforme le gel sur une zone circulaire de rayon r. La contrainte engendré par cet étirement et la tension de surface du gel s'opposent à la déformation.

Par définition σ est tel que :

$$\sigma = E\epsilon = E\frac{\partial \zeta}{\partial x} \tag{4.14}$$

où ϵ est la déformation relative et E le module de Young du gel.

En combinant les expressions (4.13) et (4.14), on peut alors écrire :

$$\frac{\partial \zeta}{\partial x} = \frac{\gamma}{E}\frac{\sin\theta}{Kx + \frac{\gamma_g}{E}} = \frac{\gamma}{E}\frac{\sin\theta}{x + \beta\frac{\gamma_g}{E}} \tag{4.15}$$

Avec β un coefficient à définir.
En intégrant entre une longueur x quelconque et une longueur macroscopique x_∞ :

$$\zeta(x) = \frac{\gamma}{E}\sin\theta\log[\frac{x_\infty + \beta\frac{\gamma_g}{E}}{x + \beta\frac{\gamma_g}{E}}] = l_e \sin\theta \log[\frac{x_\infty + \beta l_g}{x + \beta l_g}] \tag{4.16}$$

avec $l_e = \frac{\gamma_g}{E}$ et $l_g = \frac{\gamma_g}{E}$ les longueurs élasto-capillaires respectives pour les interfaces eau/gel et air/gel Cette nouvelle expression de la hauteur de l'interface du gel ne diverge pas lorsque $x \to 0$ mais le terme logarithmique empêche la pente $\frac{\partial\zeta}{\partial x}$ de s'annuler lorsque $x \to 0$. Il faut donc chercher à introduire une échelle de coupure au dela de laquelle la pente devient nulle

Une échelle de coupure latérale

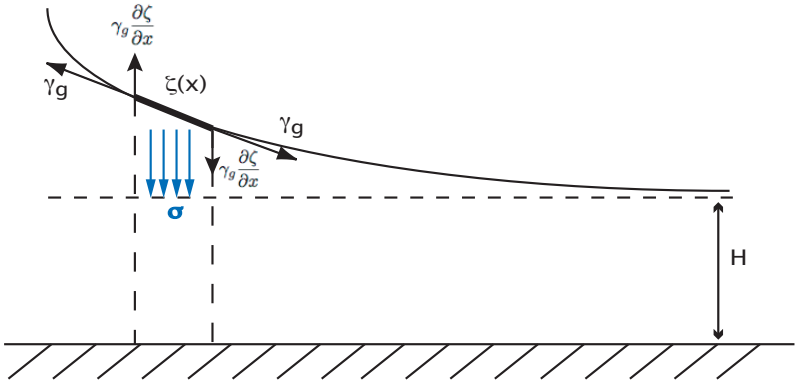


FIG. 4.17: Effet de la mise en tension sur un élément de surface de gel : la tension de surface du gel tire sur chaque bord de l'élément faisant apparaître une contrainte s'opposant à sa déformation.

Si l'on considère un élément d'interface du gel comme représenté figure 4.17, à chaque extrémité de cet élément, sa tension de surface tire sur ses bords faisant apparaître une contrainte σ dans le volume du gel s'opposant à la déformation de ce dernier. Ce cas est analogue à la situation de la tension d'une corde lestée.

L'équilibre mécanique dans ce cas se traduit par la relation suivante :

$$-\gamma_g \frac{\partial\zeta}{\partial x}\Big|_{x+dx} + \gamma_g \frac{\partial\zeta}{\partial x}\Big|_{x} = -\sigma dx \tag{4.17}$$

Dans le cas $x \gg H$, la déformation ϵ peut être approximée par le rapport de la hauteur à l'emplacement x sur la hauteur initiale de l'échantillon : $\epsilon \simeq \frac{\zeta(x)}{H}$ (cf fig 4.17). La contrainte σ s'écrit alors :

$$\sigma = E\frac{\zeta(x)}{H} \tag{4.18}$$

On peut alors réexprimer la relation (4.17) en :

$$\gamma_g \frac{\partial^2 \zeta}{\partial x^2} + \frac{E}{H}\zeta = 0 \tag{4.19}$$

dont les solutions sont du type :

$$\zeta(x) \simeq exp[\frac{-x}{b_m}] \tag{4.20}$$

où b_m est une échelle horizontale de coupure macroscopique telle que

$$b_m = \sqrt{\frac{H\gamma_g}{E}} \tag{4.21}$$

Cette longueur est calculée pour l'ensemble de la gamme des gels utilisés et les résultats sont indiqués tableau 4.5. Les valeurs ainsi calculées pour les gels de concentration 0,5 %, 0,7 % et 1 % coïncident avec les valeurs de portée de déformation B mesurées expérimentalement (cf tableau 4.4).

TAB. 4.5: Calcul de la l'échelle de coupure macroscopique b_m d'après la relation (4.21)

m % en agar	b_m en μm
0,5	270
0,7	370
1	107
2	50
3	40
4	30
5	27

Retour sur l'angle de contact

En se plaçant à nouveau dans le cas où une goutte déposée à la surface d'un gel le déformant par la composante verticale de sa tension de surface, on peut écrire une composition des angles (cf fig. 4.18) comme dans le cas d'Extrand et Kumagai :

$$\theta_{app} = \theta_g + \theta \tag{4.22}$$

Avec θ_{app} l'angle de contact apparent du liquide, θ_g la pente du gel au niveau de la ligne de contact et θ, l'angle de contact réel de la goutte sur la surface du gel. En considérant que la transition liquide/solide, au niveau de ligne de contact, se fait sur une échelle x_0, typiquement la maille du gel, alors on peut exprimer l'angle θ_g lorsque $x \rightarrow x_0$:

$$\theta_g \simeq \sin\theta_g \simeq \frac{\partial\zeta}{\partial x}\Big|_{x=x_0} = \frac{\gamma}{E}\frac{\sin\theta_{app}}{x_0+\beta\frac{\gamma_g}{E}} \tag{4.23}$$

Finalement :

$$\theta_{app} \simeq l_e\frac{\sin\theta_{app}}{x_0+\beta l_g} + \theta \tag{4.24}$$

Remarques :

- Dans cette nouvelle formulation, la formule proposée par Extrand et Kumagai (4.12) apparaît comme le cas particulier où la tension de surface du gel est négligée devant son élasticité $\beta\, l_g = 0$.

- Si à présent on considère le cas inverse, à savoir $\beta\, l_g \gg x_0$, alors $\theta_{app} \simeq \frac{\gamma}{\gamma_g}\frac{\sin\theta_{app}}{\beta} + \theta$. Soit $\frac{\beta\gamma_g}{\beta\gamma_g-\gamma}\theta$, si l'on considère que $\theta_{app} \ll 1$. Ou encore $\frac{\beta}{\beta-1}\theta$ si l'on considère, en plus, que les tensions de surface de l'eau et du gel sont voisines [89]. Dans cette situation, l'angle apparent est constant et ne dépend plus de l'élasticité du gel, donc de sa concentration. Cela pourrait être une explication possible pour la constance de nos angles en fonction du module de Young pour des gels de concentration massique en agar supérieure à 1 %.

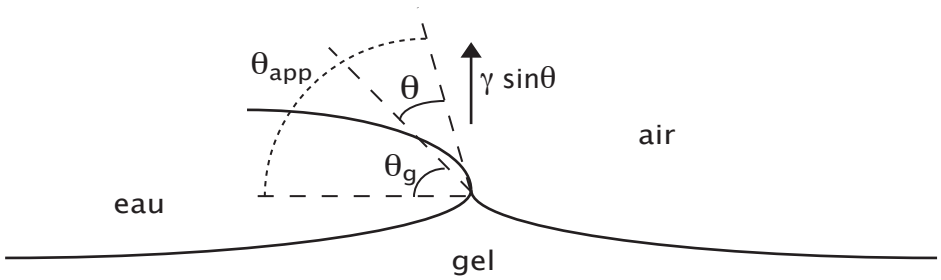


FIG. 4.18: Composition des angles pertinents dans la cas de la déformation d'un gel par la tension de surface d'une goutte : θ_{app} est l'angle apparent entre l'interface liquide/air et l'horizontale, il correspond à la somme de θ_g, la pente de la surface du gel au niveau de la ligne de contact, et de θ, l'angle réel d'avancée du liquide sur la surface du gel inclinée d'un angle θ_g

4.4 Devenir d'une goutte à la surface d'un gel : diffusion et évaporation

Une goutte d'eau déposée sur un gel d'agar finit par disparaître au bout d'un certain temps. La dynamique de disparition est aisément visible sur un diagramme spatio-temporel (cf fig. 4.2).Des expériences préliminaires montrent que le temps de disparition peut varier d'un facteur 10 d'une expérience à l'autre. Nous allons étudier l'influence de quelques paramètres afin d'indiquer des pistes de réflexion pour la compréhension du comportement d'une goutte d'eau sur un gel d' agar. Si des échelles de temps différentes semblent exister, le processus de disparition présente des caractéristiques communes dans tous les cas de figure : lors du dépôt une déformation est visible de part et d'autre de la ligne de contact (cf fig. 4.1 et fig. 4.2) ; et avec le temps la goutte s'affaisse, puis lorsque la ligne triple atteint l'angle limite de rétraction, elle recule jusqu'à disparition complète du liquide. Si le phénomène physique à l'origine de la disparition de la goutte est la diffusion, il n'est pas évident, expérimentalement de savoir s'il s'agit de diffusion dans le gel ou bien de diffusion du liquide dans l'air ambiant, c'est-à-dire d'évaporation. Les deux phénomènes sont envisageables : la situation d'une goutte de liquide en mouillage partiel sur un substrat poreux est en partie analogue à celle d'une goutte d'encre sur du papier qui a été largement étudiée pour les besoins de l'industrie de l'édition [17, 20, 21, 24, 50, 57] où l'imprégnation se fait par capillarité : il s'agit d'un écoulement dans un poreux dont l'efficacité dépend sensiblement de la mouillabilité des pores par le liquide. Il existe néanmoins une différence notable entre la résorption d'une goutte d'eau dans un gel d'agar et sur du papier : dans notre cas, le "poreux" est déjà gorgé d'eau.

Quelques expériences simples de mesure du temps de disparition de gouttes à la surface des gels peuvent apporter quelques éléments de réponse.

4.4.1 Influence de "l'âge" du gel

Ce qui est entendu ici par "âge" du gel, c'est la durée qui s'est écoulée depuis que la boite contenant le gel a été ouverte à l'air libre avant utilisation. En effet, l'eau contenue dans le gel s'évapore au cours du temps (voir les mesures d'évaporation de gels, chapitre 1). Si l'on considère la diffusion dans le volume du gel, cette variation constante de leur teneur en eau est susceptible d'avoir une influence sur le temps de disparition de la goutte en fonction de l'affinité des polymères d'agarose pour les molécules d'eau. Une série d'expériences est réalisée pour mesurer le temps de disparition d'une goutte de 1 μL déposée a la surface d'un gel à 1 % d'âges différents. Les gels sont préparés comme précédemment : la solution eau/agar à 1 % est placée dans une boite de Petri couverte pendant 25 min, puis les boîtes sont ouvertes et les gels laissés au contact de l'air le temps désiré (5 min, 15 min, 1 h, 10 h, 19 h 30). La disparition des gouttes est observée à l'oeil et chronométrée. Les mesures de temps et le temps moyen de disparition sont représentés sur la figure 4.19. Concernant l'évaporation pure, des mesures de gouttes d'eau sur substrat solide (boite de Pétri) sont conduites parallèlement, dans les même conditions de température et d'humi-

dité : 1 goutte de 1 μL s'évapore en 28 min 20 s ± 4 min et une goutte de 10 μL en 1 H 53 min ± 7 min. Une décroissance du temps de disparition en fonction de l'âge du gel est visible. Pour des gels âgés de 5 et 15 min ce temps est comparable à ceux obtenus pour l'évaporation d'une goutte d'eau sur substrat solide. Pour les gels âgés de 10 heures et plus, la goutte disparaît en 3 minutes, soit dix fois plus rapidement que pour un gel âgés de 5 minutes. Ici l'échelle de temps est inférieure d'un ordre de grandeur à celle de l'évaporation qui ne peut pas être le phénomène dominant. Dans ce cas précis, on observe un fort gonflement du gel localisé à l'endroit ou se trouvait la goutte. Il semble donc que l'âge du gel est un paramètre clef régulant la balance entre diffusion dans le gel et dans l'air : pour des gels jeunes, l'évaporation est le principal responsable de la disparition de la goutte d'eau, pour des gels plus vieux la diffusion du liquide dans le gel est favorisée.

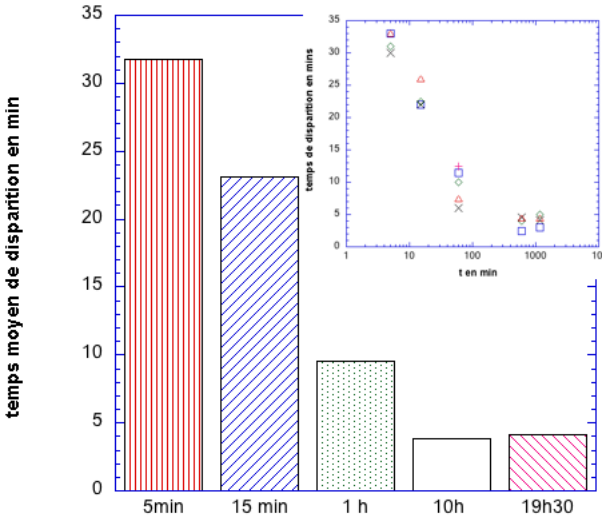


FIG. 4.19: Temps moyen de disparition d'une goutte d'eau de 1 μL sur un gel à 1 % d'âges différents. Le temps d'absorption de la goutte est dix fois plus grand pour un gel "jeune" (ouvert 5 minutes après solidification) que pour un gel plus "vieux" (laissé à l'air libre pendant plus de 10 heures après solidification). Dans l'encadré : mesures du temps de disparition des gouttes d'eau de 1 μL sur gel 1 % en fonction de l'âge du gel. T°= 23°C, humidité relative = 40 % ± 5 %

Concernant la diffusion dans le gel, plusieurs effets peuvent être à l'origine de ce phénomène. Il est probable qu'au moment de sa formation le gel est dans un état thermodynamique de stabilité relative grâce à la solvatation des polymères d'agarose. Une expérience va dans le sens de cette supposition : l'ajout de 20 mL d'eau à la surface de gels venant juste d'être préparés ne fait pas varier significativement son poids même après 48 h. L'évaporation de l'eau contenue dans ce dernier l'écarte

progressivement de cet état d'équilibre, si bien qu'au bout d'un certain temps, le dépôt d'une goutte d'eau à la surface libre du gel est une situation moins favorable energetiquement que la diffusion de cette goutte dans le gel afin d'hydrater à nouveau les polymers et ainsi tendre à ramener le système vers un états de plus basse énergie. Cette situation est en fait un cas de diffusion pilotée par pression osmotique : la goutte à la surface du gel étant plus concentrée en "eau pure" qu'un volume équivalent de gel (qui contient des polymères d'agarose et de l'eau), il est alors probable que l'eau de la goutte se trouve en surpression par rapport à celle contenue dans le gel. Si l'hypothèse de la pression osmotique est correcte, alors une diminution du temps d'absorption doit être relevée sur des gels plus concentrés en agarose. Ou encore une dilution en eau des gouttes posées à la surface du gel doit entraîner une diminution du temps d'absorption. L'écoulement dans le réseaux poreux du gel peut aussi être évoqué, mais il semble peu probable puisqu' à priori celui-ci contient déjà de l'eau "libre"

4.4.2 Influence de la concentration en eau de la goutte déposée

L'idée ici est simple, il s'agit d'explorer l'hypothèse de la diffusion de l'eau dans le gel par pression osmotique. Afin de diminuer cette pression exercée par une goutte sur le gel, l'eau est mélangée en quantité égale avec de glycérol. Ainsi la nouvelle solution présente une concentration en eau moins élevée, diminuant également la pression osmotique ressentie par le gel. Pour des gels jeunes (utilisés 5 mins après séchage) à 2 %, les temps de disparition de gouttes de différents volumes d'eau et de solution sont mesurés et comparés (cf fig. 4.20). Même s'il est légèrement plus élevé, le temps moyen de disparition des gouttes de solution eau/glycerol est très proche de celui d'une goutte d'eau de même volume. Il existe donc bel et bien un processus de diffusion dans le volume du gel pour un gel jeune dont l'échelle de temps est voisine de l'évaporation, mais le phénomène d'osmose ne semble pas y contribuer de manière significative.

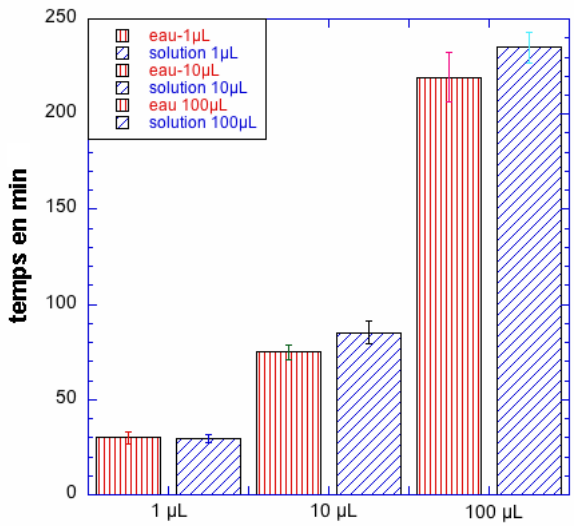


FIG. 4.20: Temps moyen de dispariton d'une goutte d'eau et de solution eau/glycerol de différents volumes (1 μL, 10 μL et 100 μL) sur un gel à 2 %.T°= 23°C, humidité relative = 40 % ± 5 %

4.4.3 Influence de la concentration du gel en agar

Dans les gels d'agar, la concentration en polymères influence la taille des pores. D'une manière générale, plus le réseau matriciel contient de polymères et plus celui-ci est dense, réduisant ainsi la taille caractéristique de la maille. Dans le cas de la diffusion de solvant dans le papier [17], une variation de la taille du pore d'un facteur 2 ou 4 modifie significativement la vitesse de résorption des gouttes dans le substrat. Pour les gels d'agar, dans la gamme de concentration en agarose testée, il ne semble pas y avoir de manifestation distincte d'une influence sur le temps de disparition d'une goutte d'eau ou d'une goutte de solution eau/glycerol. Le temps moyen mesuré pour une goutte de 1 μL d'eau est relativement constant d'une concentration à l'autre (cf fig. 4.21). Comme précédemment pour 0,5 %, 1 % et 2 %, les temps de disparition de gouttes de solution sont légèrement plus élevés mais très proches de ceux d'une goutte d'eau de même volume (cf fig. 4.22). Les mesures concernant les gels à 0,5 % sont plus incertaines puisque la déformation permanente du substrat après dépôt d'une goutte rend plus difficile la détermination claire du temps de disparition.

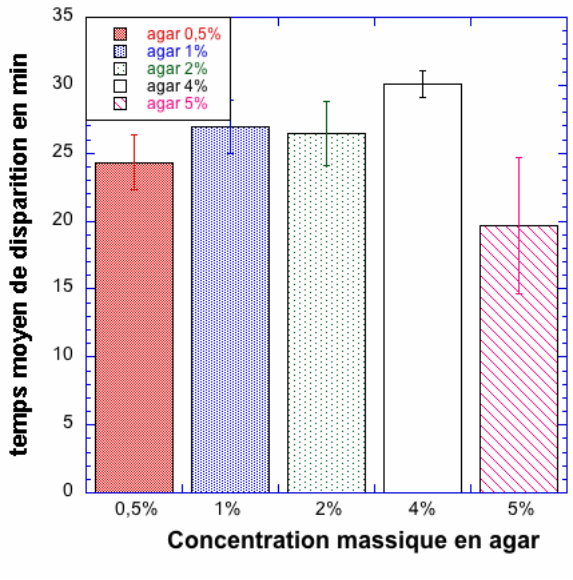


FIG. 4.21: Temps moyen de disparition d'une goutte d'eau d'$1\mu L$ en fonction de la concentration massique du gel. Les mesures sur les gels de $0,5\,\%$ sont plus incertaines à cause de la déformation permanente du gel par la goutte. T°= 23°C, humidité relative = $40\,\% \pm 5\,\%$.

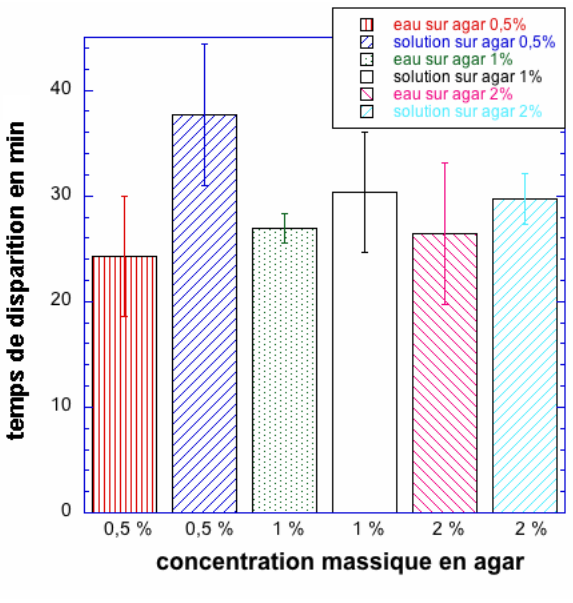


FIG. 4.22: Temps moyen de disparition d'une goutte de 1 μL d'eau et de solution eau/glycerol pour différentes concentrations massiques en gel (0,5 %, 1 % et 2 %). T°= 23°C, humidité relative = $40\,\% \pm 5\,\%$

4.5 Conclusion

Les mesures effectuées dans ce chapitre sur les angles de contact d'une goutte d'eau à la surface d'un gel d'agar montrent qu'il existe un fort hystérésis de mouillage. Cet hystérésis augmente encore lorsque la concentration du gel en agar diminue alors qu'il semble constant pour les concentrations plus élevées (supérieure à 1 %m). Nous avons alors essayé d'expliquer nos résultats par un modèle élaboré par Extrand et Kumagai [29], inspiré des travaux de Shanahan [15, 76] qui prédisent une modulation de l'hystérésis en fonction de la déformation du substrat, mais sans succès. Dans le modèle d'Extrand et Kumagai, l'échelle de déformation latérale b ne dépend pas du module de Young, ni de la tension de surface du substrat qui jusqu'ici a été négligée. En partant de ce constat, nous proposons un modèle tenant compte de ce nouvel élément afin d'obtenir une nouvelle formulation de la hauteur de gel déformé par mouillage. Le résultat obtenu présente un rapport de coupure logarithmique comme dans le cas de Shanahan mais cette fois-ci la divergence est levée lorsque l'on s'approche de l'échelle de la ligne de contact. Cette nouvelle approche a permis de redéfinir une échelle de coupure macroscopique b_m cohérente avec nos observation pour les gels dont le module de Young est le plus bas. Par contre il subsiste une différence d'un ordre de grandeur entre b_m et B dans le cas des gels à module de Young plus élevé.

Cette approche a également permis de donner une nouvelle formulation de l'angle de contact apparent pour la goutte dont la formule donnée par Extrand et Kumagai apparaît être le cas particulier où la tension de surface du gel est négligée devant son élasticité. A l'inverse, le cas opposé où la tension de surface du gel est prépondérante, donne une expression constante pour l'angle apparent qui ne dépend plus de l'élasticité du gel. Ce phénomène pourrait peut-être expliquer pourquoi nous mesurons un angle apparent constant pour des gels dont la concentration massique est supérieure ou égale à 1 %.

Enfin quelques mesures de temps de disparition de gouttes d'eau à la surface d'un gel d'agar ont permis de montrer que "l'âge" du gel joue un rôle d'arbitre entre diffusion dans le gel et évaporation : si dans le cas des gels âgés, le temps de disparition ne laisse aucun doute sur la diffusion de l'eau de la goutte vers le gel, dans celui des gels plus jeunes, le temps de disparition tend vers le temps d'évaporation. Toujours dans le cas des gels jeunes, l'utilisation de gouttes d'eau pure et de solution mixte eau/glycérol a permis de montrer que même si les gouttes de solution mixtes sont légèrement plus longues à la disparition, la pression osmotique exercée par les gouttes ne semble pas intervenir significativement dans le processus de disparition.

5 Conclusions Générales

Les travaux menés au cours de cette thèse ont initialement été inspirés par une problématique d'origine biologique. La question portait sur l'existence éventuelle de mécanismes physiques responsables du phénomène de "swarming" (migration en masse) des bactéries *B. subtilis* sur leur milieu de culture à base d'agar. Au cours du processus, *B. subtilis* produit un biosurfactant (la surfactine) capable de modifier les propriétés de mouillage à la surface des milieux de culture. Nous nous sommes donc intéressés dans un premier temps aux propriétés d'étalement de gouttes de solution de surfactine à la surface de ces gels nutritifs constitués de macropolymères d'agar, de substances nutritives (sels ioniques, acides aminés et sucres) et très majoritairement d'eau (entre 95 % et 99,5 % du poids total du gel). Il nous est rapidement apparu qu'il existait deux scénarios possibles en fonction de la nature du substrat employé. Dans le cas des gels d'agar sans addition de nutriments, la goutte s'étale jusqu'à occuper une certaine surface avec une extension radiale finie puis se rétracte et disparaît alors que le cas des gels contenants des substances nutritives présente à la fois des similitudes mais aussi une différence importante : comme dans le cas des gels d'agar, la goutte prend un extension finie mais dans l'intervalle de temps ou elle commence à se rétracter, un front de surfactine apparaît, se détache de la goutte, et continue à se propager selon sa dynamique propre. La structure précise de ce front n'est pas encore bien claire, on peut se poser la question de savoir s'il s'agit d'un choc ou non. Cependant quelques experiences qualitatives semblent indiquer une extension spatiale non nulle avec un éventuel profil précurseur en surfactants à l'avant du front. Ce front de surfactine est par ailleurs observé au cours du swarming de *B. subtilis* sur milieux de culture.

Nous avons bien sûr étudié la structure et et la dynamique de ce front. Nous avons mis au point au cours de cette thèse une méthode de détection optique pour suivre l'évolution de la surface libre du gel et de la goutte au cours du temps. Si cette méthode ne permet pas d'établir une délimitation entre surface du gel et surface de la goutte elle est en revanche très sensible aux des faibles variations de pentes. La reconstruction du profil de pente associé au front de surfactine en etalement montre que sa propagation s'accompagne d'un gonflement du gel, de sorte que l'on peut aussi parler d"un "front de gonflement". Grâce à cette méthode, nous avons montré que la structure et la vitesse moyenne du front diminuent avec la concentration du milieu de culture en agar et ne sont plus détectés pour des gels de concentration massique supérieure ou égale à 2 %. En revanche la concentration en surfactine ne semble jouer sur la vitesse du front que dans une certaine gamme de concentrations inférieures à 1 g/L. Lorsque l'on regarde le developpement du swarming chez *B. subtilis* sur des gels de milieu B de diverses concentrations, il

existe une corrélation frappante entre le développement du front de surfactant tel que nous l'avons observé et l'accomplissement du swarming dans les expériences de biologie. Plus le gel est concentré, moins le front se développe et moins le swarming est abouti. Si bien que pour des gels à 2 % de concentration massique en agar, le front n'existe plus et le swarming ne se produit plus du tout. Cette observation montre que dans du swarming sur milieu B, la présence du front de surfactant est nécessaire à la colonisation de la surface par *B. subtilis*. Nous supposons, à ce propos que le gonflement du gel accompagnant le front de surfactine permet aux bactéries d'évoluer dans une couche de surface plus diluée et de faciliter ainsi leur mouvement. Nous avons identifié ici un élément clef du swarming chez *B. subtilis* sur milieu B. Cette observation est toutefois à mettre en perspective d'une compréhension plus globale du swarming dont il semble exister plusieurs voies d'expression : en effet, des mutants *B. subtilis* incapable de produire de la surfactine sont tout à fait capable de coloniser la surface d'un gel de culture de milieu LB. Les différences de motifs de la colonie obtenues dans ce cas [45] confirment bien que la colonie ne croit pas et ne se propage pas de la même manière. La présence du front de surfactine apparaît alors comme une condition suffisante mais non nécessaire à la réalisation du swarming. Cette observation pose la question du rôle de la physico-chimie des différents milieux de culture dans le processus. Une autre voie envisagée pour la colonisation des surface par *B. subtilis* consisterait un mécanisme d'advection des bactéries, à cause des tensioactifs libérés par celles-ci. En effet, une production localisée de surfactants dans le temps et dans l'espace provoque un abaissement de tension de surface du liquide qui se retrouve ainsi cisaillée en surface. Nos mesures de vitesses de front étant très similaires à celles du front de surfactine *in situ* et celles des bactéries en phase d'expansion [43], cette possibilité est envisageable mais reste à quantifier. Il serait donc intéressant, dans cette optique, de concevoir une expérience de suivie de particules passives de la taille de bactéries déposées à la surface d'un gel de culture lorsque qu'un front de surfactine envahit la zone où elles se trouvent, afin de reconstituer leur champ de déplacement.

D'un point de vue plus fondamental, nous nous sommes également intéressés plus spécifiquement à la dynamique d'étalement de gouttes de surfactine et d'huile sur de tels milieux. L'ensemble de nos mesures montre que lors du processus d'étalement de surfactine sur des milieux de culture, deux régimes existent, l'un correspondant à l'étalement de la goutte et le second à la propagation du front. Chaque régime se caractérise par une dynamique en loi de puissance du type $r(t) = r_0 t^\alpha$ où α est l'exposant de croissance en fonction du temps. Dans les deux cas une dépendance en fonction de la concentration de milieux en agar et en fonction de la concentration en surfactant existe contrairement aux observations de *Kaneko et al.* [47] et *Szabó et al.* [78]. Par ailleurs des écarts importants existent entre les exposants relevés pour les milieux B et LB à concentration en agar identique, pointant ainsi une non-universalité des exposants dans nos conditions expérimentales. La présence du front de surfactine semble dépendre de la physico-chimie du gel servant de substrat. Une meilleure compréhension des conditions exactes d'existence du front passera donc par

une bonne maîtrise de la physico-chimie des gels utilisés.Les valeurs d'exposants mesurés varient ainsi entre $0,15 < \frac{\alpha}{2} < 0,39$ et $0,12 < \frac{\beta}{2} < 0,22$, nous situant ainsi bien loin des valeurs d'exposants issues du modèle de *Szabó et al.*, qui prédit un exposant d'étalement de 0,5 pour un liquide à faible tension de surface sur un gel. Nous avons alors essayé à partir d'ingrédients simples de construire phénoménologiquement un modèle analogue prenant en compte la présence de surfactants dans notre cas. Il apparaît alors qu'une redéfinition de la zone de dissipation visqueuse et l'ajout d'une loi de dilution du surfactant suffisent à expliquer la faiblesse de nos exposants. Par ailleurs la nature viscoélastique des gels suggère qu'un composante dissipative de cette nature y contribue également dans une proportion qui reste à définir. Cette quantification passera notamment par une meilleur connaissance du coefficient de pertes Δ_p introduit par Shanahan [15], qui semble présenter une dépendance avec la vitesse d'étalement. De manière très surprenante, l'étalement d'huile V5 (viscosité proche de l'eau et $\gamma = 20{,}5$ mN/m) montre également l'existence de deux régimes d'étalement, néanmoins la dynamique semble différente du cas d'étalement de surfactine. Alors que cette situation est très proche du cas de *Szabó et al.* et de *Kaneko et al.* la dynamique d'étalement est différente même si l'exposant du second régime $\frac{\beta}{2} \sim 0,33$ correspond à ceux déterminés par *Kaneko et al.* pour l'étalement d'un liquide non-miscible sur un gel. Dans le situation d'étalement d'huile, il n'existe bien sûr pas de font de surfactant et nous ne possédons pas d'explications à ce phénomène.

Nous avons donc ici proposé une étude dynamique de l'étalement sur gels d'agar. La présence du front de surfactine semble dépendre de la physico-chimie du gel servant de substrat. Une meilleur compréhension des conditions exactes d'existence du front passera donc par une bonne maîtrise de la physico-chimie des gels utilisés. Des mesures de perméabilité pour ces gels d'agar seraient souhaitables afin de déterminer de manière précise la taille typique d'une maille du gel et explorer sa dépendance exacte avec la teneur en agar.

Dans la seconde partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à un aspect plus fondamental de ce sujet : le mouillage sur les gels d'agar. Notre méthode de détection nous a permis de mesurer des angles de reculée très faibles avec une très bonne précision. Les angles d'avancée ont quant à eux été mesurés par la méthode du gonflage de goutte. Une hystérésis de mouillage importante est relevée. Si celle-ci semble constante au-delà d' une certaine concentration massique en agar, typiquement 1 %, elle augmente d'avantage à mesure que les gels sont de moins en moins concentrés. Cette constatation est assez surprenante puisqu'il s'agit d'une situation ou une goutte de solvant se retrouve en situation de mouillage partiel sur un substrat constitué à plus de 95 % (jusqu'à 99,5 %) du même liquide. Une goutte déposée à la surface d'un milieu mou est capable de le déformer grâce à la composante verticale de sa tension de surface et peut modifier de la sorte son angle de contact apparent avec l'horizontale. Les modèles expliquant ce phénomène ne parviennent pas à décrire nos données [29], et une certaine incertitude subsiste quant à la bonne manière de calculer la portée latérale de la déformation. Une reformulation de cette situation en

prenant en compte la tension de surface du gel, jusqu'alors ignorée permet de lever les problèmes de divergence à petite échelle, de redéfinir une échelle de déformation latérale, dépendante de l'épaisseur du gel, cohérente avec nos observation et de proposer une piste de compréhension pour le comportement de l'hystérésis de mouillage en fonction de la concentration du gel en agar. Des mesures sur l'effet de la variation de hauteur d'un gel sur l'échelle latérale de déformation seraient précieuses pour tester la validité de notre modèle.

Enfin des mesures de disparition de gouttes de d'eau et de solution eau/glycérol montrent que le taux de déshydration joue un rôle important dans le processus de disparition de la goutte dans le gel. Par contre la concentration du gel en agar sur la gamme testée (1 % à 5 % massique) ne semble pas influer sur ce processus. Pour des gels jeunes (temps de séchage de 5 min), le temps de disparition d'une goutte d'eau sur un gel est similaire au temps d'évaporation d'un même volume sur substrat solide. Il est probable dans ce cas que l'évaporation occupe une place importante dans le processus mais reste à quantifier. Une étude sur l'importance relative de l'évaporation par rapport à la diffusion dans le gel pour des gels d'âges différents serait une source d'information précieuse afin de maîtriser un peu mieux les phénomènes en présence pour un gel d'âge donné

Bibliographie

[1] **Adia B. Afasar-Siddiqui**, Paul F. Luckham, and Omar K. Matar. Unstable spreading of aqueous anionic surfactant solutions on liquid films. part1. sparingly soluble surfactant. *Langmuir*, 19 :696–702, 2003.

[2] **Adia B. Afasar-Siddiqui**, Paul F. Luckham, and Omar K. Matar. Unstable spreading of aqueous anionic surfactant solutions on liquid films. part2. sparingly soluble surfactant. *Langmuir*, 19 :703–708, 2003.

[3] **Adia B. Afasar-Siddiqui**, Paul F. Luckham, and Omar K. Matar. Dewetting behavior of aqueous cationic surfactant solutions on liquid films. *Langmuir*, 20 :7575–7582, 2004.

[4] **J. D. Andrade**, R. N. King, D. E Gregonis, and Coleman D. L. *J. Polym. Sci. Symp*, 66 :313, 1979.

[5] **A. E. Bell**. *Water and food quality*, chapter 7 : Gel structure and food biopolymers. Hartman, 1989. Thelman Ed.

[6] **E. Ben-Jacob**, H. Shmueli, O. Shochet, and A. Tenenbaum. Adaptative self-organization during growth of bacterial colonies. *Physica A*, 187 :378–424, 1992.

[7] **E. Ben-Jacob**, A. Tenenbaum, O Shochet, I. Cohen, A Czirok, and T Vicsek. generic modelling of cooperative growth patterns in bacterial colonies. *Nature*, 368 :46–49, 1994.

[8] **G. Berteloot**, C.-t. Pham, A. Daerr, F. Lequeux, and L. Limat. Evaporation-induced flow near a contact line : Consequences on coating and contact angle. *Europhysics Letters*, 83 :14003, 2008.

[9] **J. J. Bikerman**. *J.chem. Phys.*, 63 :1658, 1959.

[10] **K. A. Bisset**. The zonation phenomenon and structure of the swarm colony in *Proteus mirabilis*. *J Med Microbiol*, 6 :429–433, 1973.

[11] **H. C. Brinkman**. *Physica (Amsterdam)*, 13 :447, 1947.

[12] **B. Cabane** and S. Hénon. *Liquides : Solutions, dispersions, émulsions, gels.* 2003.

[13] **M. Cachile**, G. Albisu, A. Calvo, and A.M. Cazabat. Contact-line instabilities in liquids spreading on solid substrates. *Physica A*, 329 :7–13, 2003.

[14] **M. Cachile**, A. M. Cazabat, S. Bardon, M. P. Valignat, and F. Vandenbrouck. Spontaneaous spreading of surfactant solutions on hydrophilic surfaces. *colloids and Surfaces A*, 159 :47–56, 1999.

[15] **Alain Carré** and Martin E. R. Shanahan. Freinage viscoélastique de l'étalement d'une goutte. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 317 :1153–1158, 1993.

[16] **A. H. Clark** and S. B. Ross-Murphy. The concentration dependance of biopolymer gel modulus. *Brit. Polym. J.*, 17 :164–168, 1985.

[17] **A. Clarke**, T. D. Blake, K. Carruthers, and A. Woodward. Spreading and imbibition of liquid droplets on porous surfaces. *Langmuir*, 18 :2980–2984, 2002.

[18] **T. Cubaud** and M. Fermigier. Advancing contact lines on chemically patterned surfaces. *J. Colloid Interface Sci.*, 269 :171, 2004.

[19] **Karen E. Daniels**, Shomeek Mukhopadhyay, Paul J. Houseworth, and Robert P. Behringer. Instabilities in droplets spreading on gels. *Physical Review Letters*, 99, 2007.

[20] **S. H. Davis** and L. M. Hocking. Spreading and imbibition of viscous liquid on a porous base. *Physics of Fluids*, 11(1) :48–57, 1999.

[21] **J. De Coninck**, M. J. de Ruijter, and M. Voué. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 6 :49, 2001.

[22] **P. G. de Gennes**. Wetting : statics and dynamics. *Reviews of Modern Physics*, 57(3) :827, 1985.

[23] **Pierre-Gilles de Gennes**, Franǫise Brochard-Wyart, and David Quéré. *Gouttes, bulles, perles et ondes*, chapter 2, pages 42–47. 2005.

[24] **M. J. de Ruijter**, M. Charlot, M. Voué, and J. De Coninck. *Langmuir*, 13 :2363, 2000.

[25] **Delphine Debois**, Kassem Hamze, Vincent Guérineau, Jean-Pierre Le Caër, I. Barry Holland, Philippe Lopes, Jamal Ouazzani, Simone J. Séror, Alain Brunelle, and Olivier Laprévote. In situ localization and quantification of surfactins in a *Bacillus subtilis* swarming community by imaging mass spectrometry. *Proteomics*, 8 :3682–3691, 2008.

[26] **R.D. Deegan**, O. Bakajin, T.F. Dupont, G.Huber, S.R. Nagel, and T.A. Witten. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature*, (389), 1997.

[27] **E. B. Dussan**. On the spreading of liquids on solid surfaces : static and dynamic contact lines. *Ann. Rev. Fluid. Mech.*, 11 :371–400, 1979.

[28] **Goran Enhorning**, Andrew Shennan, Fred Possmayer, Michael Dunn, Chee P. Chen, , and John Milligan. Prevention of neonatal respiratory distress syndrome by tracheal instillation of surfactant : A randomized clinical trial. *PEDIATRICS*, 1985.

[29] **C. W. Extrand** and Y. Kumagai. Contact angles and hysteresis on soft surfaces. *Journal of colloid and interface science*, 184, 1996.

[30] **B. Franck** and S. Garoff. Origins of the complex motion of advancing surfactant solutions. *Langmuir*, 11 :87, 1995.

[31] **Donald P. Gaver** and James B. Grotberg. The dynamics of a localized surfactant on a thin film. *J. Fluid Mech.*, 213 :127–148, 1989.

[32] **J. W. Gibbs**. *Scientific Papers*, 1, 1906. Dover Reprint, Dover, NY, 1961.

[33] **Jian Ping Gong**, Takayuki Kurokawa, Tetsuharu Narita, Go Kagata, Yoshihito Osada, Goro Nishimura, and Masataka Kinjo. Synthesis of hydrogels with extremely low surface friction. *Journal of the American Chemical Society*, 123(23) :5582–5583, 2001.

[34] **Jian Ping Gong** and Yoshihito Osada. Gel friction : A model based on surface repulsion and adsorption. *The Journal of Chemical Physics*, 109(18) :8062–8068, 1998.

[35] **Kassem Hamze**, Sabine Autret, Krzysztof Hinc, Daria Julkowska, Romain Briandet, Margareth Renault, Cédric Absalon, I. Barry Holland, and Simone J. Séror. Spatiotemporal analysis of flagellin gene expression defines a specific subpopulation of cells at the onset of swarming in *Bacillus subtilis* that spearheads the tips of elongating dendrites. *To be published.*

[36] **Kassem Hamze**, Daria Julkowska, Sabine Autret, Krzysztof Hinc, Krzysztofa Nagorska, Agnieszka Sekowska, I. Barry Holland, and Simone J. Séror. Identification of genes required for different stages of dendritic swarming in *Bacillus subtilis*, with a novel role for *phrC*. *Microbiology*, 155 :398–412, 2009.

[37] **Thelma M. Hardman**. *Water and Food quality*, pages 251–273. applied science. Elsevier Ed., 1989.

[38] **R. M. Harshey** and T. Matsuyama. Dimorphic transition in escherichia coli and Salmonella typhimurium : surface-induced differentiation into hyperflagellate swarmer cells. In *Proc Natl Acad Sci U S A*, volume 91, pages 8631–5, 1991.

[39] **David. P. Hoult**. spreading oil on sea. *Annual Review of Fluid Mechanics*, pages 341–368, 1972.

[40] **J. Hyppia**. *Anal. Chem.*, 20 :1039, 1984.

[41] **O. A. Igoshin**, A. Goldbeter, D. Kaiser, and G. Oster. A biochemical oscillator explains several aspects of *Myxococcus xanthus* behavior during development. In *Proc Natl Acad Sci U S A*, number 101, pages 15760–5, 2004.

[42] **O. E. Jensen**. Self-similar, surfactant-driven flows. *Phys. Fluids*, 6 :1084, 1994.

[43] **D. Julkowska**. *Une analyse cytologique, génétique et physique du processus de "swarming" chez Bacilus subtilis, Université Paris 11.* PhD thesis, 2005.

[44] **D. Julkowska**, M. Obuchowski, I. B. Holland, and S. J. Séror. Comparative analysis of the development of swarming communities of *Bacillus subtilis* 168 and a natural wild type : Critical effects of surfactin and the composition of the medium. *Microbiology*, 150 :1839, 2004.

[45] **Daria Julkowska**, Michal Obuchowski, I. Barry Holland, and Simone J. Séror. Branched swarming patterns on a synthetic medium formed by wild-type *Bacillus subtilis* strain 3610 : detection of different cellular morphologies and constellations of cells as the complex architecture develops. *Microbiology*, 150 :1839–1849, 2004.

[46] **D. Kaiser**. Social gliding is correlated with the presence of pili in *Myxococcus xanthus*. In *Proc Natl Acad Sci U S A*, volume 76, pages 5952–6, 1979.

[47] **D. Kaneko**, J. P. Gong, and Y. Osada M.Zrinyi. Kinetics of fluid spreading on viscoelastic substrate. *J. polymer. Sci. B*, 43 :562, 2005.

[48] **Kazunori Kataoka**, Hiroaki Miyazaki, Masayuki Bunya, Teruo Okano, and Yasuhisa Sakurai. Totally synthetic polymer gels responding to external glucose concentration : Their preparation and application to on-off regulation of insulin release. *J. Am. Chem. Soc.*, 120(48) :12694–12695, 1998.

[49] **K. Kawasaki**, A. Muchiuzuki, M.Matsushita, T.Umeda, and N.Shigesada. Modeling spatio-temporal patterns generated by *Bacillus subtilis*. *J. theor. Biol*, 188 :177–185, 1997.

[50] **E. J. Kissa**. *Colloid Interface Sci.*, 83 :265, 1981.

[51] **T. Kohler**, L. K. Curty, F. Barja, C. van Delden, and J. C. Pechere. Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on cell-to-cell signaling and requires flagella and pili. *J Bacteriol*, 182 :5990–6, 2000.

[52] **I. Langmuir**. *J. of Chem. Phys.*, page 756, 1933.

[53] **J. Lega** and T. Passot. Hydrodynamics of bacterial colonies : A model. *Physical Review Letters E*, 67, 2003.

[54] **M. Lelah** and A. Marmur. *J. Colloid Interface Sci*, 82, 1981.

[55] **A. Marmur**. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 19 :75, 1983.

[56] **A. Marmur** and M. Lelah. The spreading of acqueous surfactant solutions on glass. *Chem. Eng. Comm*, 13 :133, 1981.

[57] **A. J. Marmur**. *Colloid Interface Sci.*, 124 :301, 1988.

[58] **Omar K. Matar** and Sandra M. Troian. Spreading of a surfactant monolayer on a thin liquid film : Onset and evolution of digitated structures. *Chaos*, 9(1) :141–153, 1999.

[59] **Tohei Matsuyama** and Mitsugu Matsushita. Population morphogenesis by cooperative bacteria. *Forma*, 16 :307–326, 2001.

[60] **J. M. Di Meglio** and D. Quéré. Contact angle hysteresis : a first analysis of the noise of the creeping motion of the contact line. *Europhys. Lett*, 11 :163, 1990.

[61] **N. H. Mendelson** and B. Salhi. Patterns of reporter gene expression in the phase diagram of *Bacillus subtilis* colony forms. *J Bacteriol*, 178 :1980–1989, 1996.

[62] **T. A. Merritt**, M. Hallman, B. T. Bloom, C Berry, K. Benirschke, D. Sahn, T. Key, D. Edwards, A. L. Jarvenpaa, M. Pohjavuori, and et al. Prophylactic treatment of very premature infants with human surfactant. *N. engl. j. med.*, 315(13) :785–790, Sept 1986.

[63] **Alan. S. Michaels** and Jr. Sheldon W. Dean. Contact angle relationships on silica aquagel surfaces. *J. Phys. Chem.*, 66 :1790, march 1962.

[64] **Masayasu Mimura**, Hideo Sakaguchi, and Mitsugu Matsushita. Reaction-diffusion modelling of bacterial colony patterns. *Physica A*, 282 :283–303, 2000.

[65] **I. Mrani**, G. Fras, and J. C. Bénet. Microstructure et propriétés hygro-mécaniques du gel d'agar. *J. Phys. III France*, 5 :985–998, 1995.

[66] **K. Namba**, I. Yamashita, and F. Vonderviszt. Structure of the core and central channel of bacterial flagella. *Nature*, 342 :648–54, 1989.

[67] **P. Paterson**, P. Jenffer, L. Limat, and M. Fermigier. Wetting of heterogeneous surfaces : experiments in an imperfect hele-shaw cell. *Phys. Rev. E*, 51 :1291, 1995.

[68] **O. Rauprich**, M. Matsushita, C. J. Weijer, F. Siegert, S. E. Esipov, and J. A. Shapiro. Periodic phenomena in *Proteus mirabilis* swarm colony development. *J. Bacteriol.*, 178 :6525–38, 1996.

[69] **Hary Raza Findralamo**. *Contribution a l'étude des proprétés tensioactives des lipopeptides de Bacilus Subtilis.* PhD thesis, Faculté Universitaire de Sciences Agronomiques de Gembloux, 1996. chapitre 4.

[70] **A. I. Rusanov**. *Colloid. J. USSR*, 37 :614, 1975.

[71] **L. W. Schwartz** and S. Garoff. Contact angle hysteresis on heterogeneous surfaces. *Langmuir*, page 219, 1985.

[72] **K. Sekimoto** and M. Doi. Dynamics of interface of gels undergoing volume phase transition. *J. Phys. II*, 1 :1053, 1991.

[73] **K. Sekimoto** and Y. Rabin. Role of mechanical pressure in permeation of a solvent through gels. *Europhys. Lett.*, 27(6) :445–450, 1994.

[74] **M. E. R. Shanahan**. The influence of solid micro-deformation on contact angle equilibrium. *J. Phys. D : Appl. Phys.*, 20 :945, 1987.

[75] **M. E. R. Shanahan**. The spreading dynamics of a liquid drop on a viscoelastic solid. *J. Phys. D. Appl. Phys.*, 21 :981–985, 1998.

[76] **M. E. R. Shanahan** and P. G. de Gennes. *C. R. Acad. Sci. Paris Vol.*, 302 :512, 1986.

[77] **W. Shi** and D. R. Zusman. The two motility systems of *Myxococcus xanthus* show different selective advantages on various surfaces. In *Proc Natl Acad Sci U S A*, volume 90, pages 3378–82, 1993.

[78] **D. Szabó**, S.Akiyoshi, T. Matsunaga, J. P. Gong, and Y. Osada. Spreading of liquids on gel surfaces. *J. Chem. Phys.*, 113 :253, 2000.

[79] **L. Tanner**. *J. Phys. D*, 12 :1473, 1979.

[80] **S. P. Timoshenko** and J. N. Goodier. *Theory of elasticity*, chapter 4. New York : Mc Graw-hill, 3rd edition, 1970.

[81] **S. M. Troian**, X. L. Wu, and S. A. Safran. Fingering instabilitiy in thin wetting films. *Physical Review Letters*, 62 :1496, 89.

[82] **D. Vella**, H. Y. Kim, P. Aussillous, and L. Mahadevan. Dynamics of surfactant-driven fracture of particle rafts. *Phys. Rev. Lett.*, 96 :178301, 2006.

[83] **Junichi Wakita**, Ismael Rafols, Hiroto Itoh, Tohei Matsuyama, and Mitsugu Matsushita. Experimental investigation on the formation of dense-branching-morphology-like colonies in bacteria. *Journal of the Physical Society of Japan*, 67(10) :3630–3636, 1198.

[84] **Junichi Wakita**, Ismael Rafols, Hiroto Itoh, Tohei Matsuyama, and Mitsugu Matsushita. Periodic colony formation by bacterial species *Bacillus subtilis*. *Journal of the Physical Society of Japan*, 70(3) :911–919, 2001.

[85] **Q. Wang**, J. G. Frye, M. McClelland, and R. M. Harshey. Gene expression patterns during swarming in *Salmonella typhimurium* : genes specific to surface growth and putative new motility and pathogenicity genes. *Mol Microbiol*, 52 :169–87, 2004.

[86] **M. R. E. Warner**, R. V. Craster, and O. K. Matar. Fingering phenomena associated with insoluble surfactant spreading on thin liquid films. *J. Fluid. Mech.*, 510 :169–200, 2004.

[87] **M. Watase** and K. Nishinari. Rheological properties of agarose gels with different molecular weights. *Rheol. Acta*, 22 :580–587, 1983.

[88] **Ryo Yoshida** and Yusuke Uesusuki. Biomimetic gel exhibiting self-beating motion in atp solution. *Biomacromolecules*, 6(6) :2923–2926, 2005.

[89] **Y. Yoshitake**, S. Mitani, and K. Sakai. Surface tension and elasticity of gel studied with laser-induced surface-deformation spectroscopy. *Physical Review E*, 78, 2008.

[90] **Sonn Hong YUK** and Mu Shik JHON. Contact angles on deformable solids. *Journal of colloid and interface science*, 110(1), 1986.