

EXTRAITS

LA SPECTROSCOPIE DE RÉSONANCE PARAMAGNÉTIQUE ÉLECTRONIQUE APPLICATIONS

Grenoble Sciences

Grenoble Sciences est un centre de conseil, expertise et labellisation de l'enseignement supérieur français. Il expertise les projets scientifiques des auteurs dans une démarche à plusieurs niveaux (référés anonymes, comité de lecture interactif) qui permet la labellisation des meilleurs projets après leur optimisation. Les ouvrages labellisés dans une collection de Grenoble Sciences ou portant la mention « Sélectionné par Grenoble Sciences » (*Selected by Grenoble Sciences*) correspondent à :

- des projets clairement définis sans contrainte de mode ou de programme,
- des qualités scientifiques et pédagogiques certifiées par le mode de sélection (référés anonymes puis comité de lecture interactif dont les membres sont cités au début de l'ouvrage),
- une qualité de réalisation assurée par le centre technique de Grenoble Sciences.

Directeur scientifique de Grenoble Sciences

Jean BORNAREL, Professeur émérite à l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1

Pour mieux connaître Grenoble Sciences :

<https://grenoble-sciences.ujf-grenoble.fr>

Pour contacter Grenoble Sciences :

Tél : (33) 4 76 51 46 95, e-mail : grenoble.sciences@ujf-grenoble.fr

Livres et pap-ebooks

Grenoble Sciences labellise des livres papier (en langue française et en langue anglaise) mais également des ouvrages utilisant d'autres supports. Dans ce contexte, situons le concept de **pap-ebook**. Celui-ci se compose de deux éléments :

- un **livre papier** qui demeure l'objet central avec toutes les qualités que l'on connaît au livre papier,
- un **site web compagnon** qui propose :
 - › des éléments permettant de combler les lacunes du lecteur qui ne posséderait pas les prérequis nécessaires à une utilisation optimale de l'ouvrage,
 - › des exercices pour s'entraîner,
 - › des compléments pour approfondir un thème, trouver des liens sur internet, etc.

Le livre du **pap-ebook** est autosuffisant et certains lecteurs n'utiliseront pas le site web compagnon. D'autres l'utiliseront et ce, chacun à sa manière. Un livre qui fait partie d'un **pap-ebook** porte en première de couverture un logo caractéristique et le lecteur trouvera la liste de nos sites compagnons à l'adresse internet suivante :

<https://grenoble-sciences.ujf-grenoble.fr/pap-ebooks>

Grenoble Sciences bénéficie du soutien du **ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche** et de la **région Rhône-Alpes**.

Grenoble Sciences est rattaché à l'**Université Joseph Fourier** de Grenoble.

ISBN 978 2 7598 1191 5

© EDP Sciences 2014

La spectroscopie de résonance paramagnétique électronique - Applications

Cet ouvrage, labellisé par Grenoble Sciences, est un des titres du secteur *Sciences de la Matière* de la *Collection Grenoble Sciences* d'EDP Sciences, qui regroupe des projets originaux et de qualité. Cette collection est dirigée par Jean BORNAREL, Professeur émérite à l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1.

Comité de lecture de l'ouvrage :

- **Cécile AUTRET-LAMBERT**, Maître de conférence à l'Université de Tours, Laboratoire GREMAN (Groupe de Recherche en Matériaux, Microélectronique, Acoustique et Nanotechnologies)
- **Anne-Laure BARRA**, Directeur de recherche au CNRS, Laboratoire des Champs Magnétiques Intenses, Grenoble
- **Gérard CHOUTEAU**, Professeur retraité de l'Université Joseph Fourier, Grenoble
- **Carole DUBOC**, Directrice de recherche au CNRS, département de Chimie Moléculaire, Grenoble
- **Yanling LI**, Ingénieur de recherche au CNRS, Institut Parisien de Chimie Moléculaire, Paris
- **Maylis ORIO**, Chargé de recherche au CNRS, Laboratoire de Spectrométrie Infra Rouge et Raman, Lille
- **Hervé VEZIN**, Directeur de recherche au CNRS, Laboratoire de Spectrométrie Infra Rouge et Raman, Lille

Cet ouvrage a été suivi par Laura CAPOLO pour la partie scientifique et par Anne-Laure PASSAVANT et Sylvie BORDAGE du centre technique Grenoble Sciences pour sa réalisation pratique, avec la collaboration de Patrick DESSENNE pour les figures. L'illustration de couverture est l'œuvre d'Alice GIRAUD, d'après des éléments fournis par les auteurs et : virus 3D de la rougeole – Michael TAYLOR 3D © Turbo Squid ; *Rigidoporus lignosus* - Fichier 1V10 de la *Protein Data Bank* ; Météore © NASA, Shinsuke Abe & Hajime Yano, ISAS.

Autres ouvrages labellisés sur des thèmes proches (chez le même éditeur) :

La spectroscopie de résonance paramagnétique électronique, fondements (*P. Bertrand*) • Magnétisme : I Fondements, II Matériaux (*Sous la dir. d'E. du Trémolet de Lacheisserie*) • Physique et Biologie (*B. Jacrot*) • Spectroscopies infrarouge et Raman (*R. Poilblanc & F. Crasnier*) • Description de la symétrie (*J. Sivardière*) • Symétrie et propriétés physiques (*J. Sivardière*) • Introduction à la mécanique statistique (*E. Belorizky & W. Gorecki*) • Analyse statistique des données expérimentales (*K. Protasov*) • La Cavitation (*J.P. Franc et al.*) • Turbulence (*M. Lesieur*) • Sous les feux du Soleil, vers une météorologie de l'espace (*J. Liliensten & J. Bornarel*) • Supraconductivité (*P. Mangin & R. Kahn*) • Physique des diélectriques (*D. Gignoux & J.C. Peuzin*) • Plasmas collisionnels (*M. Moisan & J. Pelletier*) • Energie et environnement (*B. Durand*) • L'énergie de demain (*Groupe Energie de la Société Française de Physique sous la dir. de J.L. Bobin, E. Huffer & H. Nifenecker*) • Hydrothermalisme (*M. Piboule & M. Chenevoy*) • Les roches, mémoires du temps (*G. Mascle*) • Mémento technique à l'usage des biologistes et des biochimistes (*A. Marouf & G. Tremblin*) • Éléments de Biologie à l'usage d'autres disciplines (*P. Tracqui & J. Demongeot*) • La biologie des origines à nos jours (*P. Vignais*) • Naissance et diffusion de la Physique (*M. Soutif*) • L'air et l'eau (*R. Moreau*) • En physique pour comprendre (*L. Viennot*)

et d'autres titres sur le site internet : <https://grenoble-sciences.ujf-grenoble.fr>

Les sujets traités dans ce livre illustrent bien la diversité des applications actuelles de la RPE. Ils utilisent cette technique à des niveaux très variés et nous les avons présentés par ordre de difficulté croissante. Voici un avant goût de leur contenu :

Chapitre 1 - L'irradiation naturelle ou artificielle de certains matériaux solides génère des centres paramagnétiques, radicaux libres, défauts ou ions, assez stables pour être identifiés et quantifiés par RPE. On peut évaluer la dose d'irradiation à partir de l'intensité du spectre, ce qui ouvre la voie à de nombreuses applications comme la dosimétrie des rayonnements utilisés en radiothérapie ou pour stériliser les aliments, l'évaluation de la dose reçue par des individus durant une exposition chronique ou lors d'accidents radiologiques, ou encore la datation d'échantillons archéologiques.

Chapitre 2 - La matière organique naturelle des sols contient des radicaux semiquinone stables dont la nature dépend de son origine et de son état de maturation. Les proportions relatives de ces radicaux, déduites de la simulation du spectre RPE, constituent une signature qui permet de différencier les sols et même leurs horizons. Elle permet de suivre les transferts de matière organique dans un bassin versant des sols aux systèmes hydrologiques, de ces systèmes à leurs déversoirs et jusqu'aux enregistreurs naturels (sédiments, spéléothèmes). La puissance de cette méthode de traçage est bien illustrée par la détermination de la zone de captage et du temps de résidence de l'eau potable en milieu karstique.

Chapitre 3 - De nombreuses réactions chimiques en solution produisent des radicaux très réactifs dont la courte durée de vie interdit leur étude directe par spectrométrie RPE conventionnelle. On peut les détecter en les faisant réagir avec des molécules pièges choisies de façon à obtenir des adduits radicalaires relativement stables, dont le spectre permet d'identifier sans ambiguïté le radical originel et de remonter au mécanisme de la réaction initiale. Cette méthode est très utilisée pour identifier les radicaux générés par un stress oxydant, mais aussi pour suivre les réactions de polymérisation et les réactions photochimiques.

Chapitre 4 - Les maladies neurodégénératives (ALZHEIMER, CREUTZFELDT-JACOB, PARKINSON, ...) se caractérisent par le dépôt d'agrégats protéiques dans le milieu intercellulaire cérébral. Elles débutent par le changement de conformation de peptides ou de protéines partiellement désordonnées qui possèdent une grande affinité pour les ions de transition, en particulier les ions cuivriques. La RPE révèle qu'en présence de ces ions, ces macromolécules flexibles se replient de différentes manières pour assurer la coordination équatoriale à 4 ligands qui stabilise les complexes de Cu(II). Ces ions pourraient jouer un rôle essentiel dans les processus d'agrégation et dans les phénomènes de stress oxydant associés à ces maladies.

Chapitre 5 - Les minéraux argileux du groupe de la kaolinite contiennent des impuretés (ions de transition) et des défauts ponctuels paramagnétiques (radicaux). Leur étude par RPE apporte des informations sur les conditions physico-chimiques

dans lesquelles ces minéraux se sont formés. De plus, la mesure de l'intensité du spectre de certains défauts créés par l'irradiation naturelle permet de dater les kaolinites et donc préciser l'échelle de temps des processus d'altération subis par ces minéraux. Ces données sont très utiles pour comprendre les mécanismes de l'évolution chimique des surfaces continentales et pour reconstituer les climats du passé.

Chapitre 6 - L'activité catalytique des enzymes d'oxydo-réduction repose sur l'existence d'un site actif et de centres rédox. Il s'agit de groupes organiques et de complexes d'ions de transition qui peuvent généralement être préparés dans un état paramagnétique. Leur étude par RPE, combinée aux modèles de la chimie théorique, apporte des informations détaillées sur leur structure et leurs propriétés rédox, mais aussi sur le mécanisme catalytique des enzymes. Elle contribue ainsi à l'élaboration de biocatalyseurs ou de catalyseurs synthétiques « bioinspirés » qui se distinguent de leurs homologues industriels par l'absence de métaux rares et la non-toxicité.

Chapitre 7 - La matière carbonée la plus ancienne du système solaire, âgée de 4,5 milliards d'années, se trouve piégée dans des météorites. Sur Terre, la matière carbonée d'origine biologique la plus ancienne est fossilisée dans des silex datés de 3,5 milliards d'années. L'étude par RPE d'échantillons de ces matières carbonées primitives livre des informations sur la nature, l'environnement et le mode de formation des radicaux carbonés, des éléments précieux pour élaborer les scénarios de la formation de la matière organique dans le système solaire et de l'apparition de la vie sur Terre. La même méthodologie pourrait être utilisée pour analyser des échantillons prélevés sur Mars.

Chapitre 8 - Lorsqu'un radical nitroxyde est greffé sur une protéine en solution, la forme de son spectre et ses propriétés de relaxation dépendent de ses interactions avec son environnement. On peut utiliser ces « sondes paramagnétiques » pour étudier les transitions structurales des protéines, des phénomènes très importants encore mal connus. En marquant un site judicieusement choisi, on peut par exemple suivre le changement de conformation d'une enzyme produit par son interaction avec ses partenaires physiologiques. On peut également dresser une « carte de mobilité » pour identifier le domaine impliqué dans le repliement d'une « protéine intrinsèquement désordonnée » induit par son interaction avec une autre protéine.

Chapitre 9 - La nature (ferro ou antiferromagnétique) et l'intensité de l'interaction d'échange entre des radicaux nitroxyde connectés par des coupleurs organiques sont déterminées par des règles topologiques que la RPE permet de préciser : le spectre d'une solution diluée de molécules contenant des paires et des triades de radicaux enregistré à température ambiante met en évidence les couplages intramoléculaires, tandis que le spin de l'état fondamental et les paramètres d'échange sont déduits de la dépendance en température de l'intensité totale, utilisée ici comme mesure

de l'aimantation. Cette approche originale du « magnétisme moléculaire » s'inscrit dans le contexte du développement actuel des nanosciences.

Chapitre 10 - Il existe plusieurs méthodes pour enregistrer le spectre des espèces paramagnétiques transitoires. La résolution temporelle des techniques de « flux bloqué » et de « gel rapide » est de l'ordre de 10^{-3} s. Les techniques résolues en temps basées sur la génération des espèces in situ, la détection directe et la répétition de l'expérience pour plusieurs valeurs du champ permettent d'atteindre 10^{-7} s. On les utilise en particulier pour étudier les réactions photochimiques. La forme et l'intensité du spectre des intermédiaires radicalaires sont déterminées par l'effet CIDEP et son analyse permet de distinguer les mécanismes de type « paire de radicaux » et « état triplet ».

Chapitre 11 - En Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), on utilise très souvent comme agents de contraste des complexes de Gd^{3+} qui accélèrent localement la relaxation des protons de l'eau. Les modèles théoriques élaborés pour décrire quantitativement ce phénomène font intervenir les paramètres qui déterminent la relaxation spin-réseau des complexes. On peut évaluer ces paramètres en simulant une série de spectres RPE enregistrés à différentes fréquences et à différentes températures. Ces études mettent en évidence les facteurs qui déterminent l'efficacité des complexes et permettent d'optimiser leur structure.

Chapitre 12 - La résonance ferromagnétique (RFM) utilise le même équipement que la RPE pour étudier les fortes interactions entre spins qui caractérisent les matériaux cristallins ferromagnétiques. Les paramètres qui décrivent ces interactions très anisotropes sont déduits de la variation de la position de la raie de résonance en fonction de la direction du champ appliqué. Cette technique est illustrée par des expériences réalisées sur plusieurs types de matériaux nanostructurés: films de Fe épitaxiés sur GaAs, couches minces de semi-conducteurs dopés par Mn^{2+} et ferrofluides. Leurs applications concernent l'enregistrement magnétique, la spintronique, le domaine biomédical.

Plusieurs chapitres du livre comportent des *compléments* dont la lecture n'est pas indispensable pour la compréhension du texte mais qui intéresseront les lecteurs exigeants. Certaines applications font appel à des résultats de techniques qui ne sont pas traitées dans le livre consacré aux fondements [BERTRAND, 2010]. Ces techniques sont présentées dans des compléments de chapitre et dans des *annexes indépendantes* situées en fin d'ouvrage :

- › les compléments 1 et 2 du chapitre 7 décrivent les principes de la détection en quadrature de phase et de l'imagerie par RPE,
- › l'annexe 1 introduit les équations de BLOCH et les méthodes impulsionnelles,
- › l'annexe 2 présente la RPE impulsionnelle et décrit les expériences ESEEM, HYSORE et PELDOR,
- › l'annexe 3 présente la spectroscopie ENDOR en onde continue,

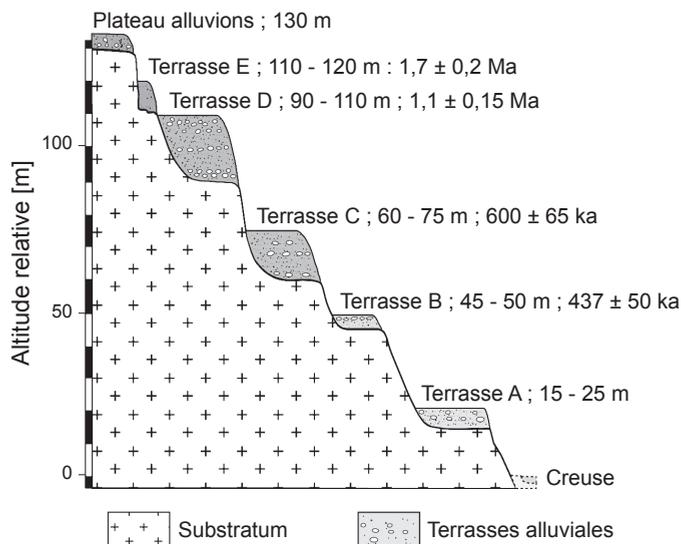


Figure 1.6 - Datation par RPE de différentes terrasses de la vallée de la Creuse, France. Les résultats couvrent pratiquement la totalité de la période du Quaternaire, soit environ 2 millions d'années (voir planches couleur).

1.3 - Dosimétrie rétrospective et dosimétrie d'accident radiologique

Dans ce contexte, il s'agit d'estimer *a posteriori* les doses de Rayonnement Ionisant (RI) reçues par des individus lors de situations accidentelles ou d'expositions chroniques, dues à des expositions externes². Dans le cas d'expositions anciennes et/ou chroniques, il s'agit principalement de mettre en regard les doses estimées et les effets observés (cancer et non-cancer, cataracte, fibrose, infarctus, ...) afin de mieux comprendre les effets des RI sur la santé dans le cadre d'études épidémiologiques ou de radiobiologie. Dans le cas d'irradiations accidentelles aiguës et récentes, il s'agit d'aider au diagnostic des victimes pour permettre aux équipes soignantes de déterminer la meilleure stratégie thérapeutique ou encore d'identifier les personnes exposées lors d'un accident majeur.

La spectroscopie RPE est une des techniques utilisées dans le cadre de la dosimétrie rétrospective. En effet, les circonstances des expositions étant très variées et généralement mal connues, une seule technique ne permet pas toujours d'estimer la dose de façon fiable. Il est donc souvent nécessaire d'avoir recours à une approche multi-technique (cytogénétique, luminescence, simulation numérique) pour déterminer au

² La source de rayonnement est à l'extérieur de l'organisme, contrairement à l'exposition dite interne induite par l'inhalation ou par l'ingestion de produits radioactifs.

aborder de façon simple et efficace l'étude des transferts des grands types de MONs présentes dans un bassin versant.

2.5.3 - Les signatures RPE permettent de tracer les transferts de MONs des sols aux enregistreurs naturels

Les études menées sur les sites du lac d'Anterne et de Coulmes/Choranche ont confirmé la capacité des signatures RPE à distinguer différents types de sols, ce qui a permis d'élucider l'origine des MONs présentes dans les enregistreurs naturels, sédiments et spéléothèmes.

Bassin d'Anterne. Nous avons tracé les MONs depuis les sols jusqu'aux sédiments de rivière et de lac. La figure 2.5a montre des exemples de spectres et leurs simulations, et l'ensemble des résultats est présenté dans le tableau 2.2. Les principales conclusions sont les suivantes :

- » Une raie très fine σ est détectée pour tous les échantillons, qu'ils aient été prélevés dans les sols ou dans les sédiments de rivière et de lac. Elle révèle la présence d'une MON de haute maturation [SENESI & STEELINK, 1989] qui provient probablement de la matière organique mature piégée dans les roches sédimentaires.

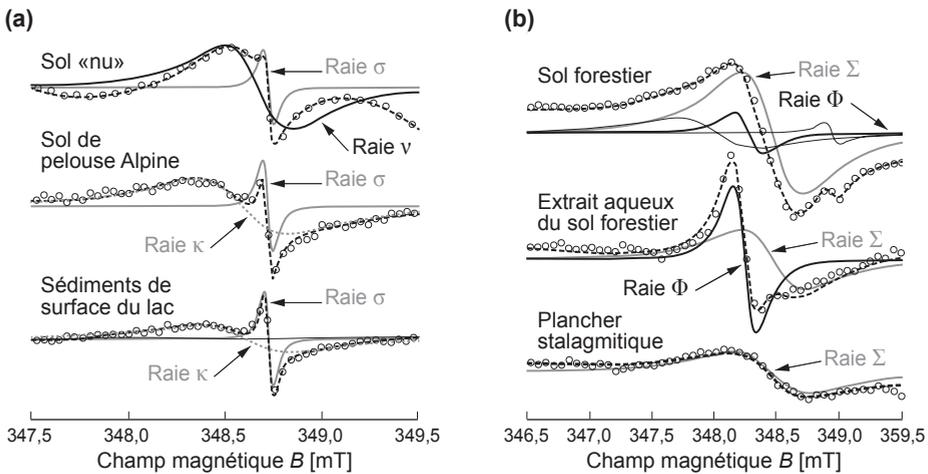


Figure 2.5 - Spectres expérimentaux (cercles), simulations (tirets noirs) et différentes composantes pour (a) bassin d'Anterne : sol nu, sols bruns des pelouses alpines et sédiments de surface du lac d'Anterne ; (b) sol brun forestier du plateau des Coulmes, son extrait aqueux, plancher stalagmitique de la grotte de Choranche. Les paramètres de simulation et les code-barres associés sont indiqués dans le tableau 2.2 (voir planches couleur).

- » Dans le cas des sédiments de rivière, on observe en plus de la raie σ une raie ν plus large. On ne trouve cette raie que dans le spectre des sols peu évolués (lithosols), à nu ou sous une végétation éparse, qui s'érodent facilement. La présence de MON provenant de ces sols dans les sédiments de rivière n'est donc pas surprenante.

3.2 - Mise en œuvre de l'expérience

3.2.1 - Choix du piège

Les pièges habituellement utilisés sont soit des composés nitroso soit des aldonitrone, et l'addition d'un radical R^\bullet sur ces molécules conduit à la formation d'un radical aminoxyde, ou nitroxyde¹ dont le spectre RPE est enregistré (figure 3.2).

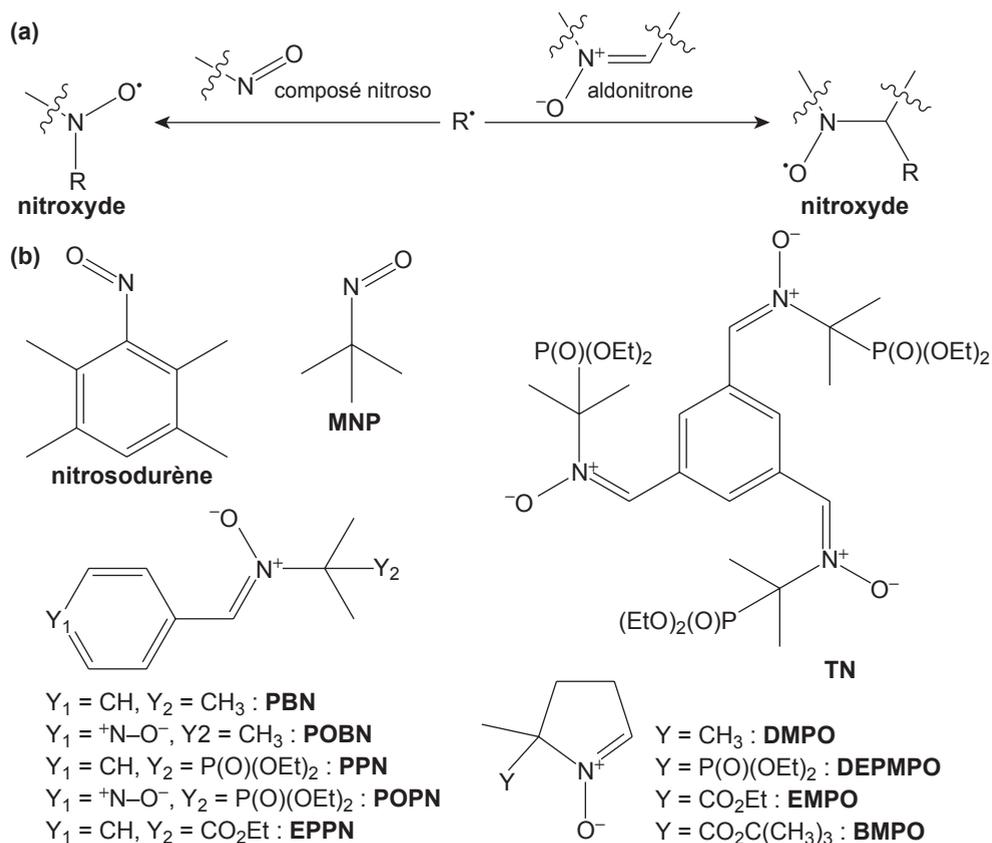


Figure 3.2 - (a) Piégeage d'un radical R^\bullet par un composé nitroso et une nitrone conduisant à un nitroxyde observable par RPE ; **(b)** principaux pièges utilisés.

1 Bien que le terme « nitroxyde » soit impropre pour désigner un radical aminoxyde, son emploi est répandu au point que l'on a pu relever dans la bibliographie en novembre 2012, plus de 17500 références se rapportant au terme « nitroxyde » contre environ 330 pour « radical aminoxyde ». Pour éviter toute confusion, nous nous conformerons dans ce chapitre à l'usage courant en désignant par « nitroxyde » un radical aminoxyde.

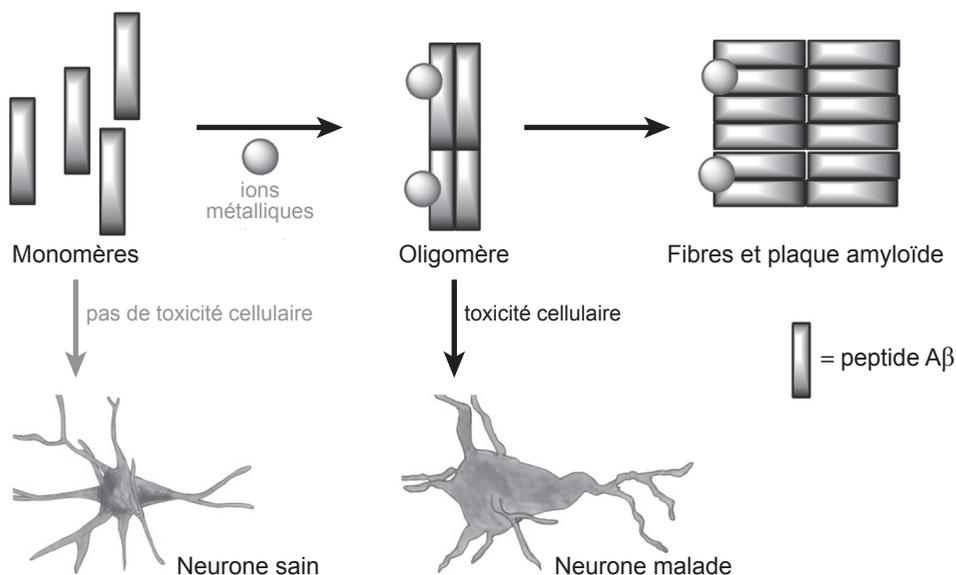


Figure 4.12 - Représentation schématique de la cascade amyloïde. Les peptides A β résultent du clivage de protéines APP. Leur interaction avec des ions métalliques conduit à la formation de formes oligomériques toxiques.

4.4.2 - Détermination des sites de fixation de Cu(II) sur le peptide A β humain

Il est généralement admis qu'un seul ion Cu(II) se lie avec une forte affinité au peptide A β et que ses ligands sont fournis par les 16 premiers acides aminés (séquence DAEFRHDSGYEVHHQK) du peptide [KOWALIK-JANKOWSKA *et al.*, 2003]. Les études destinées à identifier les ligands ont donc été réalisées avec le peptide A β 16 représenté sur la figure 4.13, qui forme un complexe soluble avec Cu(II).

Cette identification a longtemps fait l'objet de controverses, ce qui n'est pas étonnant *a posteriori* étant donné la complexité des interactions des ions Cu(II) avec ce peptide. Une première source de complication a été révélée par la dépendance du spectre RPE en fonction du pH, qui a montré que deux formes du complexe coexistent à pH physiologique, une forme bas pH et une forme haut pH [KARR & SZALAI, 2007 ; SYME *et al.*, 2004]. Nous avons représenté sur la figure 4.14 des spectres RPE typiques de ces deux formes ainsi que leurs simulations.

Les paramètres RPE des deux formes du complexe sont proches et le diagramme de la figure 4.2 suggère une coordination 3N1O. Pour aller plus loin, il a fallu effectuer des études de RPE à haute résolution sur des complexes de peptides ayant subi des marquages isotopiques.

La concentration totale en fer mesurée par analyse chimique varie entre 2000 et 8000 ppm selon l'origine des kaolinites. La comparaison avec les concentrations mesurées par RPE révèle que dans les échantillons étudiés, le Fe^{3+} structural dilué représente moins de la moitié du fer total, ce qui montre que le fer forme préférentiellement des phases concentrées lors de la croissance de la kaolinite. Il n'y a apparemment pas de corrélation entre la concentration en Fe^{3+} structural dilué et le caractère désordonné des échantillons [BALAN *et al.*, 2000].

La RPE a permis d'étudier d'autres éléments de transition présents dans les minéraux du groupe de la kaolinite, comme le vanadium, le chrome et le manganèse. Dans le cas du manganèse et du vanadium, l'identification d'espèces spécifiques (Mn^{2+} et VO^{2+}) atteste des conditions d'oxydo-réduction particulières qui prévalaient lors de la croissance des kaolinites [MULLER *et al.*, 1993, 1995 ; ALLARD *et al.*, 1997].

5.4 - Les défauts paramagnétiques produits par irradiation

Les premiers défauts paramagnétiques dus à l'irradiation naturelle des kaolinites ont été identifiés dans les années 1970 [ANGEL *et al.*, 1974]. On en connaît maintenant trois types. Il s'agit de trous électroniques localisés sur des atomes d'oxygène, qui se différencient par leur environnement atomique, l'orientation de l'orbitale occupée par l'électron non-apparié, et leur stabilité thermique. On distingue ainsi le centre A, le centre A' et le centre B [CLOZEL *et al.*, 1994] (figure 5.5).

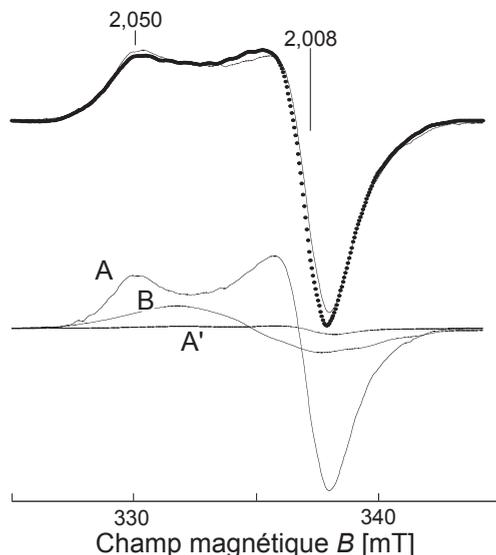


Figure 5.5 - Simulation du spectre bande X des défauts d'irradiation d'une kaolinite de la région de Manaus montrant la prédominance du signal dû aux centres A. Puissance : 40 mW, modulation : fréquence 100 kHz, amplitude pic à pic 0,3 mT.

6.2.1 - Un casse tête pour spectroscopistes : la structure des centres à cuivre T_1 et T_2

L'analyse du contenu en atomes métalliques montre que chaque molécule de laccase contient 4 atomes de cuivre et la spectrométrie RPE a révélé très tôt comment ils sont organisés dans l'enzyme. Il a été montré dès la fin des années 1960 que le spectre RPE d'une solution gelée de laccases oxydées du champignon *Polyporus versicolor* contient deux composantes dont l'intensité correspond à un centre par molécule : l'une T_1 caractérisée par $g_{//} = 2,190$, $g_{\perp} = 2,042$, $|A_{//}| = 270$ MHz, $|A_{\perp}| = 29$ MHz, l'autre T_2 , caractérisée par $g_{//} = 2,262$, $g_{\perp} = 2,036$, $|A_{//}| = 530$ MHz, $|A_{\perp}| = 85$ MHz [MALSTRÖM *et al.*, 1968]. Toutes les laccases donnent ce type de spectre à l'état oxydé. Nous avons représenté par exemple sur la figure 6.4 celui de la laccase de *Thielavia arenaria*, un champignon qui appartient au même embranchement que les levures (champignons unicellulaires), les morilles et les truffes.

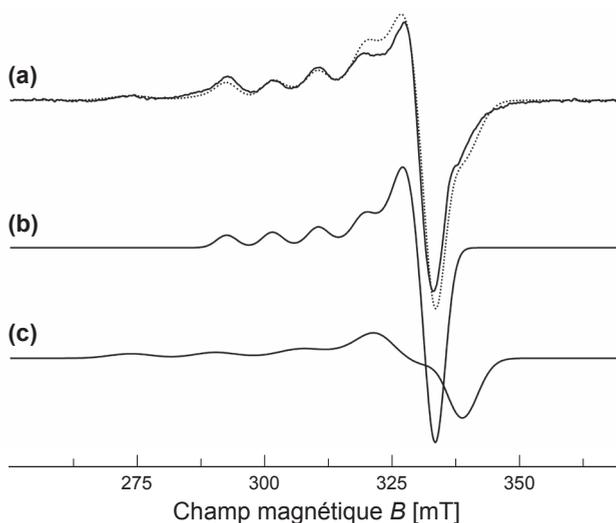


Figure 6.4 - Spectre RPE bande X d'une solution gelée de la laccase de *Thielavia arenaria*.

(a) spectre enregistré à 15 K. Micro-ondes: fréquence 9,434 GHz, puissance 1 mW. Modulation : fréquence 100 kHz, amplitude pic à pic 1mT. La simulation en pointillé est la somme des composantes T_1 et T_2 de même intensité représentées en (b) et (c). Elles sont calculées en supposant que les matrices \tilde{g} et \tilde{A} ont les mêmes axes principaux, avec des raies gaussiennes de largeur à mi-hauteur σ .

T_1 : $g_{//} = 2,204$; $g_{\perp} = 2,040$; $A_{//} = 270$ MHz ; $A_{\perp} = 30$ MHz ; $\sigma_{//} = 140$ MHz ; $\sigma_{\perp} = 135$ MHz.

T_2 : $g_{//} = 2,260$; $g_{\perp} = 2,040$; $A_{//} = 510$ MHz ; $A_{\perp} = 105$ MHz ; $\sigma_{//} = 300$ MHz ; $\sigma_{\perp} = 220$ MHz.

Pour expliquer le « silence RPE » des deux autres ions Cu^{2+} , il a été proposé qu'ils sont couplés par une forte interaction d'échange antiferromagnétique conduisant à un état fondamental de spin $S = 0$ (centre de type T_3) [FEE *et al.*, 1969 ; MALKIN & MALMSTRÖM, 1970]. Le bien fondé de cette hypothèse a été confirmé par la suite et

Complément 2

Les centres fer-soufre et leurs propriétés RPE

Les centres fer-soufre sont des complexes polynucléaires présents dans de nombreuses enzymes et protéines rédox, qui ont été mis en évidence par RPE dès 1960 [BEINERT & SANDS, 1960]. Ils comportent un nombre variable d'atomes de fer pontés par des sulfures, et chaque fer est généralement coordonné à la protéine par les atomes de soufre de résidus cystéines.

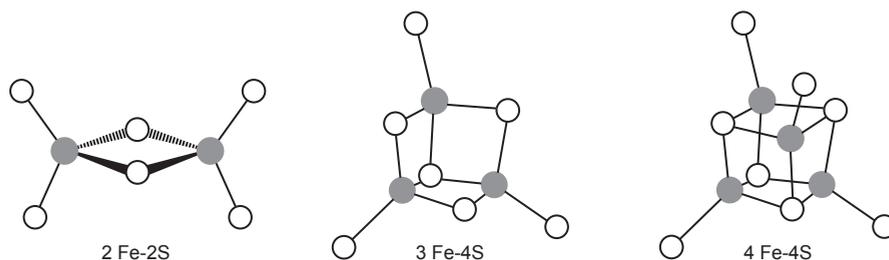


Figure 6.16 - Structure des centres fer-soufre. Les atomes Fe sont en gris, les atomes S en blanc.

Ces centres possèdent deux états rédox correspondant aux états de valence des ions fer indiqués dans le tableau 6.1.

Tableau 6.1 - Valence formelle des ions fer et spin S de l'état fondamental des différents états rédox des centres fer-soufre. Par convention, on indique la charge du centre en ne considérant que les ions fer et les sulfures.

	2Fe-2S	3Fe-4S	4Fe-4S ^a
Etat oxydé	$[2\text{Fe}-2\text{S}]^{2+}$	$[3\text{Fe}-4\text{S}]^{1+}$	$[4\text{Fe}-4\text{S}]^{2+}$
	2Fe^{3+}	3Fe^{3+}	$2\text{Fe}^{3+}, 2\text{Fe}^{2+}$
	$S = 0$	$S = \frac{1}{2}$	$S = 0$
Etat réduit	$[2\text{Fe}-2\text{S}]^{1+}$	$[3\text{Fe}-4\text{S}]^0$	$[4\text{Fe}-4\text{S}]^{1+}$
	$\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}$	$2\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}$	$\text{Fe}^{3+}, 3\text{Fe}^{2+}$
	$S = \frac{1}{2}$	$S = 2$	$S = \frac{1}{2}, \frac{3}{2}$

^a Certaines protéines rédox des systèmes photosynthétiques bactériens contiennent des centres $[4\text{Fe}-4\text{S}]^{3+,2+}$ qui sont paramagnétiques à l'état oxydé ($3\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}$) avec $S = \frac{1}{2}$. Leur spectre RPE est caractérisé par 3 valeurs de g légèrement supérieures à 2.

Pour chaque état rédox, nous avons précisé le spin S de l'état fondamental qui résulte des effets combinés des interactions d'échange antiferromagnétiques et du phénomène de délocalisation de la valence [GUIGLIARELLI & BERTRAND, 1999]. Les centres $[2\text{Fe}-2\text{S}]^{1+}$ et $[4\text{Fe}-4\text{S}]^{1+}$ de spin $\frac{1}{2}$ possèdent deux valeurs de g légèrement inférieures à 2 et une valeur légèrement supérieure à 2. Certains centres $[4\text{Fe}-4\text{S}]^{1+}$ ont

7.2.3 - Bilan : l'histoire complexe de la matière organique protosolaire

La combinaison de nombreuses techniques a montré que la MC météoritique est globalement enrichie en deutérium (*spectrométrie de masse isotopique*), que cet enrichissement se concentre sur des *hot-spots* de taille micronique (*NanoSIMS*), qui eux-mêmes contiennent des entités aromatiques radicalaires et diradicalaires constituant les porteurs quasi-exclusifs du deutérium (*RPE*), le deutérium étant localisé essentiellement sur un seul type de liaison C–H, particulièrement labile (*HYSCORE*). Une telle hétérogénéité multi-échelle, allant de l'échelle macroscopique à celle de la liaison chimique, implique que la MC des météorites provient de l'accrétion d'un *mélange de particules de MC riches et pauvres en deutérium*. La figure 7.12 propose un schéma simplifié des processus ayant pu se dérouler il y a 4,5 Ga dans le système solaire en formation.

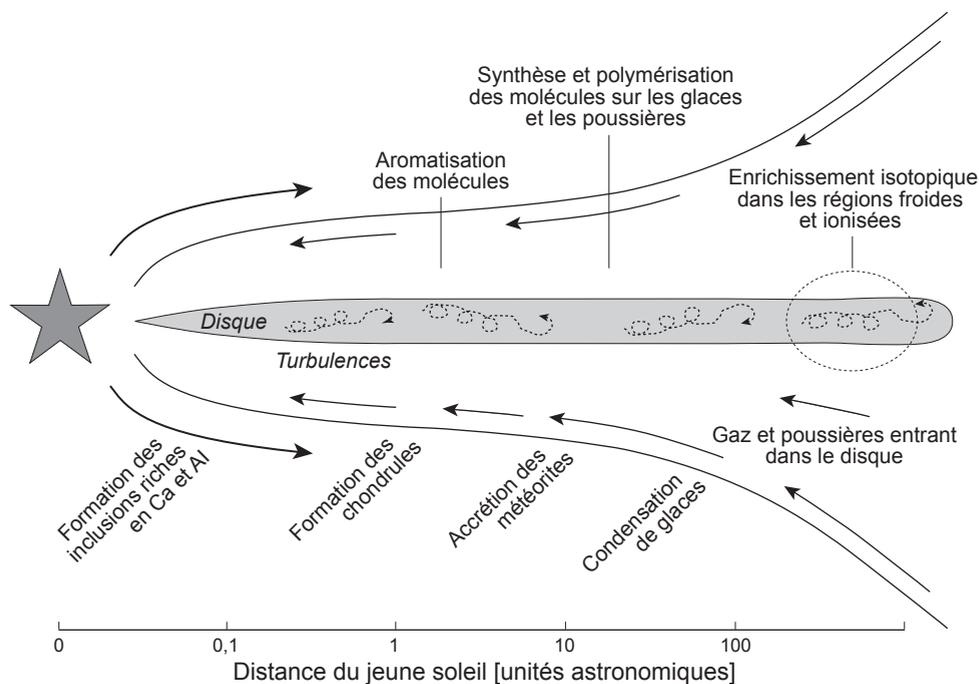


Figure 7.12 - Schéma du système solaire en formation.

Dans la nébuleuse, le flux de gaz et de poussières entrant sous l'effet de la gravitation est compensé par le mouvement en sens inverse dû à la turbulence au centre du disque où se formeront les planètes. La localisation probable des processus qui ont influencé la formation et l'évolution de la MC dans le disque est indiquée. Les étapes de formation des météorites dans le disque sont aussi repérées. Une unité astronomique correspond environ à 150 millions de kilomètres (distance Terre-Soleil). [Adapté de REMUSAT *et al.* (2010) *The Astrophysical Journal* **713** :1048-1058]

Lorsqu'elle est seule en solution, la LPH marquée donne un spectre « étroit » correspondant au régime de *mobilité rapide* de la sonde (voir figure 8.2b), avec un écart entre les raies latérales de $3,22 \pm 0,02$ mT (figure 8.5a). Ce spectre n'est pas affecté par la présence de colipase (figure 8.5b). Par contre, une composante large apparaît lorsque la lipase est en présence de sels biliaries à 4 mM, une valeur supérieure à la concentration micellaire critique (CMC) (figure 8.5c). La CMC, concentration à partir de laquelle les molécules de sel biliaire s'assemblent en micelles, est de l'ordre de 1mM pour le taurodéoxycholate de sodium. En faisant varier la concentration en sels biliaries, nous avons observé une brusque augmentation de la proportion de la composante large à partir de la CMC [BELLE *et al.*, 2007]. Cette proportion augmente encore et atteint 75% si on ajoute de la colipase (figure 8.5d). Les raies latérales de la composante large déterminée par soustraction sont séparées de $6,65 \pm 0,05$ mT (figure 8.5e), ce qui correspond au régime de *mobilité intermédiaire* de la sonde (voir figure 8.2c).

Des expériences complémentaires ont démontré que la composante étroite du spectre correspond à la conformation fermée et que la composante large correspond à la conformation ouverte [BELLE *et al.*, 2007] (figure 8.6). Seules ces conformations ont été mises en évidence par SDSL. L'ensemble des expériences montre que la colipase seule n'est pas capable d'induire un changement conformationnel de la LPH, et qu'il existe *en solution* un équilibre entre les conformations fermée et ouverte en présence de sels biliaries en concentration supérieure à la CMC. De plus, la présence de colipase déplace l'équilibre vers la conformation ouverte.

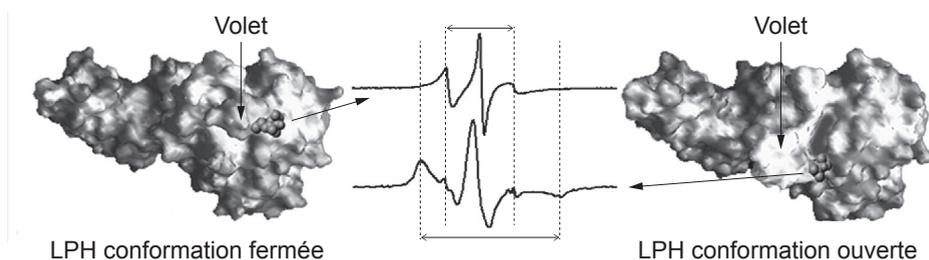


Figure 8.6 - Attribution des composantes spectrales aux deux conformations de l'enzyme. Le radical nitroxyde est représenté.

8.4.2 - Etude de l'accessibilité de la sonde

On peut se demander pourquoi la sonde est moins mobile dans la conformation ouverte que dans la conformation fermée de l'enzyme. Pour obtenir des éléments de réponse, nous avons évalué *l'accessibilité de la sonde au solvant* dans ces deux conformations en utilisant la méthode décrite dans la section 8.3.2, avec l'oxalate de Cr(III) comme agent relaxant. Les échantillons étudiés sont les suivants : LPH seule en solution (conformation fermée), LPH en présence de sels biliaries et de colipase (conformation ouverte). Les courbes de saturation de la raie centrale ont été

Il est intéressant de noter que ces effets ne sont pas observés dans un solvant légèrement plus encombré et de caractéristiques proches (polarité, nature chimique), le 2-méthyl-THF [ULMANN *et al.*, 1972]. L'influence des *facteurs stériques* sur la conformation des biradicaux, et par suite sur le couplage d'échange intramoléculaire, se manifeste clairement sur l'allure des spectres de RPE en solution fluide.

9.3.2 - Triradicaux

Des triradicaux ont été élaborés à partir de la série 9c (figure 9.13a) et des exemples de spectres de solutions fluides diluées sont représentés sur les figures 9.13b-d. Leur étude met en évidence une ou plusieurs interactions d'échange intramoléculaires selon les mêmes principes que ceux énoncés pour les biradicaux. La limite de l'échange fort implique la répartition de la densité de spin sur les trois fragments radicalaires.

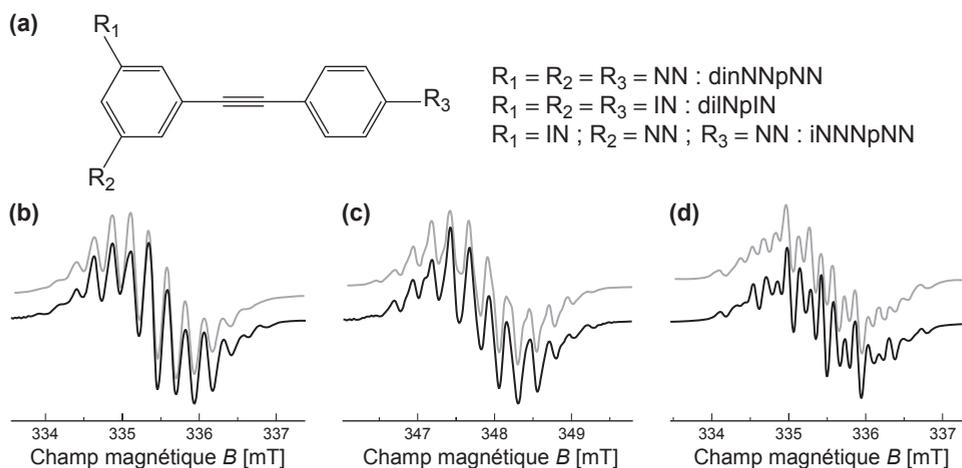


Figure 9.13 - Structure et spectres RPE d'une série de triradicaux dérivés de nitroxydes. Les simulations¹ en trait gris sont obtenues comme décrit dans le texte.

(a) Structure générale. Les autres figures montrent les spectres de (b) diNNpNN (c) diINpIN (d) iNNNpNN, en solution 10^{-4} M dans un mélange 1:1 de dichlorométhane/xylène à température ambiante. Micro-ondes : fréquence 9,4213 GHz pour (b) et (d) et 9,767 GHz pour (c), puissance 1 mW. Modulation : fréquence 100 kHz, amplitude pic à pic 0,1 mT.

Par exemple, dans un triradical NN en échange fort, il existe 6 noyaux ^{14}N équivalents et la structure hyperfine comporte 13 raies ($2nI + 1$ avec $I = 1$ et $n = 6$) séparées de $A_{\text{mono}}/3 \sim 7$ MHz (figure 9.13b). De même, dans un triradical constitué de deux radicaux NN et un radical IN en échange fort (figure 9.13d) il existe 4 noyaux ^{14}N équivalents ($A_{\text{mono}}/3 \sim 7,03$ MHz) et 2 noyaux ^{14}N inéquivalents ($A_{\text{N1}}/3 \sim 8,43$ MHz ; $A_{\text{N2}}/3 \sim 4,07$ MHz) et ainsi de suite pour les autres combinaisons. Des simulations satisfaisantes des spectres RPE des trois triradicaux sont obtenues dans la limite de l'échange fort. Néanmoins, pour simuler le spectre du

- » L'introduction d'un échantillon et le réglage du couplage de la cavité sont souvent les facteurs limitants dans une expérience de RPE. En effet, il est en général impossible de réaliser ces opérations en moins de quelques secondes.
- » A cause de phénomènes inductifs, il est difficile de changer rapidement la valeur du champ magnétique produit par un électroaimant. Même avec des bobines dites de balayage rapide (*rapid scan*), il est difficile de dépasser des vitesses de balayage de 100 mT s^{-1} avec les spectromètres RPE commerciaux. Cela signifie qu'un spectre RPE couvrant une plage de 10 mT ne peut pas être enregistré en moins de 100 ms.
- » Pour augmenter le rapport signal sur bruit, la plupart des spectromètres commerciaux utilisent une modulation du champ magnétique associée à une détection synchrone. Un faible champ magnétique sinusoïdal de fréquence comprise entre 100 Hz et 100 kHz est superposé au champ magnétique produit par l'électroaimant. Le signal RPE détecté représente la variation du signal total qui oscille à la même fréquence et en phase avec ce champ variable [BERTRAND, 2010., chapitre 1, complément 3]. Un dispositif appelé « détection synchrone » permet d'extraire de ce signal la dérivée du signal d'absorption [BERTRAND, 2010., section 9.2]. Pour que la détection synchrone fonctionne correctement, il faut observer plusieurs oscillations du signal, ce qui limite d'autant la résolution temporelle. Avec une fréquence de modulation de 100 kHz, il faut par exemple 100 μs pour observer 10 oscillations.

Pour augmenter considérablement la résolution temporelle d'un spectromètre, il faut éliminer ces contraintes et développer de nouvelles techniques d'acquisition.

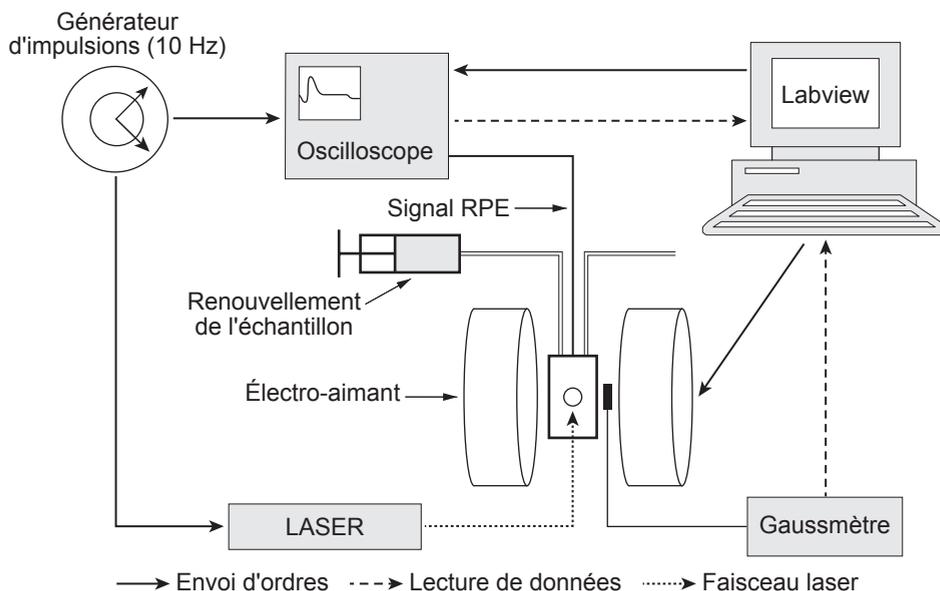


Figure 10.4 - Principe d'une expérience de RPE résolue en temps en onde continue. Les espèces étudiées sont générées in situ par des impulsions laser. Si l'échantillon étudié est liquide, il doit être renouvelé régulièrement au cours de l'expérience. [D'après MAUREL V. (2004)]

métique des traces calculées pour les différentes réalisations du système de spin (équation [11.28]), permet de reproduire le spectre RPE pour tout champ B avec un jeu unique de paramètres ajustés (équation [11.27]). La fonction de corrélation $G_z(t)$, qui s'obtient de la même manière à partir des traces $\text{Tr}[S_z(t)S_z(0)]$, décrit la relaxation longitudinale du complexe. Aux champs élevés, nous avons constaté que cette fonction décroît de façon mono-exponentielle, avec un temps caractéristique T_{1e} donné avec une bonne précision par les équations [11.25] et [11.26] obtenues dans le cadre de l'approximation de REDFIELD.

11.7 - Exemples de simulations de spectres RPE de complexes de Gd^{3+}

11.7.1 - Le complexe de Gd^{3+} hydraté

Bien qu'il ne soit pas utilisable en IRM à cause de sa toxicité, le complexe hydraté $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_8]^{3+}$ a fait l'objet de plusieurs études fondamentales à cause de sa simplicité de préparation et de sa structure symétrique bien connue. L'ion Gd^{3+} est au centre d'un anti-prisme à base carrée dont les sommets sont occupés par les ligands H_2O (figure 11.2). Cette figure s'obtient par déformation d'un prisme rectangulaire possédant deux faces carrées opposées : il suffit de pivoter ces faces de manière symétrique d'un angle de $\pm\pi/8$ autour de l'axe du prisme qui passe par les centres des faces. Ce complexe a la symétrie du groupe D_{4h} . Les spectres RPE ont été enregistrés pour différentes fréquences de résonance et différentes températures. Ils ont été interprétés en supposant la présence de terme statique et transitoire d'éclatement en champ nul.

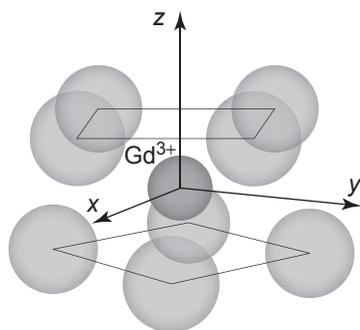


Figure 11.2 - Le complexe $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_8]^{3+}$. Les sommets des carrés parallèles sont occupés par des molécules d'eau (voir planches couleur).

La figure 11.3 représente une sélection de spectres expérimentaux et leurs simulations. Celles-ci ont été calculées par la méthode de REDFIELD et validées par simulation numérique de Monte Carlo, avec les paramètres indiqués dans le tableau 11.2

La détermination des constantes d'anisotropie de surfaces requiert un ensemble de mesures sur des films d'épaisseurs différentes. Les anisotropies de surfaces sont importantes pour des épaisseurs de quelques monocouches et elles peuvent donner lieu à une réorientation de l'axe de facile aimantation : pour des couches épaisses, le champ démagnétisant est dominant et l'axe facile est orienté dans le plan du film tandis que pour des épaisseurs nanométriques l'axe facile devient normal au plan du film [ZAKERI *et al.*, 2006]. La direction de l'axe de facile aimantation peut être déduite du signe de la quantité M_{eff} . En fait, le concept de champ démagnétisant correspond à une description macroscopique du système qui perd sa signification dans le cas des couches ultraminesces composées de quelques plans atomiques seulement. Dans ce cas, une description du champ démagnétisant à l'échelle atomique s'avère nécessaire [HEINRICH, 2005].

Sur les figures 12.2 et 12.3, nous présentons quelques spectres RFM d'une couche de Fe de 1,3 nm d'épaisseur protégée par un film mince d'aluminium de 2 nm. Les largeurs de raies sont faibles, de l'ordre de quelques mT.

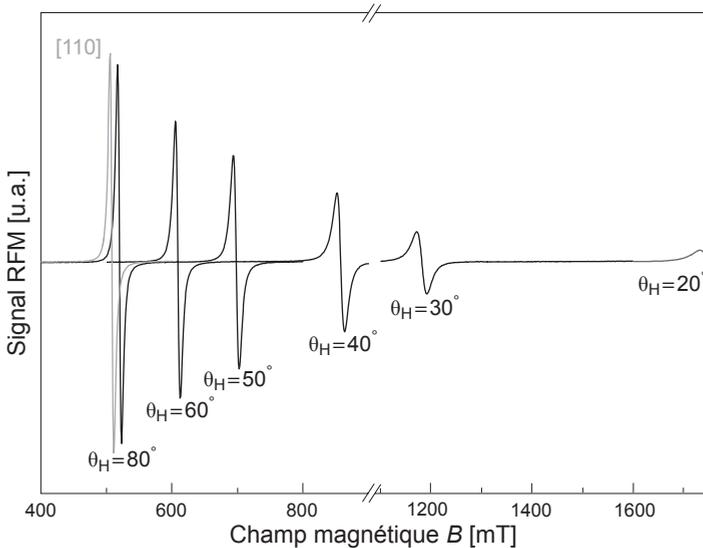


Figure 12.2 - Spectres de RFM en bande Q de Al/Fe(1,3 nm)/(100)GaAs
Plan de rotation (110), $T = 300\text{K}$.

Ce film présente une anisotropie uniaxiale dans le plan en raison des fortes contraintes uniaxiales qui dominent les anisotropies cubiques. Le champ de résonance du mode uniforme mesuré avec un champ magnétique appliqué normal au plan du film ($\theta_H = 0$) vaut 2,2 T en bande X et 3,1 T en bande Q ; ces valeurs dépassent les champs magnétiques qui peuvent être obtenus avec des électroaimants standards, souvent limités à 2 T. La figure 12.4 montre la variation angulaire du champ de résonance