

50376  
1990  
5

N° d'ordre : 488

50376  
1990  
5

68000

# THESE

présentée à

## L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRE ARTOIS

en vue de l'obtention du titre de  
DOCTEUR DE L'U.S.T.L.F.A.

MENTION SPECTROCHIMIE

par

Pascale HAUDRECHY

Ingénieur E.N.S.C.P.

Boursier C.I.F.R.E. - CORNING EUROPE Inc.

I.N.R.A. - Centre de Recherche de LILLE

L.A.S.I.R. - U.S.T.L.F.A.

Sujet :

### CARACTERISATION DES INTERACTIONS PHYSICOCHIMIQUES ENTRE LES SURFACES DE VERRE ET VITROCERAMIQUE ET L'ALPHA-LACTALBUMINE EN SOLUTION

Soutenue le 29 Janvier 1990 devant la Commission d'Examen:

Membres du Jury: MM.

M. LALANDE  
M. SHANAHAN  
S. TURRELL  
A. CARRE  
M. DELHAYE  
M.C. DHAMELINCOURT

Président  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examinateur  
Examinateur  
Examinateur



50376  
1990  
5

N° d'ordre . . .

69000

50376  
1990  
5

## THESE

présentée à

# L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRE ARTOIS

en vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'U.S.T.L.F.A.

MENTION SPECTROCHIMIE

par

Pascale HAUDRECHY

Ingénieur E.N.S.C.P.

Boursier C.I.F.R.E. - CORNING EUROPE Inc.

I.N.R.A. - Centre de Recherche de LILLE

L.A.S.I.R. - U.S.T.L.F.A.

Sujet :

## CARACTERISATION DES INTERACTIONS PHYSICOCHIMIQUES ENTRE LES SURFACES DE VERRE ET VITROCERAMIQUE ET L'ALPHA-LACTALBUMINE EN SOLUTION

Soutenue le 29 Janvier 1990 devant la Commission d'Examen:

Membres du Jury: MM.

M. LALANDE

M. SHANAHAN

S. TURRELL

A. CARRE

M. DELHAYE

M.C. DHAMELINCOURT

Président

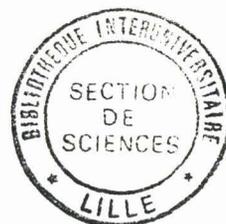
Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur



030 024146 5

*My life is a hallway with 10.000 doors. Behind each one lies a day and four walls.*

JAMES MORELAND

*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Génie Industriel Alimentaire (L.G.I.A.- I.N.R.A., Villeneuve d'Ascq) et au laboratoire de spectroscopie infra-rouge et Raman (L.A.S.I.R.- U.S.T.L., Lille 1) en collaboration avec le centre de recherche de CORNING EUROPE Inc. (77211 AVON).*

*Je tiens à exprimer à Monsieur M. LALANDE ma reconnaissance pour l'accueil qu'il m'a réservé au sein de son équipe et pour avoir suivi le déroulement de mes recherches. Je le remercie d'accepter de présider le jury de ma thèse.*

*Je tiens aussi à remercier Monsieur M. DELHAYE de m'avoir accueillie au sein du L.A.S.I.R., de l'intérêt qu'il a porté à mes travaux, et d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.*

*Je remercie également toute l'équipe du L.A.S.I.R. pour l'aide qu'elle m'a fournie tout au long de mes travaux et plus particulièrement Messieurs P. DHAMELINCOURT et G. TURRELL pour les conseils prodigués ainsi que Madame M. C. DHAMELINCOURT pour son aide et pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.*

*Je tiens également à exprimer à Madame S. TURRELL ma gratitude pour avoir suivi ma recherche, pour l'intérêt qu'elle y a portée et pour avoir accepté d'être rapporteur de ma thèse.*

*J'exprime aussi mes remerciements et mes félicitations à Messieurs X. FRANCZYK et O. BAUMARD pour l'excellente contribution qu'ils ont fourni à mes travaux au cours de leur stage effectué au sein du L.A.S.I.R.*

*Je voudrais aussi adresser à Monsieur A. CARRE du centre de recherche de CORNING EUROPE, mes remerciements pour avoir suivi mes travaux et pour ses précieux conseils, ainsi que pour avoir accepté de faire partie de mon jury.*

*J'exprime également à Messieurs J. P. BONNELLE et L. GENGEMBRE du Laboratoire de Catalyse Hétérogène (U.S.T.L.- Lille 1) mes remerciements pour m'avoir permis de réaliser des analyses au sein de leur laboratoire et pour les conseils qu'ils m'y ont prodigués.*

*Je remercie Monsieur M.SHANAHAN de l'Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris (91003 EVRY) d'avoir accepté d'être rapporteur de ma thèse.*

*J'exprime toute ma gratitude à l'équipe du L.G.I.A. pour son chaleureux accueil et son assistance permanente et je remercie plus particulièrement Monsieur J.P.TISSIER pour les analyses qu'il a réalisées dans le cadre de ma recherche et pour ses conseils, Messieurs G.RONSE et P.DEBREYNE et Madame S.DELEPLANQUE pour leur aide et leur disponibilité.*

*Je remercie enfin toutes les personnes qui par leur concours amical et spontané, m'ont aidé à des degrés différents à la réalisation de cette thèse.*

## INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Le problème des interactions entre molécules organiques et surfaces minérales a suscité un grand nombre d'études au cours des dernières années, compte-tenu des nombreuses applications pratiques où les phénomènes d'adhésion interviennent. Citons notamment le domaine biomédical et le domaine de l'agro-alimentaire. L'une des conséquences les plus importantes de ces interactions est la formation de dépôts biologiques qui apparaissent sur les dents (plaques dentaires...), sur les appareils cardio-vasculaires (dépôts sanguins provoquant la coagulation du sang et les thromboses) et sur un grand nombre d'équipements utilisés dans le secteur de l'agro-alimentaire : cela va de la formation de dépôts alimentaires sur les ustensiles de cuisine à l'encrassement de parties d'unités de production industrielles telles que les plaques d'échangeurs thermiques utilisées pour la pasteurisation ou la stérilisation UHT du lait.

Les conséquences de ces adhésions sont particulièrement importantes, puisqu'elles sont responsables de problèmes aussi divers que les caries dentaires et la thrombose vasculaire, et dans l'agro-alimentaire, la perte d'efficacité des échanges thermiques, l'apparition de mauvais goûts dans les aliments et les difficultés de nettoyage et de maintien de l'hygiène, des ustensiles de cuisine et unités de production industrielles. Ceci explique l'intérêt suscité par les phénomènes d'adhésion des molécules organiques sur surfaces minérales.

Notre étude porte sur l'un de ces systèmes. Le milieu organique considéré est le lait et les surfaces minérales interagissantes sont des surfaces de verre Pyrex et de vitrocéramiques Vision et Vision déco, ces produits étant commercialisés sous forme d'ustensiles de cuisine par la société CORNING. Le but de cette étude est d'expliquer l'adhésion des aliments sur ces surfaces, afin d'être ensuite capable de modifier les substrats pour les rendre non

adhérents. Le lait est choisi comme milieu alimentaire modèle, car on y retrouve les différents éléments constitutifs des aliments : glucides, protéides, lipides, enzymes et matières minérales.

Néanmoins, même en se limitant à un seul produit alimentaire, le problème reste complexe. Or diverses études, que nous évoquerons dans l'état de l'art, suggèrent que les protéines jouent un rôle majeur dans la formation des dépôts. Dans le cas du lait, il semble en outre que ce rôle soit tenu par les protéines solubles du lactosérum. C'est pourquoi, nous avons limité notre étude au cas d'une protéine du lactosérum : l' $\alpha$ -Lactalbumine.

Le but de notre recherche est d'expliquer le mécanisme d'interaction qui permet l'adhésion de l' $\alpha$ -Lactalbumine sur le Pyrex, le Vision et le Vision déco.

A cette fin, nous présenterons dans un premier temps une revue générale des études qui ont été réalisées sur ces problèmes d'adhésion, ainsi que les différentes théories de l'adhésion. Parmi ces théories, deux d'entre elles semblent s'appliquer préférentiellement à notre système : la théorie thermodynamique et la théorie des liaisons chimiques.

La théorie thermodynamique permet de prévoir l'adhésion en calculant son énergie libre, énergie qui s'exprime en fonction de termes d'énergie de surface et d'interface des corps interagissants. En fait, il est possible de déterminer ces énergies pour des liquides et des surfaces solides mais pour des molécules isolées telle qu'une protéine, cela est actuellement très difficile.

La théorie des liaisons chimiques prévoit elle que l'adhésion entre deux corps est contrôlée par formation de liaisons chimiques, celles-ci pouvant inclure des liaisons de ionicité et de covalence variable. Cette théorie nécessite bien sûr de bien connaître la nature chimique des corps en présence (composition, répartition des éléments, nature des liaisons) et d'être capable d'identifier, si possible in situ, les liaisons intermoléculaires.

Dans un second temps, nous caractériserons donc les substrats en déterminant leur énergie de surface, et les compositions chimiques superfi-

cielles à l'aide de méthodes spectroscopiques. Pour la protéine, l'énergie de surface ne peut être déterminée, mais sa nature chimique est connue. Ainsi, nous nous limiterons à une étude rapide de sa structure secondaire, lorsqu'elle est traitée dans les conditions de pH et de température des différents essais d'adhésion. Cette étude sera réalisée en prélude à l'analyse in situ des dépôts d' $\alpha$ -Lactalbumine sur Pyrex, Vision et Vision Déco, analyse effectuée par méthode spectroscopique et dont le but est de déterminer les liaisons  $\alpha$ -Lactalbumine-verres.

Enfin et en conclusion, nous ferons la synthèse des différents résultats obtenus et mettrons en évidence leur interconnection.

CHAPITRE I



ETAT DE L'ART

## ETAT DE L'ART

L'interaction entre molécules organiques et surfaces minérales a beaucoup d'implications pratiques, parmi lesquelles on peut citer l'encrassement des équipements de l'industrie agro-alimentaire et des ustensiles de cuisine, par les produits alimentaires.

L'encrassement des surfaces d'échangeurs thermiques par le lait (pasteurisation, stérilisation) a été particulièrement étudié et a fait l'objet de nombreuses publications. Selon BURTON (1), les principales étapes de l'encrassement sont les suivantes :

- transformation de certains composants du lait en une forme pouvant être déposée sur une surface.
- transport par les zones de turbulence du liquide, des produits susceptibles de se déposer, vers la surface.
- adsorption d'une première couche de dépôt.
- croissance du dépôt par adsorption sur la couche initialement déposée.

La composition de ces dépôts formés sur échangeurs durant les traitements thermiques, a fait l'objet de nombreuses études (2 - 6). Il ressort que deux types de dépôts apparaissent :

- un dépôt formé dans les sections des échangeurs situées à des températures allant de 90°C à 110°C. Ce dépôt est composé essentiellement de protéines (50 à 60 % en poids) et de minéraux (30 à 35 % en poids), et est d'autant plus important que la température est élevée (dépôt de type A). La partie minérale est composée essentiellement de calcium et de phosphore et SHERE (7) montre en outre que le pourcentage de dépôt minéral augmente avec la température de la surface d'échange. Ce dépôt de type A a une structure poreuse dans laquelle, selon LYSTER (2) et GORDON et al. (8) sont piégés les autres constituants du lait (lipides et lactose).
- le second dépôt (dépôt de type B) se forme dans les sections chauffées entre 120°C et 140°C. Il a une structure compacte et se compose de minéraux (70 à 75 % en poids) et d'une faible partie protéique (10 à 15 % en poids). Ce dépôt

minéral est composé de calcium et phosphore, et des études en diffraction de rayons X réalisées par Lyster (2) ont montré qu'il existe des formes cristallisées de  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Mais la majorité du phosphate de calcium est vraisemblablement sous forme d'hydroxyapatite amorphe.

Selon BURTON (1), l'origine du dépôt minéral est à voir dans l'insolubilisation, à haute température, du calcium et du phosphore contenu dans le lait et celle du dépôt protéique, dans la dénaturation et l'insolubilisation des protéines du lactosérum qui intervient généralement à partir de  $70^\circ\text{C}$ .

BELL et SANDERS (9) ont également suggéré le rôle important joué par ces protéines solubles du lait dans l'encrassement, ceci après avoir constaté qu'un préchauffage du lait à  $85^\circ\text{C}$ , qui a pour effet de dénaturer les protéines avant qu'elles n'atteignent les sections chaudes de l'échangeur ( $T > 70^\circ\text{C}$ ), réduit la quantité de dépôt formé. En fait après un tel préchauffage, le dépôt A n'apparaît pas, mais le dépôt B est plus important, ce qui donne à penser que le dépôt A entrave la formation du second dépôt.

Ces observations montrent le rôle important joué par les protéines dans la formation des dépôts laitiers. Des études réalisées essentiellement en ESCA (4, 5) sur des dépôts de type A, indiquent en outre la présence de protéines dans les premières couches adsorbées.

La formation de dépôts due à l'adsorption de protéines a été observée dans beaucoup d'autre cas de figures mettant en jeu un fluide biologique et un matériau. Les systèmes sang/plasma/sérum et matériaux biocompatibles ont particulièrement été étudiés, essentiellement afin d'expliquer et de réduire les problèmes de coagulation du sang (10 - 20). Ces analyses ont porté principalement sur l'évolution de la structure tertiaire des protéines au cours de l'adsorption, et de la composition des dépôts (en protéines) au cours du temps.

Selon VROMAN (19, 20), la première protéine et molécule du plasma sanguin adsorbant sur diverses surfaces (verres,  $\text{SiO}_2$ , polymère) est la fibrinogène.

Des analyses plus récentes réalisées en spectroscopie infra-rouge (FTIR-ATR) par GENDREAU (13, 14) et WINTERS (15), montrent que les dépôts formés sur des cristaux de germanium, à partir de sang d'animaux, se composent, au cours des premières secondes (0 - 90 s), d'albumine, puis de glycoprotéines et enfin de fibrinogène.

Enfin, BAIER (11) indique, lors de l'adsorption, une modification de conformation des protéines, vers une structure majoritairement en hélice  $\alpha$ . Cette modification est semble-t-il faible sur des matériaux de faible énergie de surface ( $\gamma_s$ ), sur lesquels les protéines gardent donc une conformation voisine de celle qu'elles avaient dans le sang. Cette similitude semble réduire l'adsorption d'autres molécules sur la couche initialement adsorbée qui joue alors le rôle d'une couche passivante. BAIER propose donc d'utiliser des matériaux ayant une faible énergie de surface, du fait de leur composition chimique ou de la présence d'eau adsorbée, pour réduire les phénomènes de coagulation.

L'encrassement des surfaces par les milieux biologiques étant donc principalement gouverné par l'adsorption de protéines, il est important de connaître leur structure et composition chimique et plus particulièrement celles des protéines solubles du lait, puisque ce sont elles qui apparaissent dans les dépôts de lait auxquels nous nous intéressons.

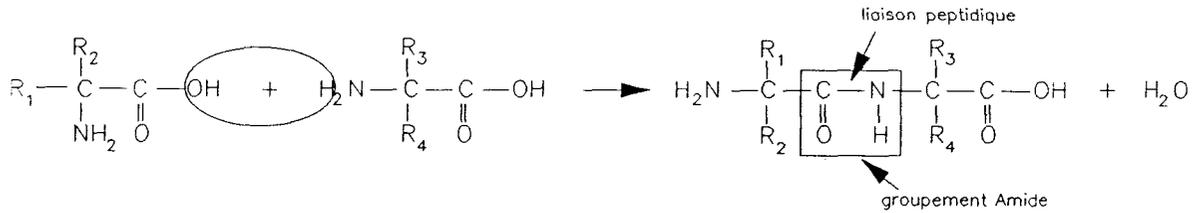
Le lait est composé de glucides, de lipides, de protides et de divers sels (tableau I.1). Parmi les protides, on trouve deux types de composés: les caséines et les protéines solubles, et des substances azotées non protéiques.

Les caséines ont une structure micellaire et se retrouvent sous forme colloïdale dans le lait alors que les protéines du lactosérum sont libres en solution. La protéine soluble du lactosérum du lait de vache la plus abondante est la  $\beta$ -lactoglobuline (2,5 à 3 g.l<sup>-1</sup>), mais on trouve aussi une quantité notable d' $\alpha$ -Lactalbumine (1 à 1,5 g.l<sup>-1</sup>), protéine que l'on trouve en outre dans tous les laits de mammifères ce qui n'est pas vrai pour la  $\beta$ -lactoglobuline. Parmi les principales autres protéines solubles du lait on trouve la sérumalbumine, les immunoglobulines et les protéose-peptones.

	Composition (g.l <sup>-1</sup> )		Etat physique des composants
Eau	905		Eau libre (solvant) + eau liée (3,7%).
Glucides: lactose	49		Solution.
Lipides Matière grasse proprement dite Lécithine (phospholipides) Partie insaponifiable (stérois, carotènes, tocophérols).	35	34 0,5 0,5	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns).
Protides Caséine Protéines "solubles" (globulines, albumines) Substances azotées non-protéiques	34	27 5,5 1,5	Suspension micellaire de phosphocaseinate de Calcium (0,08 à 0,12 microns). Solution (colloïdale). Solution (vraie)
Sels de l'acide citrique ( en acide) de l'acide phosphorique (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) de l'acide chlorhydrique (NaCl)	9	2 2,6 1,7	Solution ou état colloïdal (P et Ca). (Sels de K, Ca, Na, Mg, etc.).
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	traces		
Extrait sec (total)	127		
Extrait sec non gras		92	

Tableau I.1. : Composition typique du lait de vache (21).

**Structure des protéines :** Les protéines sont un enchaînement d'acides aminés liés par liaison peptidique (Fig.I.1.).



**Figure I.1. :** La liaison peptidique

Cet enchaînement est déterminé génétiquement et caractérise la structure primaire qui est désormais connue dans un grand nombre de cas. Sur les figures I.2. et I.3., nous présentons la structure de l' $\alpha$ -Lactalbumine B et de la  $\beta$ -lactoglobuline A (les autres variants génétiques ont une structure assez proche et présentent des propriétés physiques identiques) et dans le tableau I.2., les acides aminés présents dans ces protéines.

H-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys<sup>6</sup>-Glu-Val-Phe-Arg-Glu-Leu-Lys-Asp-Leu-Lys-  
 Gly-Tyr-Gly-Gly-Val-Ser-Leu-Pro-Glu-Trp-Val-Cys<sup>28</sup>-Thr-Thr-Phe-His-  
 Thr-Ser-Gly-Tyr-Asp-Thr-Glu-Ala-Ile-Val-Glu-Asn-Asn-Gln-Ser-Thr-  
 Asp-Tyr-Gly-Leu-Phe-Gln-Ile-Asn-Asn-Lys-Ile-Trp-Cys<sup>61</sup>-Lys-Asn-Asp-  
 Gln-Asp-Pro-His-Ser-Ser-Asn-Ile-Cys<sup>73</sup>-Asn-Ile-Ser-Cys<sup>77</sup>-Asp-Lys-Phe-Leu-  
 Asn-Asn-Asp-Leu-Thr-Asn-Asn-Ile-Met-Cys<sup>91</sup>-Val-Lys-Lys-Ile-Leu-Asp-  
 Lys-Val-Gly-Ile-Asn-Tyr-Trp-Leu-Ala-His-Lys-Ala-Leu-Cys<sup>111</sup>-Ser-Glu-Lys-  
 Leu-Asp-Gln-Trp-Leu-Cys<sup>120</sup>-Glu-Lys-Leu-OH

**Figure I.2. :** Structure primaire de l' $\alpha$ -Lactalbumine bovine B.

Les ponts di-sulfures sont situés entre les résidus 6 et 120, 28 et 111, 61 et 77, et 73 et 91.

H-Leu-Ile-Val-Thr-Gln-Thr-Met-Lys-Gly-Leu-Asp-Ile-Gln-Lys-Val-Ala-Gly-  
 Thr-Trp-Tyr-Ser-Leu-Ala-Met-Ala-Ala-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Leu-Asp-Ala-  
 Gln-Ser-Ala-Pro-Leu-Arg-Val-Tyr-Val-Glu-Glu-Leu-Lys-Pro-Thr-Pro-  
 Glu-Gly-Asp-Leu-Glu-Ile-Leu-Leu-Gln-Lys-Trp-Glu-Asn-Asp-Glu-Cys<sup>66</sup>-  
 Ala-Gln-Lys-Lys-Ile-Ile-Ala-Glu-Lys-Thr-Lys-Ile-Pro-Ala-Val-Phe-Lys-  
 Leu-Asp-Ala-Ile-Asn-Glu-Asn-Lys-Val-Leu-Val-Leu-Asp-Thr-Asp-Tyr-  
 Lys-Lys-Tyr-Leu-Leu-Phe-Cys<sup>106</sup>-Met-Glu-Asn-Ser-Ala-Glu-Pro-Glu-Gln-  
 Ser-Leu-Val-Cys<sup>119</sup>-Gln-Cys<sup>121</sup>-Leu-Val-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Asp-Asp-Glu-  
 Ala-Leu-Gln-Lys-Phe-Asp-Lys-Ala-Leu-Lys-Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-  
 Arg-Leu-Ser-Phe-Asn-Pro-Thr-Leu-Gln-Glu-Glu-Gln-Cys<sup>160</sup>-His-Ile-OH

**Figure I.3. :** Structure primaire de la  $\beta$ -lactoglobuline bovine A.

Les ponts di-sulfures sont situés entre les résidus 66 et 160, et 119 ou 121 et 106.

A	Alanine	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Glycine	$\text{H}-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	Valine	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Proline	
	Leucine	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Phénylalanine	
	Isoleucine	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Tryptophane	
B	Méthionine	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Cystéine	$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
C	Sérine	$\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Thréonine	$\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
D	acides		basiques	
	Acide Aspartique pK = 3,8	$\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Asparagine	$\text{NH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	Acide Glutamique pK = 4,1	$\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Glutamine	$\text{NH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
E	Arginine pK = 12,5	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{NH}_2}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	Histidine	$\text{HC}=\text{C}(\text{NH})-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	Lysine pK = 10,5	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$	A : Acides aminés (neutres) B : Acides aminés soufrés C : Acides aminés alcools D : Di-acides aminés E : Acides aminés basiques F : Acides aminés phénoliques	
F	Tyrosine pK = 10,3	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$		

Tableau I.2. : Acides aminés présents dans les protéines du lait.

La structure secondaire de la protéine correspond à la conformation spatiale déterminée par les différentes liaisons intramoléculaires qui essentiellement sont des liaisons hydrogènes. Elles se forment entre l'hydrogène des groupements NH ou OH et l'oxygène des groupements C=O. Il en résulte principalement trois conformations types : une conformation désordonnée et deux conformations ordonnées qui sont l'hélice  $\alpha$  et le feuillet  $\beta$  (Fig.I.4. et I.5.).

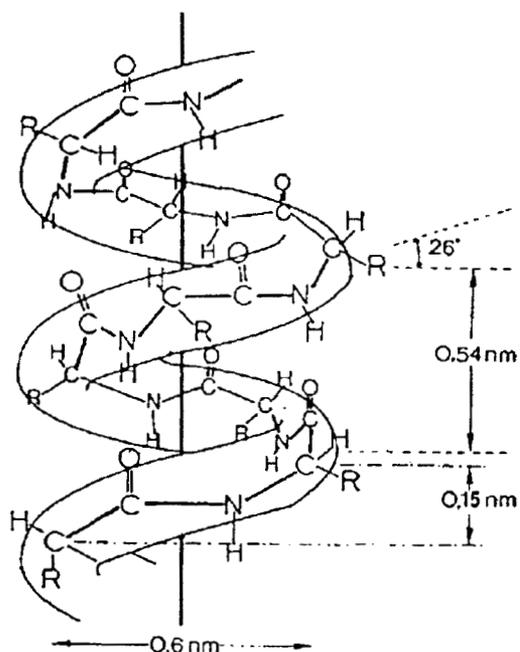


Figure I.4. : Structure en hélice  $\alpha$  d'une chaîne polypeptidique (d'après CHEFTEL J.C. et al (22)).

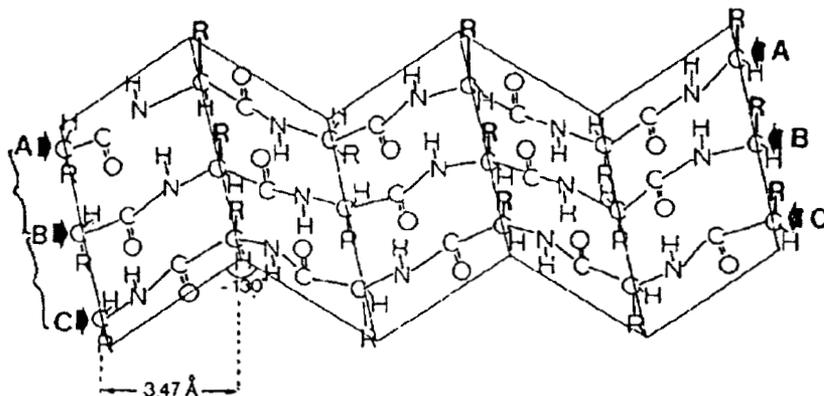


Figure I.5. : Structure en feuillets  $\beta$  de 3 chaînes polypeptidiques. P : chaînes A et B parallèles; AP : chaînes B et C antiparallèles; (d'après CHEFTEL J.C. et al (22)).

La protéine n'adopte jamais dans sa totalité une conformation unique. Il existe une troisième structure (structure tertiaire) qui correspond à l'organisation globale de la protéine selon les différentes structures secondaires. Cette structure est essentiellement déterminée par la formation de ponts di-sulfures (S-S) qui peuvent provoquer un repliement d'une chaîne unique sur elle-même ou relier plusieurs chaînes entre elles.

La structure tertiaire de la  $\beta$ -lactoglobuline a été étudiée par divers auteurs (23, 24). Selon DECKMYN et al. (23), les proportions de chaque structure secondaires sont environ: 10 % d'hélice  $\alpha$ , 30 % de feuillet  $\beta$  et 60 % de structure désordonnée. Le poids moléculaire de cette protéine est de 18000 mais entre pH 3 et 7, elle existe sous forme d'un dimère de poids égal à 36000. Cette protéine a la particularité de posséder un groupement sulfhydryle (S-H) libre qui joue un rôle important lors de la dénaturation thermique. HILLIER et LYSTER (25) ont montré que par chauffage, il y a échange entre les groupes SH libres et les ponts di-sulfures S-S, ce qui entraîne une modification de la structure tertiaire. En fait au cours du chauffage (26), il y a rupture des liaisons hydrogènes et des ponts di-sulfures, ce qui a pour effet de modifier la structure secondaire et tertiaire et de démasquer les groupements SH (21). Cela peut, dans certains cas, entraîner la formation de liaisons (S-S) intermoléculaires (26). Il y a alors agrégation de chaînes et formation d'un gel.

L' $\alpha$ -Lactalbumine, à la différence de la  $\beta$ -lactoglobuline, ne possède pas de groupements sulfhydryles libres. Elle est de ce fait plus stable thermiquement (26). Des études menées par HIRAOKA et al. (27), RUEGG et al. (28) et CHAPLIN et al. (29), il ressort que cette protéine est dénaturée de façon réversible entre 53°C et 70°C environ et que le degré de réversibilité diminue lorsque l'on augmente la température de chauffage au delà de 70°C. Plus précisément, il semble que le chauffage vers 60°C provoque une modification de conformation. La protéine passe d'une structure compacte à une structure déployée et désordonnée, mais il n'y a pas rupture des ponts di-sulfures, ce qui explique la réversibilité. Par contre, à plus forte température ( $T > 100^\circ\text{C}$ ), les ponts

S-S sont cassés ce qui entraîne un déploiement important de la molécule et la création d'un groupement (C-S) réactif qui peut former des liaisons intermoléculaires donnant lieu à la formation d'un gel.

La dénaturation thermique a donc essentiellement pour effet de rompre les ponts di-sulfures et d'entraîner la formation d'agrégat d'une même protéine. Dans un milieu comme le lait, les protéines solubles dénaturées peuvent aussi réagir avec d'autres protéines et notamment avec les micelles de caséines. Ceci a pour effet de stabiliser les micelles de caséines dans certains cas (réaction avec la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -Lactalbumine) et de les déstabiliser dans d'autres (réactions avec l'ovalbumine, la sérumalbumine et le lysozyme) (26). Ainsi, globalement, les laits préchauffés à 90°C sont plus stables et on remarque que dans ces conditions l'encrassement protéique est plus faible (10), ce qui peut s'expliquer par le fait que les protéines solubles piégées dans les micelles peuvent difficilement réagir avec les surfaces des matériaux.

Outre la présence de ponts di-sulfures, une autre caractéristique importante des protéines est qu'il s'agit de molécules chargées électriquement. Elles sont en effet formées en partie d'acides aminés neutres ou non polaires qui déterminent leur caractère hydrophobe, mais elles contiennent également des acides aminés polaires qui sont soit acides, soit basiques. Ainsi, les protéines sont chargées et la proportion relative de groupements latéraux ionisables présents sur les acides aminés polaires détermine le point isoélectrique (pI) de la protéine, c'est-à-dire le pH auquel la protéine est globalement neutre.

Les protéines étant chargées, le pH et la force ionique du milieu environnant interviennent, notamment au niveau de la solubilité dans l'eau (21, 22, 26) et des modifications conformationnelles (22, 26, 30).

De manière générale, la solubilité des protéines dans l'eau augmente lorsque l'on s'écarte du pI (d'un point de vue pH) et les modifications conformationnelles consistent essentiellement en une transition structure ordonnée ---> structure désordonnée par déploiement de la protéine (30-34).

L'effet de la force ionique est plus complexe car il dépend de la concentration et de la nature des sels en solution. Ainsi, elle peut aussi bien augmenter la solubilité des protéines que la diminuer en provoquant des agrégations (22).

Ces facteurs physicochimiques (force ionique, pH, température) qui modifient la solubilité des protéines et provoquent leur dénaturation interviennent également dans la formation des dépôts laitiers.

L'effet de la température a été évoqué précédemment et il concerne essentiellement la composition et la nature du dépôt (6-8).

Selon BURTON (9, 35), une diminution du pH du lait de 6,76 à 6,40 accroît la formation de dépôt. SKUDDER (36) a observé le même phénomène et a montré qu'en outre, l'acidification du lait provoque un enrichissement des dépôts en protéines et en graisses et un appauvrissement en substances minérales. De plus, il émet l'hypothèse que l'augmentation du dépôt résulte d'une plus faible stabilité thermique lorsque l'on diminue le pH. HIDDINK et al. (37) soulignent par ailleurs que la dénaturation thermique joue un rôle important dans la formation des dépôts.

LIEDBERG (38), dans l'étude d'adsorption de  $\beta$ -lactoglobuline sur surfaces d'or hydrophyles à température ambiante, indique qu'une augmentation de la charge nette de la protéine, due à un accroissement du pH au delà du pI, diminue la quantité de  $\beta$ -lactoglobuline adsorbée qui change alors de conformation et adopte une structure déployée.

Néanmoins, selon LUND (39), l'influence du pH qu'il ne nie pas est beaucoup plus complexe et peut être totalement inversée du fait de la mise en solution de sels, qui modifient notamment la force ionique du milieu. Il semble néanmoins que l'adsorption de protéines soit maximale vers le pI et en milieu très acide ou très alcalin.

Ces diverses études font donc ressortir l'influence de la force ionique, de la température et du pH dans la formation de dépôts protéiques mais par contre, les mécanismes d'adhésion sont encore assez mal connus.

Les protéines étant des macromolécules composées d'acides aminés, les études réalisées sur les mécanismes d'adhésion de ces deux types de composés sont particulièrement intéressantes. Selon ces études, il apparait que l'adsorption de macromolécules est beaucoup plus complexe que celle de petites molécules (39) : il faut notamment considérer la structure spatiale de la molécule afin de connaître son orientation et la position des sites actifs par rapport aux surfaces, sa flexibilité, et le nombre et la nature des sites réactionnels. D'autre part, la désorption d'une macromolécule est très difficile car cela suppose la rupture simultanée des multiples liaisons qui se sont formées entre la surface et la macromolécule.

En outre, l'adhésion peut être contrôlée par différents phénomènes qui correspondent en fait aux différentes théories existantes de l'adhésion. Les principales qui sont apparues dans les études d'adsorption de protéines ou d'acides aminés sont :

- la théorie thermodynamique
- la théorie électrostatique
- la théorie des liaisons chimiques et physicochimiques.

Dans la théorie thermodynamique, on considère l'adhésion d'une particule P, dans un liquide L sur un solide S, d'un point de vue purement thermodynamique, en introduisant la variation d'énergie libre  $\Delta G$  correspondant à l'adhésion de P sur S, à température et pression constante.

$$\Delta G = (\gamma_{sp} - \gamma_{pl} - \gamma_{sl}) \cdot A, \quad \gamma_{ij} \text{ est l'énergie interfaciale entre } i \text{ et } j. \quad (\text{I.1.})$$

Si  $\Delta G$  est négatif, l'adhésion est favorisée thermodynamiquement et donc probable. D'autre part, la comparaison des valeurs de  $\Delta G$  pour différents systèmes (liquide, solide, particule) permet de prévoir théoriquement dans quels cas l'adhésion sera la plus facile. Dans le chapitre suivant, nous présenterons plus en détail le concept des énergies de surface.

Dans cette théorie de l'adhésion, deux types d'interactions entre solides sont considérées : les interactions dispersives et les interactions polaires que l'on regroupe aussi sous le terme de non dispersives (40 - 46):

Les interactions dispersives résultent des forces de dispersion de LONDON qui sont dues à l'existence de dipôles instantanés (dus aux fluctuations permanentes de la densité électronique), interagissant avec les dipôles induits par ces dipôles instantanés. Ces forces agissent à plus longues distances que les autres forces intermoléculaires puisqu'elles sont fonction de  $(r_{ij}^{-2})$  où  $r_{ij}$  est la distance intermoléculaire (40, 41).

Les interactions non dispersives regroupent toutes les autres interactions: dipôle-dipôle induit, dipôle-dipôle, interactions acide-base et liaisons hydrogène. Dans le cas des interactions faisant intervenir des liquides ou solides, FOWKES (45) et DRAGO (47) ont montré que les interactions dipolaires sont négligeables et ainsi les interactions polaires sont essentiellement de type acide-base, à condition de considérer les concepts d'acidité et basicité de BRONSTED et de LEWIS.

Ces concepts ont été appliqués dans l'étude d'adsorption de polymères à partir de différents solvants sur des substrats de silice (42, 44). FOWKES et al. ont ainsi montré que l'interaction entre deux corps acides ou deux corps basiques est contrôlée par des forces dispersives mais que les interactions acides-bases contrôlent l'adsorption dès qu'un corps basique est en contact avec un corps acide. Dans le domaine biologique, la théorie de l'adhésion thermodynamique a surtout été appliquée aux bactéries (48-50) et il apparaît que le nombre de bactéries adhérant sur surfaces de polymères diminue avec l'énergie de surface du substrat. IKADA (43) a montré également que l'adsorption de bovine serumalbumine sur divers polymères, augmente avec l'énergie de surface du polymère en milieu aqueux.

La théorie électrostatique prévoit que des corps de polarité opposée vont interagir. Cette théorie s'applique donc à l'adhésion d'ions ou de molécules polaires sur des surfaces chargées. La théorie DLVO développée par DERJAGUIN, LANDAU, VERWEY et OVERBEEK (51) à partir de cet effet électrostatique, prévoit que l'énergie libre d'interaction entre deux corps est la somme de deux termes :

- un terme correspondant aux interactions entre dipôles induits, c'est-à-dire aux forces de VAN DER WAALS,
- un terme dû aux interactions électrostatiques.

Selon cette théorie, l'interaction entre une particule et un substrat de charges opposées est bien sûr toujours importante, mais elle diminue si l'on augmente la force ionique du milieu dans lequel se trouve la particule (51). Mais surtout, cette théorie montre que lorsque les charges sont identiques, il peut aussi y avoir interaction surtout dans les milieux de force ionique élevée, et de ce fait adhésion. Ces principes ont été appliqués par NASSAUER et al. (52) à l'étude de l'adhésion de protéines sur des aciers portés à différents potentiels électriques. De leur étude, il ressort que les protéines dénaturées adsorbent par l'intermédiaire de leurs groupements hydrophobes et donc interagissent par des forces de VAN DER WAALS, alors que l'adhésion des protéines natives est contrôlée par les forces électrostatiques existant entre les groupements hydroxyles de la protéine et les ions hydroxyles situés en surface des aciers. D'autre part, ils ont montré que l'adsorption des protéines natives augmente avec le potentiel positif du métal.

La troisième théorie est celle de la liaison chimique qui prévoit que l'adhésion est contrôlée par la formation de liaisons covalentes ou ioniques. Ces liaisons correspondent à des interactions à courte distance à la différence des forces évoquées dans la théorie électrostatique qui agissent sur une plus grande distance (53): les interactions acide-base de la théorie thermodynamique correspondent en fait aux liaisons chimiques acide-base. Le concept des liaisons acide-base a surtout été développé par DRAGO (54) et FOWKES (55).

Au sens de LEWIS, tous les corps présentant des vacances électroniques sont accepteurs d'électrons et ont ainsi un caractère acide. Ce groupe inclut notamment les cations dont l'acidité augmente avec la charge ionique et diminue avec le rayon ionique, les ions des métaux de transition présentant des orbitales d vacantes et les sites électrophiles des composés organiques (C dans cétones, esters, carbonates et nitriles, P dans composés phosphorés...). Les sites basiques sont des sites possédant des électrons situés dans des orbitales de haute énergie. C'est le cas de l'oxygène (fonctions éthers, carbonyles, alcools...), de l'azote (amines, amides, nitriles), des électrons  $\pi$  (noyaux aromatiques, oléfines) et des anions dont la basicité est d'autant plus élevée qu'ils sont associés à des acides faibles.

Les liaisons hydrogène peuvent ainsi être considérées comme des liaisons acide-base dont l'enthalpie a été formulée par DRAGO (54) :

$$\Delta H = C_A C_B + E_A E_B \quad (I.2.)$$

Les indices A et B signifient acide et base, le terme C caractérise la propension à former des liaisons covalentes et le terme E, celle à établir des interactions électrostatiques. Ces termes ont été évalués pour un grand nombre d'acides et de bases. De façon générale, l'acidité et la basicité des composés organiques sont connues car elles sont faciles à mesurer et ont été amplement étudiées. Par contre, pour les surfaces inorganiques, nous possédons beaucoup moins d'informations. L'une des méthodes de mesure envisageable est celle utilisant des indicateurs colorés et qui fut proposée par WALLING (56) et appliquée par d'autres auteurs à la détermination d'acidité de surfaces inorganiques (57-59). FOWKES a montré notamment que des surfaces de fibres de verre riches en sodium sont basiques alors qu'il est admis que les surfaces de verres sont acides le plus souvent.

Ce type de liaisons acides-bases a été mis en évidence dans un grand nombre de cas. Pour BOLGER (60), l'adsorption de polymères sur surfaces d'oxydes est contrôlée par ce genre de liaisons, sachant que les surfaces d'oxydes sont en fait recouvertes de groupement hydroxyles polaires (Fig.I.6.), dont l'acidité est d'autant plus forte que M est électro-attracteur.

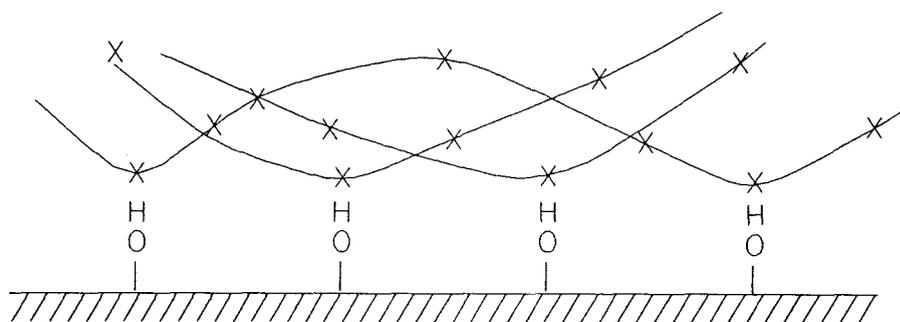


Figure I.6. : Adsorption de polymère basique sur surface d'oxyde métallique (63).

De même FOWKES (42) a étudié l'adsorption du PMMA, polymère basique, sur des surfaces de silice acide. Il constate que l'adsorption est importante

lorsque le PMMA est dispersé dans un solvant neutre, alors que dans un solvant très acide (plus acide que la surface) ou très basique (plus basique que le PMMA), l'adsorption est faible : dans le premier cas, l'interaction solvant-polymère est plus forte que l'interaction polymère-surface alors que dans le second cas, les intensités d'interactions sont inversées .

ARSLANOV (61) souligne aussi l'importance des liaisons hydrogènes dans l'adhésion d'un revêtement époxy sur des surfaces d'oxyde d'aluminium.

MAC RITCHIE (62) évoque également la formation de liaisons hydrogènes entre les groupements silanols d'un polymère composé d'acide silicique et les fonctions carbonyles, amines ou amides des protéines. D'autre part, il remarque que l'interaction est plus forte au voisinage de pI et à forte force ionique.

MORRISSEY (63) et LIEDBERG (38), dans l'étude d'adsorption de protéines sur surfaces de silice non poreuses et sur surfaces d'or hydrophiles expliquent l'adhésion par interactions acide-base entre les groupements carbonyles des chaînes latérales des protéines et la surface.

Selon MESSING (64, 65), l'adsorption de protéines sur verres est contrôlée par des liaisons acide-base également, mais ici entre les fonctions amines de la protéine et les groupements silanols (Si-OH) du verre.

Pour LIEDBERG (66), l'adsorption de la L-histidine et de la L-phénylalanine sur une surface de cuivre est contrôlée par la formation de liaisons covalentes entre l'azote de la fonction amine et l'oxygène du groupement carbonyle, et le métal.

D'autres études d'interactions acide-base ont été réalisées mais en se focalisant plus précisément sur les transferts d'électrons  $\pi$  vers des sites acides :

KISELEV et GALKIN (67, 68) montrent que l'adsorption de composés aromatiques sur des surfaces de silice et de zéolite est contrôlée par des interactions entre les électrons  $\pi$  des noyaux aromatiques, et les groupements hydroxyles et les cations des surfaces.

Pour MATTHEWS (69), l'adsorption d'acides aminés et par extension de protéines, sur du mercure, est contrôlée par les transferts d'électrons  $\pi$  des liaisons doubles des protéines vers les sites acides de la surface.

L'adsorption de molécules organiques sur surfaces inorganiques semble donc, pour beaucoup, être contrôlée par des liaisons acide-base.

Ceci reste vrai lorsque le substrat est une surface composée de silice (cas des verres). Les surfaces de silice sont généralement hydroxylées et donc présentent des groupements silanols (Si-OH) (60, 70), qui le plus souvent interagissent avec l'eau qu'ils retiennent physisorbée. L'hydrogène de cette fonction silanol est partiellement protonique du fait de la vacance électronique des orbitales d de Si (71). De ce fait, cet hydrogène peut interagir par transferts électroniques avec des composés possédant des électrons périphériques (électrons des liaisons  $\pi$  et des noyaux benzéniques, et paires d'électrons libres) (71, 73).

Des études par spectroscopie infra-rouge de différents composés adsorbés, composés essentiellement organiques, ont ainsi été réalisées (71-75). Ces études montrent que l'adsorption de composés présentant des électrons délocalisés (éthylène, benzène, azote, diéthyléther, oxygène, azote...) se fait effectivement par transferts d'électrons vers l'hydrogène des groupements silanols alors que des molécules qui ne possèdent que des liaisons  $\sigma$  (n-pentane) dont la densité électronique est symétrique, interagissent uniquement par forces dispersives (71).

BASILA (74) montre en outre, au cours d'une étude sur une série de dérivés du méthylbenzène et du chlorométhane, que la force de la liaison hydrogène est corrélée au potentiel d'ionisation du composé donneur d'électrons.

Selon FOWKES (42, 44), l'adsorption de polymères sur des surfaces présentant des groupements SiOH est également contrôlée par des réactions acides-bases entre le H de Si-OH et les fonctions basiques du polymère.

MATTHEWS (69) et MESSING (64, 65), lors d'études d'adsorption de protéines sur des surfaces de verre poreux, évoquent également la formation de liaisons hydrogènes ainsi que de liaisons ioniques, entre les fonctions amines de la protéine et les groupements silanols du verre.

D'autres études d'adsorption de protéines sur verres ont été menées. BULL (76, 77) et MORRISSEY (63) ont montré que l'adsorption est maximale au voisinage

du pI et plus importante à pH acide qu'à pH neutre. Ainsi MORRISSEY souligne le rôle important joué par les forces intermoléculaires (entre protéines), qui sont minimales au voisinage de pI.

## CONCLUSION

L'adsorption de protéines sur surfaces minérales semble jouer un rôle majeur et précurseur dans de nombreux phénomènes d'encrassement par les produits biologiques. Dans le cas des dépôts laitiers, il semble en outre que ce soit les protéines solubles du lait qui jouent ce rôle.

La température et le pH de la solution protéique sont des facteurs primordiaux dans la formation des dépôts qui sont importants au voisinage du pI, là où les forces intermoléculaires entre protéines sont faibles, et aux températures où la protéine est insolubilisée mais non dénaturée ( $T = 60-100^{\circ}\text{C}$ ). Il est donc intéressant d'étudier l'adsorption à différents pH et à différentes températures.

Enfin, il semble que l'adsorption des protéines comme de nombreux autres composés organiques sur surfaces d'oxydes, résulte de la formation de liaisons acides-bases, qui le plus souvent se ramènent à des liaisons hydrogène, entre les groupements de la protéine qui possèdent des électrons délocalisés (fonctions amines, carbonyles...) et les groupements hydroxydes des surfaces d'oxydes (Si-OH, Al-OH...).

CHAPITRE II  
- 1<sup>ère</sup> PARTIE -

-----

COMPOSITION SUPERFICIELLE  
DES SUBSTRATS

## Table des matières

A CHOIX DES SPECTROSCOPIES POUR L'ANALYSE DES SURFACES .....	28
I Infra-rouge par transformée de Fourier (FTIR) .....	28
II Spectroscopie électronique Auger (AES) .....	29
III SIMS .....	29
IV SEM-EDXA .....	30
B ANALYSES PAR SPECTROSCOPIE DE PHOTOELECTRONS X (XPS) .....	30
I Méthodologie - appareillage .....	30
1 Principe .....	30
2 Appareillage .....	33
3 Conditionnement des échantillons .....	34
II Résultats .....	35
1 Traitement des spectres .....	35
2 Analyse XPS du Pyrex .....	38
3 Analyse XPS du Vision. ....	41
4 Analyse XPS du Vision Déco .....	45
C ANALYSES EN SEM ET EDXA .....	50
I Méthodologie - Appareillage .....	50
1 Principe de la microscopie électronique à balayage (SEM) ...	50
2 Principe de la microsonde X (EDXA) (93-96) .....	51
3 Appareillage .....	54
a Microscope Electronique à balayage (99) .....	54
b Microsonde X : .....	56
c Métalliseur .....	57
4 Préparation des échantillons .....	57
a Nettoyage .....	57
b Métallisation .....	58
II Partie expérimentale .....	59
1 Conditions analytiques et traitement des spectres EDXA .....	59
2 Visualisation des surfaces en SEM .....	61
3 Résultats d'analyses EDXA .....	61
III Discussion des résultats .....	64
D SYNTHÈSE SUR LES COMPOSITIONS CHIMIQUES DU VERRE PYREX ET DES VITROCERAMIQUES VISION ET VISION DECO .....	68

## COMPOSITION SUPERFICIELLE DES SUBSTRATS

La composition globale des substrats ainsi que la structure cristalline et le taux de cristallinité des vitrocéramiques que nous étudions nous sont connues, puisqu'elles nous ont été fournies par la société CORNING.

Mais il est reconnu que la composition superficielle des verres diffère souvent de celle au coeur (75,78-81) du fait de traitements chimiques ou thermiques ou simplement de processus de nettoyage, appliqués aux matériaux. Aussi, si l'on veut expliquer l'adhésion des molécules organiques sur les verres, il faut caractériser dans un premier temps la surface de ces verres notamment d'un point de vue composition et pour cela nous utiliserons des méthodes spectroscopiques.

### A CHOIX DES SPECTROSCOPIES POUR L'ANALYSE DES SURFACES

Un grand nombre de spectroscopies existe pour caractériser les surfaces. Une étude critique de celles-ci appliquées à la caractérisation des surfaces de verres a été réalisée par LEE et CLARK (82). Il en ressort que les spectroscopies les plus utilisées pour ces analyses sont la spectroscopie infra-rouge par transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie électronique Auger (AES), la spectroscopie de masse des ions secondaires (SIMS) et la microscopie à balayage couplée à une analyse d'énergie dispersive des rayons X (SEM-EDXA).

#### I Infra-rouge par transformée de Fourier (FTIR)

Cette méthode nouvellement appliquée à l'étude de surfaces de verres permet d'étudier structures et compositions (83). Le principe de cette spectroscopie vibrationnelle est d'exciter les échantillons par un rayonnement polychromatique et d'analyser la différence énergétique entre le rayonnement détecté et l'incident.

Au cours d'essais préliminaires nous avons testé cette technique. N'ayant pas obtenu de résultats concluants, nous l'avons abandonnée.

## II Spectroscopie électronique Auger (AES)

Il s'agit d'une spectroscopie électronique qui permet essentiellement d'étudier la composition. Elle est très souvent associée, sur un même appareil à la spectroscopie des photoélectrons X (XPS). On rassemble alors ces deux techniques sous le terme ESCA (spectroscopie électronique pour l'analyse chimique). Le principe de base de ces deux techniques est identique mais pratiquement elles sont légèrement différentes : l'AES permet d'analyser localement les échantillons sur une surface de 1 à 2 mm<sup>2</sup> et sur une faible profondeur (environ 20 Å) alors qu'en XPS, la surface analysée est de l'ordre de 0,5 cm<sup>2</sup> et la profondeur de l'ordre de 50 Å. La spectroscopie Auger est donc particulièrement intéressante pour l'étude de surfaces inhomogènes.

Au cours d'essais préliminaires, nous avons là encore testé ces deux techniques. L'XPS a donné des résultats satisfaisants alors qu'avec l'AES nous avons eu des problèmes de charge liés à la mauvaise conductivité électrique des verres. Nous avons donc choisi d'utiliser l'XPS d'autant plus que cette méthode appliquée à l'étude des verres a fait l'objet d'un plus grand nombre de publications que l'AES (79, 80, 84, 85).

## III SIMS

Cette spectroscopie analyse les ions expulsés des surfaces d'échantillons bombardés par des ions argons. Elle permet essentiellement d'étudier la composition sur une surface équivalente à l'XPS mais sur une profondeur plus faible, limitée pratiquement à la monocouche (5-10 Å).

Divers auteurs l'ont utilisée pour analyser des surfaces de verres (86, 87) et leurs résultats montrent que cette technique est bien adaptée à l'étude des compositions superficielles. Mais nous n'avons pu l'utiliser car nous n'en disposons pas au laboratoire.

#### IV SEM-EDXA

En microscopie électronique (SEM), les atomes de surface des échantillons excités par un faisceau d'électrons, émettent des électrons secondaires qui sortent du matériau après avoir subi de multiples interactions. Du fait de ces interactions, leur énergie n'est pas caractéristique et donc ils ne peuvent servir à l'analyse des matériaux mais ils permettent néanmoins de faire de l'imagerie.

L'analyse est en fait réalisée à l'aide des photons X émis lors de la relaxation des atomes excités, et dont l'énergie est caractéristique des atomes. C'est le principe de la microsonde X (EDXA). En outre, le couplage de ces deux techniques permet d'étudier la répartition des éléments en effectuant des cartographies.

Ces spectroscopies ont pour intérêt de permettre une étude sur une faible superficie (1 mm<sup>2</sup> environ) mais la profondeur d'analyse est importante (quelques dizaines de micromètres). En outre, des problèmes de charge apparaissent, comme en AES, pour les matériaux peu conducteurs et donc il est généralement nécessaire de métalliser les surfaces des verres pour pouvoir faire de l'imagerie (88, 89). Ces spectroscopies ne sont donc pas parfaitement adaptées à l'étude superficielle des verres aussi nous les utiliserons essentiellement en complément des analyses réalisées en XPS.

### B ANALYSES PAR SPECTROSCOPIE DE PHOTOELECTRONS X (XPS)

#### I Méthodologie - appareillage

##### 1 Principe

Cette technique est basée sur l'effet photoélectrique. L'échantillon est excité par un faisceau de photons X d'énergie  $h\nu$ , émis par une source monochromatique (raie  $K\alpha$  de Al ou Mg). Les photons suffisamment énergétiques provoquent alors l'émission d'électrons du coeur (niveaux s et p), d'énergie de liaison  $E_b$  et d'énergie cinétique  $E_c$ . La mesure de  $E_c$  permet de calculer  $E_b$  suivant la relation :

$$h\nu = E_b + E_c, \quad h = \text{constante de Planck}, \quad \nu = \text{fréquence} \quad (\text{II.1.1.})$$

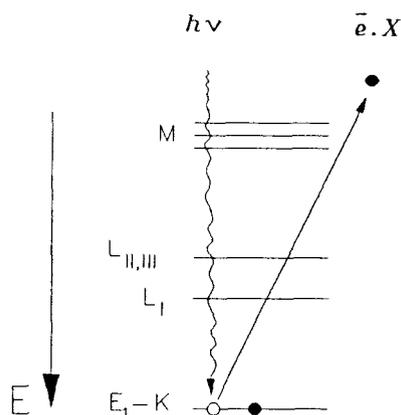


Figure II.1.1. : Principe d'émission des photoélectrons X.

$E_b$  étant caractéristique de l'élément dont provient l'électron et de son niveau électronique initial, on peut ainsi déterminer au moins qualitativement la composition du matériau et obtenir des renseignements sur l'état d'oxydation d'un élément et sur son environnement chimique, car  $E_b$  dépend également de ces paramètres.

Pratiquement, les électrons émis sont détectés et comptés en fonction de  $E_c$ , ce qui permet d'obtenir des informations semi-quantitatives. En effet, l'intensité des raies est reliée au nombre d'atomes de l'élément, suivant la relation (90) :

$$I(Z, a, h\nu) = K \sigma(Z, a, h\nu) \cdot n(Z) \cdot \lambda(E_c) \cdot \tau(E_c) \quad (\text{II.1.2.})$$

$I$  = intensité de la raie

$Z$  = numéro atomique

$a$  = niveau électronique initial de l'électron émis

$K$  = constante d'appareillage

$\sigma$  = section de capture

$n$  = nombre d'atomes

$\lambda$  = libre parcours moyen

$\tau$  = facteur de transmission de l'appareil

$\lambda(E_c)$  et  $\tau(E_c)$  sont reliés à  $E_c$  par une loi de type exponentielle qui est définie par étalonnage de l'appareil. La relation (II.1.2.) devient ainsi :

$$I(Z, \alpha, h\nu) = B \cdot \sigma(Z, \alpha, h\nu) \cdot n(Z) \cdot Ec^\alpha \quad (\text{II.1.3.})$$

, où B et  $\alpha$  sont des constantes intrinsèques à l'appareil.

Expérimentalement, on détermine  $\alpha$  mais non B ( $\alpha = 1,77$  pour l'appareil que nous utilisons). On ne peut donc accéder qu'à des valeurs relatives de concentration en étudiant les rapports d'intensité,  $I(Z, \alpha, h\nu)/I(Z^\circ, \alpha, h\nu)$  où  $Z^\circ$  représente un élément de référence dont la concentration est constante.

*Remarque :* Le principe de la spectroscopie Auger est identique dans la mesure où des photoélectrons sont émis à la suite de l'excitation par un rayonnement de photons X. Mais les électrons sont émis différemment. Le schéma ci-dessous illustre le principe de l'émission Auger (Fig. II.1.2.).

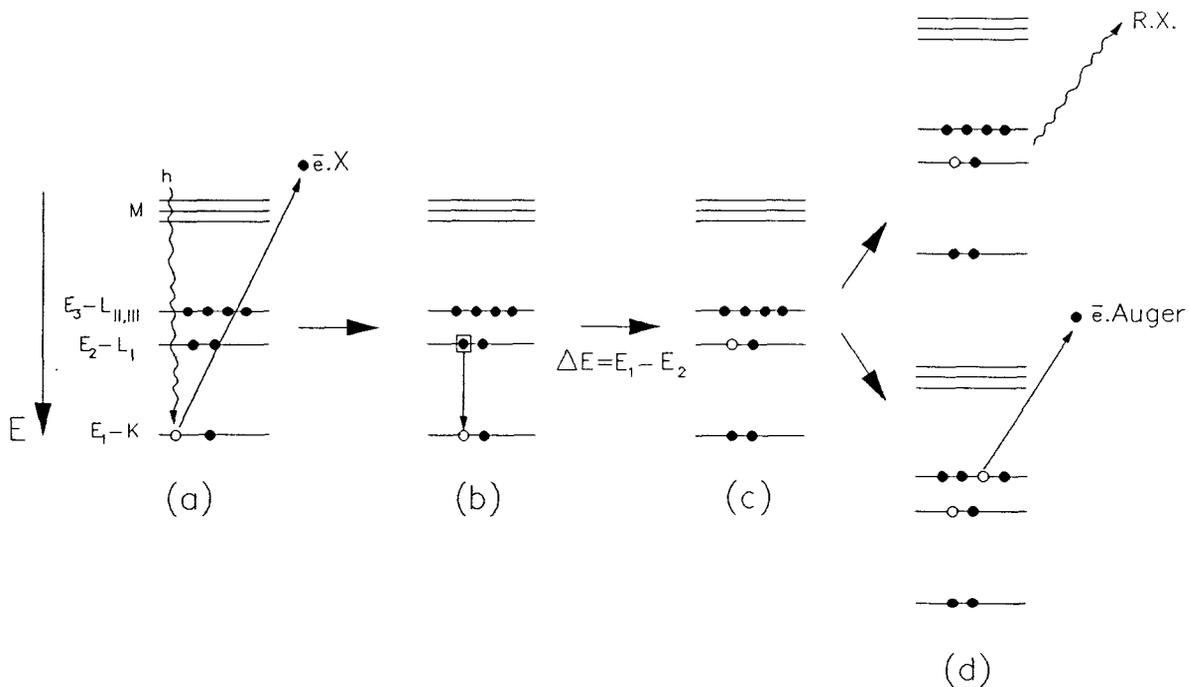


Figure II.1.2. : Principe de l'émission Auger.

Sous l'effet du rayonnement incident, un électron interne est expulsé ce qui crée une vacance (a). L'atome excité (b) se stabilise dans un premier temps en comblant la vacance à l'aide d'un électron d'une couche supérieure (c), puis dans un second temps, utilisant l'excès d'énergie  $\Delta E$ , en émettant

des rayons X (fluorescence X), ou en expulsant un électron d'une couche supérieure (électron Auger) (d). L'électron Auger est donc émis avec une énergie cinétique  $E_c$  qui vaut :  $E_c = E_1 - E_2 - E_3$ .

Plusieurs niveaux électroniques étant mis en jeu lors de l'émission d'électrons Auger, les transitions sont désignées en utilisant les lettres caractérisant ces niveaux énergétiques (transition  $KL_1L_{2,3}$ ,  $KL_{2,3}M\dots$ ).

Si l'on se réfère au schéma précédent (Fig. II.1.2.), nous constatons que l'émission des photoélectrons X et l'émission Auger se font parallèlement et ainsi les raies Auger se superposent généralement au spectre XPS. Ces raies peuvent être exploitées qualitativement mais non quantitativement car nous ne connaissons pas pour l'appareil utilisé, la fonction reliant l'intensité du signal à la concentration.

## 2 Appareillage

L'appareil utilisé est un Leybold Heraeus. La source excitatrice est la radiation  $K\alpha$  de l'aluminium ( $E = 1486,6$  eV). Les conditions d'intensité et de tension pour les analyses sont de 20 mA et 13 kV respectivement.

L'appareil est en outre muni d'un système de décapage par ions  $Ar^+$  d'énergie égale à 3000 eV. Le courant de décharge est de 8 mA, la tension de décharge de 490 V et le décapage se fait sous vide ( $P = 8 \cdot 10^{-3}$  Pa). Dans ces conditions, la vitesse de décapage est d'environ 2 monocouches atomiques par minute, soit environ 5 Å par minute.

L'analyse des échantillons après plusieurs décapages permet théoriquement d'étudier l'évolution de la composition lorsque l'on pénètre au coeur du matériau. Néanmoins, cette technique n'est pas parfaitement rigoureuse car en fait l'efficacité du décapage n'est pas la même pour tous les éléments : globalement, elle diminue avec le poids moléculaire.

Une autre méthode plus rigoureuse permet de déterminer des profils de concentration sans réaliser de décapages. Elle consiste à faire varier l'angle d'incidence  $\theta_i$  du faisceau de rayons X sur l'échantillon, sachant que l'épaisseur analysée est environ égale à  $3\lambda \sin \theta_i$  ( $\lambda =$  libre parcours moyen).

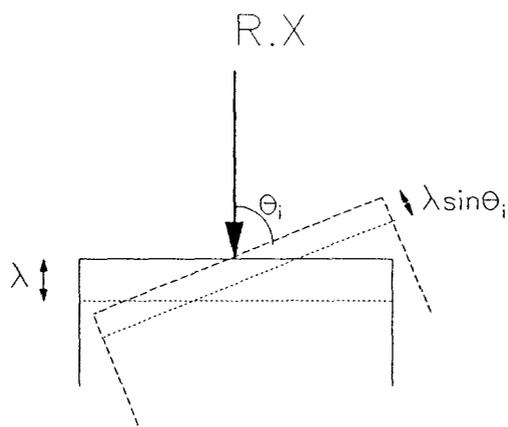


Figure II.1.3. : Evolution de la profondeur d'analyse en ESCA, en fonction de l'angle d'incidence ( $\theta_i$ ) du faisceau de rayons X.

### 3 Conditionnement des échantillons

Deux types d'échantillons ont été analysés : des surfaces planes et des surfaces de cassure.

Dans le premier cas, les échantillons sont des disques de diamètre 13 mm et d'épaisseur 2 mm, ayant subi le nettoyage suivant :

- .RBS 35 (4 %) - 20°C - 30 min
- Eau bidistillée - 20°C -  $t \geq 1$  h
- Etuve - 56°C -  $t \geq 1$  h
- Ethanol chaud - 80°C environ - 1,5 h
- Etuve - 100°C - 10 min.

Le choix de ce nettoyage a été guidé par l'étude réalisée en parallèle sur les énergies de surface des mêmes matériaux (cf. ch II - 2e Partie, C, III, 1°). L'étude des surfaces de cassure est réalisée sur des échantillons dont les dimensions sont :  $l = 10$  mm  $L = 15$  mm  $e \approx 2$  mm. Le nettoyage est dans ce cas :

- .RBS 35 (4 %) - 20°C - 30 min
- Eau bidistillée - 20°C - 1 h
- Etuve - 56°C -  $t \geq 1$  h
- Ultrasons - 20°C -  $t = 30$  min

Les échantillons nettoyés sont placés dans l'appareil, sous ultravide ( $P < 10^{-6}$  Pa).

## II Résultats

Les substrats que nous étudions sont des matériaux vitreux de composition globale connue. Il s'agit du verre Pyrex (code 7252), de la vitrocéramique Vision (code 9607) et de la vitrocéramique Vision Déco, produits par la société CORNING. Les vitrocéramiques sont des verres qui ont été partiellement cristallisés au cours de recuits à haute température. Les deux vitrocéramiques ont la même composition chimique globale mais elles ont subi des cycles de cuissons différents et ainsi elles diffèrent d'un point de vue structure cristalline.

Pour ces trois matériaux, nous étudions la composition superficielle et la composition au coeur en analysant respectivement des surfaces planes et des surfaces de cassure. En outre pour établir des profils de concentration et éliminer les contaminations atmosphériques, nous procédons à des décapages successifs par ions  $Ar^+$ .

### 1 Traitement des spectres

Pour chaque matériau, avant et après décapages, nous obtenons les spectres XPS d'une partie des éléments constitutifs du matériau, ainsi que des contaminations atmosphériques (carbone essentiellement). Ces spectres présentent le nombre de photoélectrons X détectés, en fonction de leur énergie cinétique. On obtient ainsi des raies caractéristiques des éléments dont l'intensité est reliée à la concentration absolue en cet élément par la relation (II.1.3.). Néanmoins, comme nous l'avons vu, nous ne pouvons accéder qu'à des valeurs relatives de concentration, en prenant comme élément de référence, un élément dont la concentration est constante. Dans notre cas, nous nous référons au Silicium (Si) qui est majoritaire et que l'on peut supposer réparti de façon homogène. Cette hypothèse sera vérifiée en comparant les intensités des signaux de Si obtenues pour un même échantillon après les différents décapages, et en vérifiant que le rapport  $\frac{\Delta I_{max}}{I_{moyen}}$  est dans les limites de précision des mesures expérimentales.  $\Delta I_{max}$  représente ici l'écart entre

l'intensité maximale et l'intensité minimale obtenues pour le signal d'un même élément pour une surface donnée, et cela en ne considérant que les analyses réalisées après décapage.  $I_{\text{moyen}}$  est la valeur moyenne des intensités obtenues dans les mêmes conditions.

Pour l'appareil que nous utilisons, la précision est très bonne et c'est en fait la précision sur la mesure graphique de l'intensité qui est ici le facteur limitant. Nous l'avons expérimentalement évaluée à 5 %.

Pour obtenir le rapport  $n(Y)/n(\text{Si})$ , Y désignant un élément quelconque, nous calculons ensuite l'intensité du signal caractéristique de Y,  $I(Y,a)$  (a est le niveau électronique dont proviennent les photoélectrons), en mesurant graphiquement l'aire de la raie correspondante et nous la rapportons à  $I(\text{Si},2p)$ .  $n(Y)/n(\text{Si})$  est alors donné par la relation suivante :

$$\frac{n(Y)}{n(\text{Si})} = \frac{I(Y,a)}{I(\text{Si},2p)} \cdot \left( \frac{Ec(\text{Si},2p)}{Ec(Y,a)} \right)^{1.77} \cdot \frac{\sigma(\text{Si},2p)}{\sigma(Y,a)} \quad (\text{II.1.4.})$$

et

$$\Delta \left( \frac{n(X)}{n(\text{Si})} \right) / \frac{n(X)}{n(\text{Si})} = 2 \cdot \frac{\Delta I}{I} \approx 0,1$$

Les valeurs de  $\sigma$  sont présentées dans le tableau II.1.1.

Y	a	$\sigma$	Y	a	$\sigma$
Carbone	1s	1,0000	Bore	1s	0,4860
Silicium	2p	0,8200	Potassium	2p	3,9700
Oxygène	1s	2,9300	Calcium	2p	5,0700
Aluminium	2p	0,4371	Baryum	3d <sup>3/2</sup>	17,9200
Sodium	1s	8,5200	Baryum	3d <sup>5/2</sup>	25,8400
Sodium	2s	0,4220	Zircone	3d	7,0400

Tableau II.1.1. : Valeurs des sections de capture, ( $\sigma$ ), de différents photoélectrons, rapportées à celle de C.1s (91).

Les valeurs de  $E_c$  sont obtenues à partir de celles de  $E_{c1}$  mesurées sur les spectres de la manière suivante :

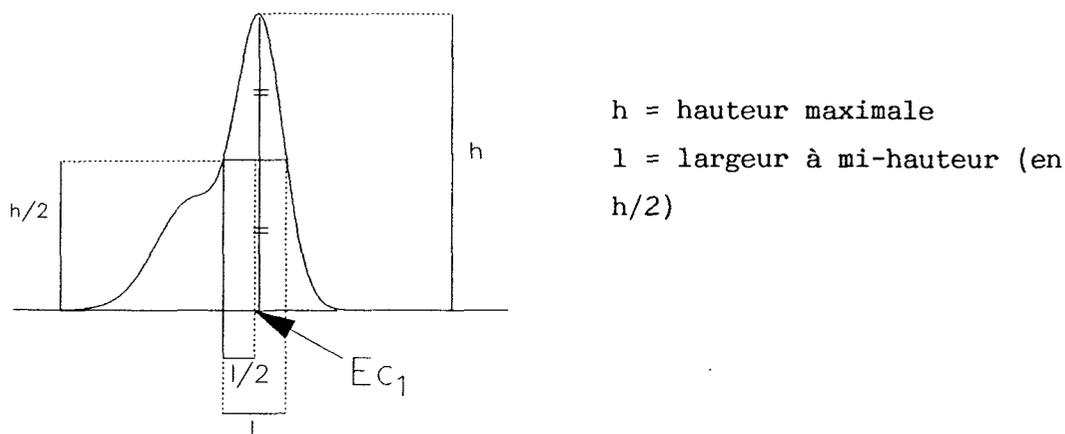


Figure II.1.4. : Mesure expérimentale de  $E_{c1}$

La valeur  $E_{c1}$  obtenue sur le spectre est ensuite corrigée de la valeur  $\Delta E_c(C,1s)$ :

$$\Delta E_c(C,1s) = E_{c2}(C,1s) - E_{c1}(C,1s) \quad (\text{II.1.5.})$$

$E_{c2}$  = valeur théorique de l'énergie cinétique

$E_{c1}$  = valeur mesurée de l'énergie cinétique

Cette correction est nécessaire car la mauvaise conductivité électrique des verres diminue artificiellement la vitesse d'émission et donc l'énergie cinétique des électrons. La valeur  $\Delta E_c(C,1s)$  permet de compenser cet écart. En outre, pour ce réajustement, nous utilisons le signal de l'électron 1s du carbone graphite, car la valeur de son énergie cinétique est connue ( $E_c(C,1s) = 1202,8 \text{ eV}$  (92)) et car il est toujours présent dans les éléments de contamination externe.

$E_c(Y,a)$ , valeur corrigée de l'énergie cinétique, vaut donc:

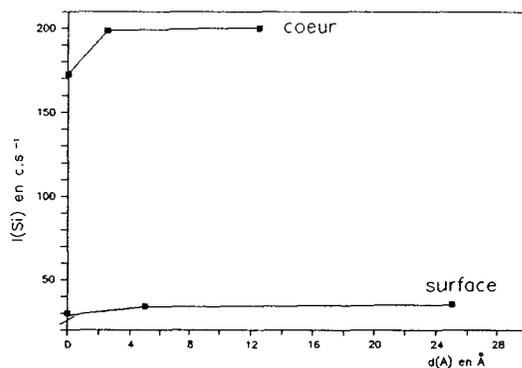
$$E_c(Y,a) = E_{c1}(Y,a) + \Delta E_c(C,1s) \quad (\text{II.1.6.})$$

Pour établir les profils de concentration, nous présentons ensuite graphiquement les valeurs  $100 n(Y)/n(\text{Si})$  en fonction de l'épaisseur décapée ( $d(A)$ ), ceci pour chaque élément et chaque échantillon.

*Remarque* : Pour le magnésium (Mg), nous présentons l'intensité absolue du signal et non le rapport  $n(\text{Mg})/n(\text{Si})$  car pour cet élément nous ne détectons que des raies Auger à partir desquelles il n'est pas possible de calculer  $n(\text{Mg})/n(\text{Si})$ .

## 2 Analyse XPS du Pyrex

Sur la figure II.1.5., nous présentons les intensités mesurées pour le signal du silicium 2p, en surface et au coeur du verre, en fonction de  $d(\text{Å})$ . La constance de l'intensité après décapage ( $\frac{\Delta I_{\text{max}}}{I_{\text{moyen}}} < 5\%$ ), nous permet de dire que le silicium est réparti de façon homogène dans le Pyrex, aussi bien en surface qu'au coeur du matériau. Ainsi on peut effectivement prendre cet élément comme référence pour les calculs de concentration relative.



**Figure II.1.5.** : Evolution de l'intensité du signal XPS de Si 2p, en fonction de l'épaisseur décapée, en surface et au coeur du Pyrex.

*Remarque* : Avant décapage, le signal est plus faible car on analyse également la couche de contamination externe qui ne contient pas de Si, dont la concentration est ainsi diminuée artificiellement.

Les profils de concentration en surface et au coeur pour les autres éléments détectés dans le verre Pyrex sont présentés figures II.1.6a.- 6f.

**Carbone (Fig. II.1.6a.) :**

Le carbone est une impureté caractéristique des contaminations atmosphériques. On le trouve aussi bien au coeur qu'en surface mais dans chaque cas sa

concentration diminue fortement après un premier décapage, ce qui montre bien qu'il s'agit d'une impureté présente en surface des échantillons et provenant de l'atmosphère.

**Oxygène (Fig. II.1.6b.) :**

Cet élément est réparti de façon homogène au coeur et en surface du verre Pyrex et y est fortement concentré ce qui était prévisible, puisque les verres sont des oxydes.

En outre, les concentrations au coeur et en surface sont pratiquement identiques ( $100 \text{ nO/nSi} = 190$  en surface,  $100 \text{ nO/nSi} = 205$  au coeur) suggérant ainsi que l'oxygène est réparti régulièrement dans tout le matériau.

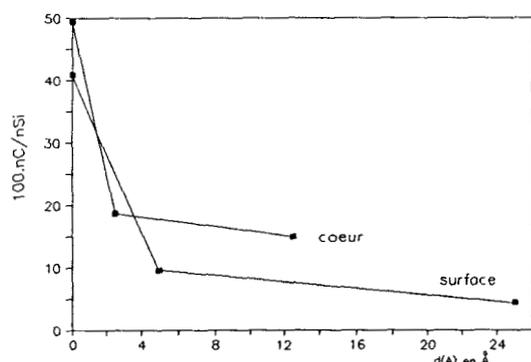


Figure II.1.6a. : Profils de concentration de C au coeur et en surface du Pyrex (analyses XPS).

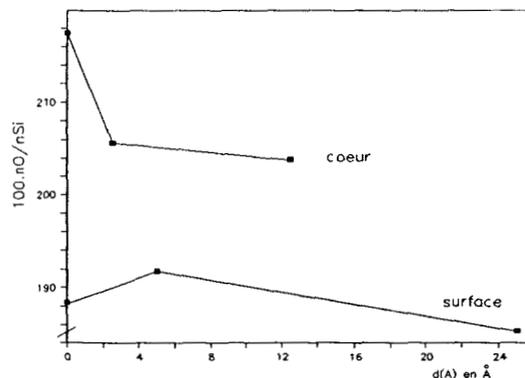


Figure II.1.6b. : Profils de concentration de O au coeur et en surface du Pyrex (analyses XPS).

**Sodium (Fig. II.1.6c.) :**

En surface, Na est réparti de façon homogène. Au coeur on constate que la concentration est légèrement plus importante avant décapage.

Ceci ne peut être expliqué par des mouvements de migration dus au recuit du verre car nous analysons ici une cassure provenant du coeur du matériau où ces mouvements n'ont pas lieu. D'autre part, divers auteurs ont montré que lors du nettoyage des verres silicatés par l'eau, il y a échange d'ions  $\text{Na}^+$  du verre par des ions  $\text{H}^+$  de l'eau (78). Il en résulte un appauvrissement de la surface en ions  $\text{Na}^+$ . Ici nous observons le phénomène inverse ce qui donne à penser que la légère surconcentration observée à la surface de la cassure provient d'une contamination externe, par l'eau bidistillée éventuellement. Mais surtout, nous constatons que la concentration de sodium est plus faible en surface qu'au coeur. Les résultats d'analyse XPS ne nous permettent pas,

néanmoins, de préciser quels phénomènes et éventuellement quels mouvements de migration sont responsables de cette différence. L'analyse en EDXA qui par contre se fait sur une plus grande profondeur nous permettra peut être de compléter ces résultats.

**Bore (Fig. II.1.6d.) :**

Au coeur comme en surface, le rapport  $n_B/n_{Si}$  augmente avec  $d(A)$ . Ceci ne s'explique pas par la sélectivité du décapage car celui-ci est plus efficace pour B que pour Si (B est plus léger que Si) et donc il doit artificiellement diminuer la concentration de B par rapport à celle de Si. D'autre part, le fait que nous observions également une hétérogénéité au coeur du matériau suggère que celle-ci est due à un artefact technique. Mais surtout les profils montrent que comme pour Na, la surface est appauvrie en Bore dans un rapport de 2 environ.

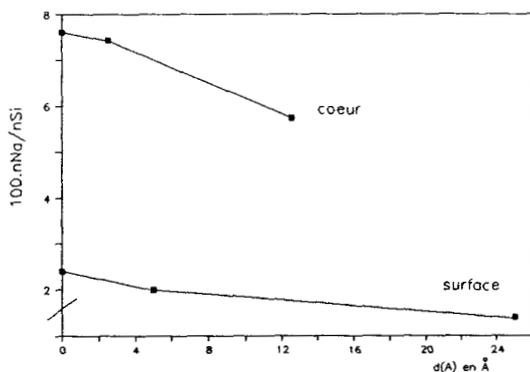


Figure II.1.6c. : Profils de concentration de Na au coeur et en surface du Pyrex (analyses XPS).

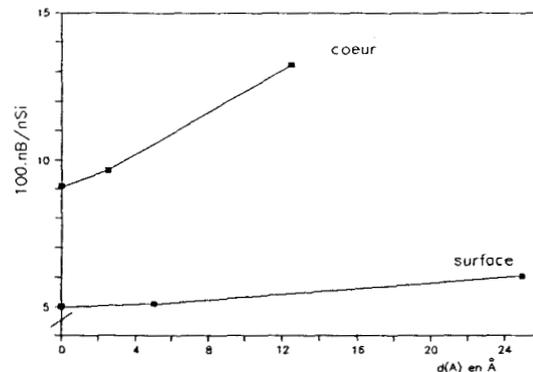


Figure II.1.6d. : Profils de concentration de B au coeur et en surface du Pyrex (analyses XPS).

**Aluminium (Fig. II.1.6e.) :**

Al est réparti de façon homogène au coeur et en surface mais comme B et Na il est plus concentré au coeur.

**Potassium (Fig. II.1.6f.) :**

Au coeur du verre, le potassium est réparti de façon homogène mais est légèrement moins concentré qu'en surface. Ceci pourrait indiquer une migration du coeur vers la surface ce que confirmerait le maxima observé pour  $n_K/n_{Si}$  pour  $d(A) = 5 \text{ \AA}$  à la surface du verre. En effet, ce maxima ne caractérise pas une contamination externe puisqu'il apparaît après un premier décapage, mais bien une surconcentration à la surface du verre.

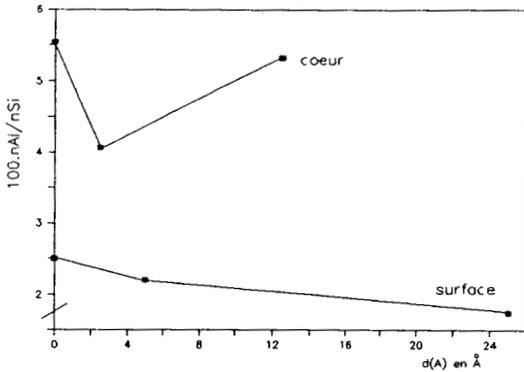


Figure II.1.6e. : Profils de concentration de Al au coeur et en surface du Pyrex (analyses XPS).

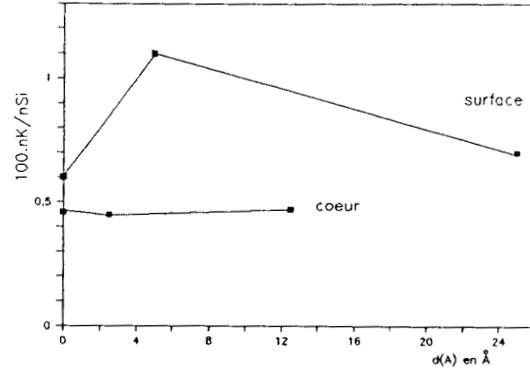


Figure II.1.6f. : Profils de concentration de K au coeur et en surface du Pyrex (analyses XPS).

De ces résultats XPS, nous concluons que la surface du verre Pyrex est composée majoritairement de  $\text{SiO}_2$  et minoritairement de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$  et  $\text{K}_2\text{O}$  et qu'elle est appauvrie en  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$  et  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

### 3 Analyse XPS du Vision.

Sur la figure II.1.7., nous présentons les valeurs obtenues pour l'intensité du signal de  $\text{Si}, 2p$ . Comme pour le verre Pyrex, l'intensité est pratiquement constante ( $\frac{\Delta I_{\text{max}}}{I_{\text{moyen}}} < 5\%$ ) après un premier décapage qui élimine la couche de contamination externe. Ainsi, là encore on peut utiliser Si comme élément de référence. Les autres éléments étudiés sont C, Na, K, Ca, Al, Ba, Zr et Mg.

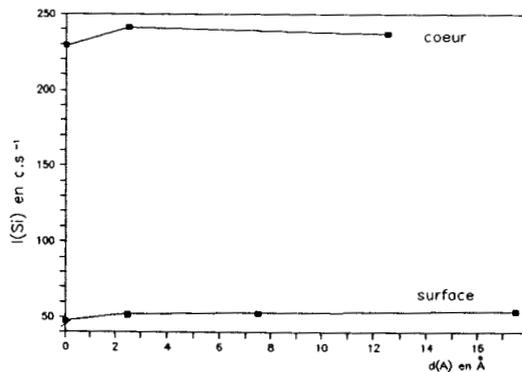


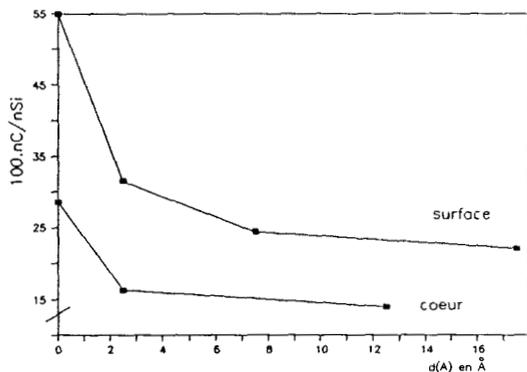
Figure II.1.7. : Evolution de l'intensité du signal XPS de Si en fonction de l'épaisseur décapée en surface et au coeur du Vision.

Impuretés :**Carbone (Fig. II.1.8a.) :**

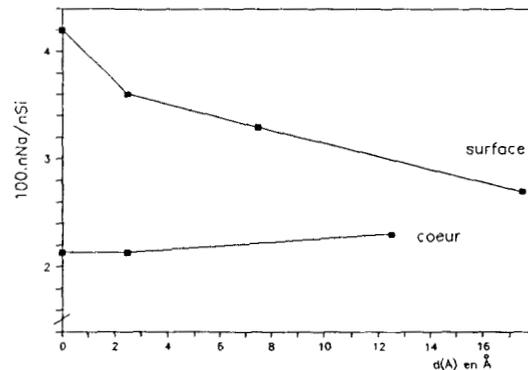
Les profils de concentration sont du même type que ceux observés pour le Pyrex et indiquent la présence d'une couche de contamination externe limitée à quelques Å d'épaisseur.

**Sodium (Fig. II.1.8b.) :**

En surface, la concentration de Na diminue avec  $d(A)$  ce qui suggère qu'il s'agit ici d'une contamination externe. Néanmoins nous trouvons aussi du sodium au coeur du matériau et là la concentration est constante. Ainsi, il semble que la contamination ne soit que partiellement extérieure. D'autre part, les deux profils de concentration (coeur et surface) convergent vers une valeur commune de  $n_{Na}/n_{Si}$  de  $2,2 \cdot 10^{-2}$ , qui caractérise probablement la concentration de cette impureté dans la vitrocéramique Vision.



**Figure II.1.8a.** : Profils de concentration de C au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).



**Figure II.1.8b.** : Profils de concentration de Na au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).

**Potassium (Fig. II.1.8c.) :**

En surface, la concentration de K diminue régulièrement avec  $d(A)$  ce qui semblerait indiquer que là encore il s'agit d'une contamination externe provenant probablement de l'eau de nettoyage.

Néanmoins, si tel était le cas, nous devrions également observer du potassium en surface de la cassure puisque les deux échantillons ont subi le même nettoyage. Or au coeur du Vision, K n'est pas détecté, ce qui nous permet de supposer qu'il y a contamination non atmosphérique et exclusivement des couches peu profondes du Vision, par du potassium.

Calcium (Fig. II.1.8d.) :

Après élimination de la couche de contamination externe, le rapport  $n_{Ca}/n_{Si}$  varie peu ce qui indique que cette impureté ne provient probablement pas de l'extérieur et qu'elle est répartie régulièrement.

D'autre part, après plusieurs décapages, nous constatons que la concentration au coeur est plus faible qu'en surface ce qui pourrait indiquer une migration de Ca vers la surface du Vision au cours des recuits.

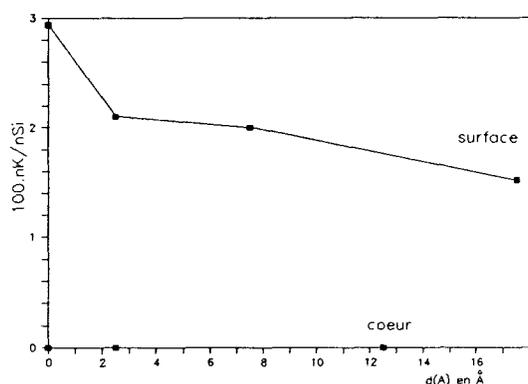


Figure II.1.8c. : Profils de concentration de K au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).

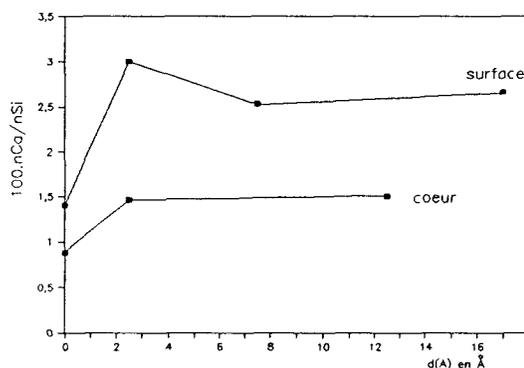


Figure II.1.8d. : Profils de concentration de Ca au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).

#### Eléments du Vision :

Nous n'avons détecté que quelques éléments de cette vitrocéramique, les autres étant probablement trop peu concentrés.

Aluminium (Fig. II.1.8e.) :

La concentration au coeur est régulière mais légèrement plus faible qu'en surface et surtout que dans les couches peu profondes de la vitrocéramique ( $d(A) = 17 \text{ \AA}$ ) : nous observons en surface un léger accroissement de la concentration en fonction de  $d(A)$ , qui semblerait indiquer une migration de Al vers le coeur du matériau, mais cette migration serait alors de faible ampleur puisque nous n'observons pas d'accroissement de la concentration au coeur.

Baryum (Fig. II.1.8f.) :

Nous observons en surface une légère diminution de la concentration, avec  $d(A)$ , alors qu'au coeur, Ba est réparti régulièrement. D'autre part, il

apparaît que la surface est enrichie par rapport au coeur, en cet élément, ce qui nous permet de supposer qu'il y a eu migration des couches internes vers la surface du matériau.

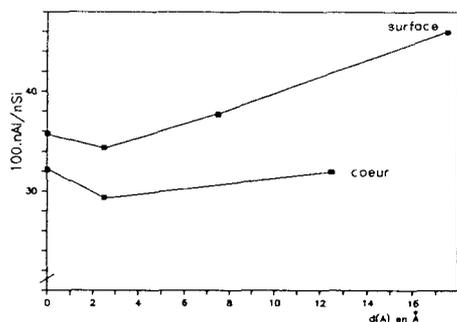


Figure II.1.8e. : Profils de concentration de Al au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).

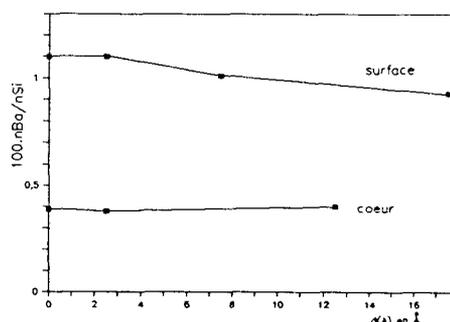


Figure II.1.8f. : Profils de concentration de Ba au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).

Zirconium (Fig. II.1.8g.) :

La raie du zirconium que nous analysons est la raie 3d (Zr 3d) qui se superpose à un pic de perte d'énergie de la raie 2s du silicium. Si étant très concentré alors que Zr l'est faiblement, il est difficile de bien distinguer la raie Zr 3d. Ainsi la mesure de l'intensité n'est pas très précise et pratiquement elle nous permet surtout de constater que Zr est réparti régulièrement en surface et au coeur. Il semble cependant que Zr soit plus concentré en surface du matériau ce qui pourrait traduire une migration à partir du coeur.

Magnésium (Fig. II.1.9.) :

Pour cet élément, nous ne pouvons figurer que l'intensité du signal (en coups par seconde) qui nous montre que la concentration de Mg est homogène en surface et au coeur.

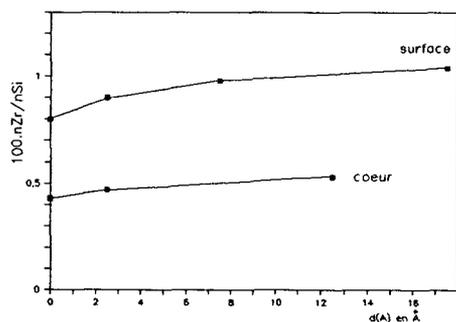


Figure II.1.8g. : Profils de concentration de Zr au coeur et en surface du Vision (analyses XPS).

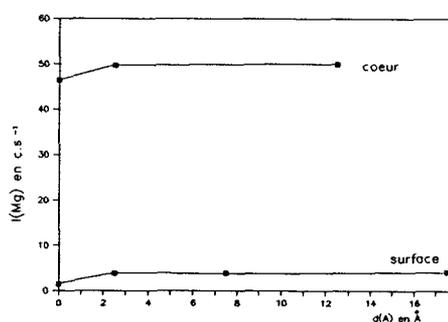


Figure II.1.9. : Evolution de l'intensité du signal XPS de Mg, en fonction de l'épaisseur décapée, en surface et au coeur du Vision.

Les analyses XPS réalisées sur le Vision indiquent donc que celui-ci est composé majoritairement de  $\text{SiO}_2$  et de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  et minoritairement de  $\text{BaO}$ ,  $\text{ZrO}_2$  et  $\text{MgO}$ . D'autre part, nous avons constaté la présence d'impuretés non atmosphériques (Ca, K, Na). Les éléments propres à la vitrocéramique sont répartis de façon homogène (nous n'observons qu'une légère surconcentration de Al dans les couches peu profondes). Par contre, les impuretés semblent être surconcentrées en surface du matériau et plus particulièrement le potassium que nous ne détectons pas au coeur du Vision.

#### 4 Analyse XPS du Vision Déco

Les profils de concentration de Si, présentés Figure II.1.10., indiquent qu'au coeur du Vision Déco,  $I(\text{Si})$  peut être considérée comme constante. Par contre, en surface le rapport  $\frac{\Delta I_{\text{max}}}{I_{\text{moyen}}}$  dépasse légèrement la valeur limite de 5 % puisqu'il atteint 7,8 %. Cette valeur n'étant néanmoins pas très élevée, nous prendrons là encore Si comme référence, mais en sachant qu'ici la précision sur la valeur du rapport  $nY/n\text{Si}$  sera plus faible ( $\Delta(\frac{nY}{n\text{Si}})/\frac{nY}{n\text{Si}} = 14\%$  au lieu de 10 %).

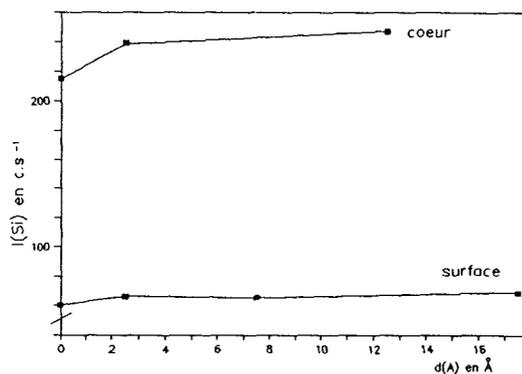


Figure II.1.10. : Evolution de l'intensité du signal XPS de Si en fonction de l'épaisseur décapée en surface et au coeur du Vision Déco.

Pour le Vision Déco, les autres éléments détectés en analyse XPS sont C, Na, K, Ca, Al, Ba, Zr et Mg. Ces éléments sont également analysés au coeur du Vision qui en fait a théoriquement la même composition chimique. Aussi, nous comparerons ci-après les résultats obtenus pour les deux vitrocéramiques.

Impuretés :**Carbone (Fig. II.1.11a.) :**

Les profils de concentration sont semblables à ceux déjà observés pour cet élément et indiquent que le carbone provient d'une contamination qui est rapidement éliminée par décapage.

**Sodium (Fig. II.1.11b.) :**

Au coeur du Vision Déco, la concentration de Na est forte mais elle diminue rapidement avec  $d(\text{Å})$  et semble tendre vers une valeur voisine de 2 pour le rapport  $100 \text{ nNa/nSi}$ . Cette valeur est proche de celle que nous trouvons pour le Vision ( $100 \text{ nNa/nSi} = 2,2$ ), ce qui était prévisible puisque le Vision Déco qui est obtenu par recuit du Vision ne peut différer notablement du Vision, d'un point de vue composition, qu'au niveau de la surface et des couches peu profondes.

En surface du Vision Déco, la concentration est homogène mais plus faible qu'au coeur et que dans le Vision. Le recuit a donc semble t-il appauvri en Na la surface de la vitrocéramique.

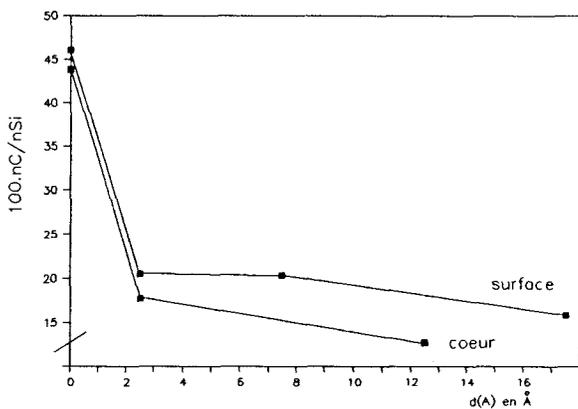


Figure II.1.11a. : Profils de concentration de C au coeur et en surface du Vision Déco (analyses XPS).

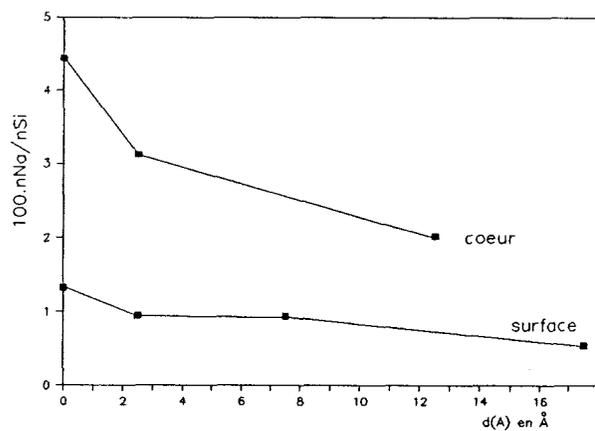


Figure II.1.11b. : Profils de concentration de Na au coeur et en surface du Vision Déco (analyses XPS).

**Potassium :**

Le signal obtenu pour cet élément est très faible et il ne peut être correctement distingué du bruit de fond que lors de l'analyse de surface avant et après

un premier décapage de 30 s. Les valeurs  $100 \text{ nCa/nSi}$  sont alors respectivement de 0,11 et 0,07.

La concentration de K dans le Vision Déco est donc très faible et là encore est limitée aux couches superficielles du matériau. Pour le Vision nous avons observé un phénomène analogue, mais dans ce cas, la concentration superficielle était plus importante ( $100 \text{ nK/nSi} \approx 2-3$ ) et plus étendue (K détecté pour  $d(\text{Å}) = 17,5$  Å). Cette évolution de la concentration semblerait donc indiquer qu'il y a eu migration vers la surface du matériau et élimination lors du recuit du Vision.

**Calcium (Fig. II.1.11c.) :**

Ca est réparti assez régulièrement, mais il semble plus concentré en surface où en outre nous observons une légère surconcentration qui pourrait caractériser une migration des couches internes vers la surface. Pour le Vision, nous observons également ces phénomènes, mais pour des concentrations légèrement plus élevées. Il semblerait donc que les recuits provoquent une migration de Ca du coeur vers la surface et que d'autre part, il y ait élimination de Ca lors de la transformation du Vision en Vision Déco.

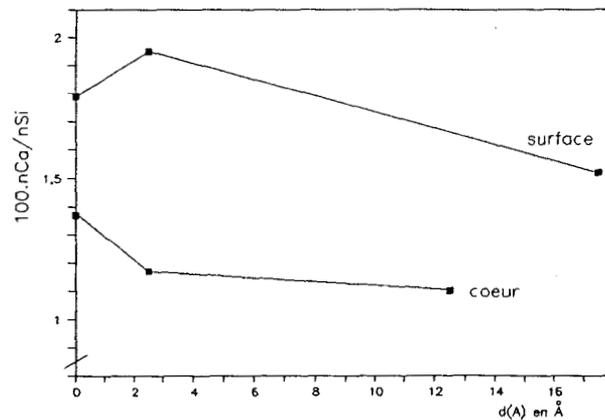


Figure II.1.11c. : Profils de concentration de Ca au coeur et en surface du Vision Déco (analyses XPS).

### Eléments du Vision Déco :

#### Aluminium (Fig. II.1.11d.) :

La concentration au coeur est homogène et égale à celle du Vision. En surface, elle est également homogène mais elle est beaucoup plus faible qu'au coeur ( $n_{Al_{surf}}/n_{Al_{coeur}} \approx 0,25$ ). Le recuit du Vision provoque donc un appauvrissement très important en surface, mais nous ne pouvons pas actuellement préciser si cela résulte d'une migration vers les couches internes ou vers les couches externes. Là encore, l'analyse en EDXA nous permettra peut être d'apporter plus de précisions.

#### Baryum (Fig. II.1.11e.) :

Comme pour Al, nous observons une concentration homogène de Ba au coeur du matériau qui en outre est proche de celle du Vision, alors qu'en surface Ba n'apparaît qu'avant décapage et à très faible concentration. Là encore il semble donc que le recuit du Vision en Vision Déco provoque des migrations au niveau des couches proches de la surface qui sont ainsi appauvries en Ba.

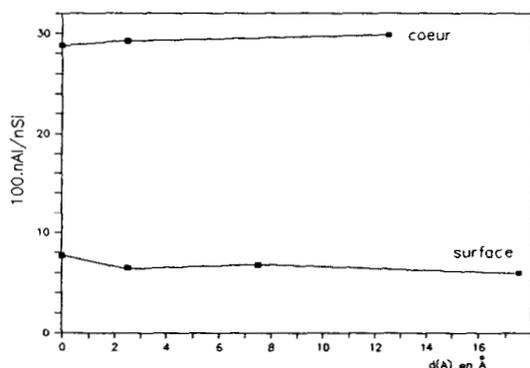


Figure II.1.11d. : Profils de concentration de Al au coeur et en surface du Vision Déco (analyses XPS).

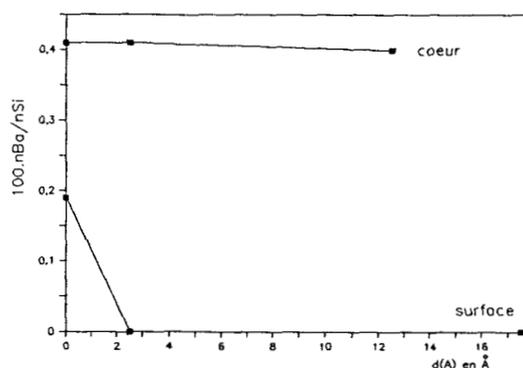


Figure II.1.11e. : Profils de concentration de Ba au coeur et en surface du Vision Déco (analyses XPS).

#### Zirconium (Fig. II.1.11f.) :

La concentration est homogène au coeur et en surface mais beaucoup plus faible au coeur. Il semblerait donc que Zr migre du coeur vers la surface. Ce phénomène est également observé pour le Vision mais y est apparemment moins marqué. Ceci confirmerait donc que le recuit provoque la migration de Zr. Néanmoins, ces résultats doivent être considérés avec beaucoup de précautions car comme nous l'avons dit précédemment, la mesure de  $I(Zr,3d)$  est difficile.

Magnésium (Fig. II.1.12.) :

Comme pour le Vision, nous constatons que la concentration est homogène au coeur et en surface.

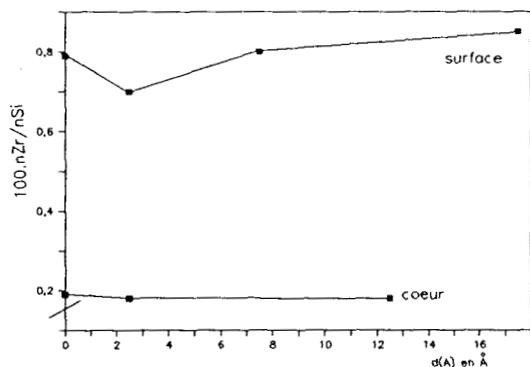


Figure II.1.11f. : Profils de concentration de Zr au coeur et en surface du Vision Déco (analyses XPS).

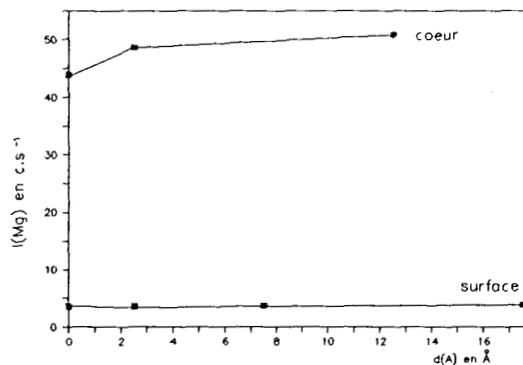


Figure II.1.12. : Evolution de l'intensité du signal XPS de Mg en fonction de l'épaisseur décapée en surface et au coeur du Vision Déco.

Les analyses XPS du Vision Déco font donc ressortir les points suivants :

- la composition au coeur est proche de celle du Vision en général (Ca et Zr sont légèrement moins concentrés dans le Vision Déco).
- la composition de surface diffère :
  - . de celle du coeur : il y a enrichissement en Ca et Zr (comme dans le Vision) et appauvrissement en Na, Al et Ba.
  - . de celle du Vision en surface : il y a un léger appauvrissement en Ca et Zr et un fort appauvrissement en Na, K, Al et Ba.

Les recuits sont probablement la cause de cette évolution de la composition mais pour préciser les mouvements de migration qui ont pris place, des analyses supplémentaires sont nécessaires et c'est pourquoi nous nous proposons d'étudier ces matériaux en microscopie électronique et microsonde X.

## C ANALYSES EN SEM ET EDXA

### I Méthodologie - Appareillage

#### 1 Principe de la microscopie électronique à balayage (SEM)

En SEM, les échantillons sont excités par un faisceau d'électrons incidents. Une partie de ces électrons est réfléchi (électrons rétrodiffusés), les autres pénétrant dans l'échantillon, ce qui provoque l'excitation des atomes.

Il en résulte une émission d'électrons secondaires qui sortent de l'échantillon après avoir subi de nombreuses interactions (chocs...). De ce fait, leur énergie cinétique est faible (0-50 eV) et n'est pas caractéristique de l'atome dont ils proviennent. Sur le schéma suivant (Fig. II.1.13.), nous illustrons le principe de la SEM.

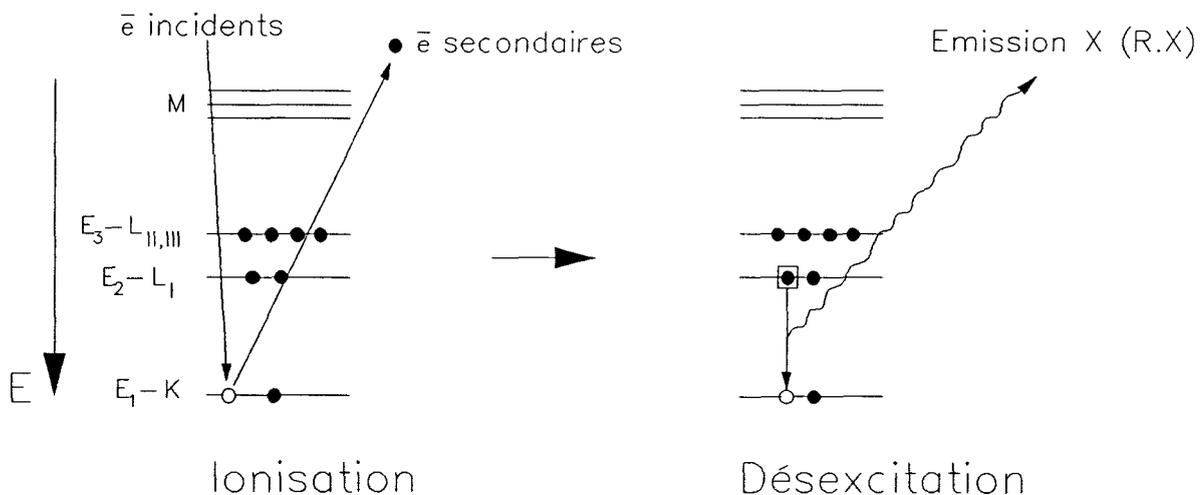


Figure II.1.13. : Principe d'émission des électrons secondaires et des rayons X en SEM-EDXA

Les électrons secondaires émis par l'échantillon sont ensuite collectés par un détecteur qui amplifie le signal et le transforme en signal vidéo.

Le nombre d'électrons secondaires émis localement dépend essentiellement de la topographie et de la composition de l'échantillon. Les hétérogénéités

provoquent ainsi des variations dans la quantité d'électrons secondaires émis, variations qui déterminent le contraste de l'image. C'est ce contraste qui permet d'obtenir une vue de l'échantillon.

Cette méthode de formation d'image est bien sûr peu adaptée aux matériaux qui conduisent mal l'électricité (verres...) car alors l'émission des électrons secondaires varie dans le temps. Il y a cycliquement accumulation d'électrons et émission brusque, phénomène assez proche du principe du condensateur. Il en résulte donc des variations artificielles du nombre d'électrons émis qui modifient l'image de l'échantillon. Pour résoudre ce problème, on recouvre habituellement les échantillons d'une couche mince et régulière d'un matériau conducteur qui le plus souvent est du carbone ou de l'or (88-89).

## 2 Principe de la microsonde X (EDXA) (93-96)

Cette technique est, expérimentalement, couplée à la microscopie électronique à balayage car elle utilise la même source excitatrice.

Après émission d'un électron secondaire (Fig. II.1.13.), l'atome ionisé est dans un état instable, et pour retrouver son état d'équilibre il peut soit émettre un électron Auger, soit émettre une radiation de photons X.

Le principe de la microsonde X consiste à détecter et analyser les photons X qui possèdent en outre une énergie caractéristique de l'atome. Cette énergie vaut :

$$E(RX) = E_1 - E_2 \quad (\text{II.1.7.})$$

Dans le cas schématisé précédemment (Fig. II.1.13.), nous avons :

$$E(RX) = E_K - E_{L1} \quad (\text{II.1.8.})$$

*Remarque* : l'atome ionisé peut aussi se désexciter en émettant un électron Auger suivant un schéma analogue à celui présenté figure II.1.2., à la seule différence qu'ici la source excitatrice est un faisceau d'électrons et non de photons.

### Intensité des raies :

Pratiquement, la détection et l'analyse des rayons X (RX) émis, permet de tracer un spectre qui représente l'intensité du rayonnement en fonction de l'énergie des RX. Ces spectres présentent des raies caractéristiques des différents éléments excités ce qui permet une analyse qualitative. Par contre, l'analyse quantitative est délicate car l'intensité des raies dépend de plusieurs facteurs qui sont difficiles à quantifier : initialement l'intensité  $I$  est fonction des probabilités de transitions entre niveaux d'énergie, mais du fait des interactions avec l'échantillon, il faut également faire intervenir le coefficient d'absorption massique du matériau qui dépend de la densité du matériau et de l'énergie  $E(\text{RX})$ . En outre  $I$  est fonction de l'angle d'inclinaison du détecteur,  $\theta_d$ , par rapport à la surface de l'échantillon (93-96).

Pratiquement, pour réaliser des analyses quantitatives, il faudrait effectuer un étalonnage interne avec différents matériaux standards de compositions connues, pour différentes valeurs de l'énergie excitatrice,  $E_i$ , et de l'angle d'inclinaison du détecteur. Pour une valeur donnée de  $E_i$  et de  $\theta_d$ , la concentration en un élément de numéro atomique  $Z$ ,  $n(Z)$ , s'exprime alors suivant la relation (II.1.9.) :

$$\frac{n(Z)}{n^{\circ}(Z)} = F_{\text{RX}}(\bar{Z}) \cdot \frac{I(Z)}{I^{\circ}(Z)} \quad (\text{II.1.9.})$$

$n(Z)$  = nombre d'atomes de numéro atomique  $Z$  pour l'échantillon analysé.

$n^{\circ}(Z)$  = nombre d'atomes de numéro atomique  $Z$  du matériau standard

$I(Z)$  = intensité du rayonnement X obtenue pour l'élément de numéro atomique  $Z$  pour l'échantillon analysé.

$I^{\circ}(Z)$  = intensité du rayonnement X obtenue pour l'élément de numéro atomique  $Z$  pour le matériau standard

$F_{\text{RX}}(\bar{Z})$  est une fonction correctrice qui fait intervenir 3 facteurs principaux :

- un facteur qui tient compte de l'absorption des rayons X par le matériau. Lorsque le matériau standard et l'échantillon analysé ont des structures

crystallines identiques, on peut considérer que ce facteur n'intervient pas dans le rapport  $n(Z)/n^{\circ}(Z)$  mais cela n'est pas toujours le cas. L'expression de ce facteur est très complexe et fait intervenir principalement l'énergie  $E_i$ , le coefficient d'absorption du matériau et l'angle  $\theta d$  (96).

- un facteur faisant intervenir le numéro atomique moyen de l'échantillon qui est donné par :

$$\bar{Z} = \sum_i C_i Z_i \quad (\text{II.1.10.})$$

Cette correction tient compte du phénomène de rétrodiffusion des électrons incidents qui varie avec la composition du matériau et qui ainsi dépend de  $\bar{Z}$ : lorsqu'un faisceau électronique pénètre dans un échantillon, une partie des électrons provoque l'ionisation des atomes mais une autre partie est rétrodiffusée par suite de chocs essentiellement élastiques. Ces électrons ne participent donc pas à l'émission de rayons X. Ainsi, on définit habituellement un rapport  $R_i$  qui tient compte de ce phénomène et qui dépend de l'atome considéré :

$$R_i = \frac{\text{(nombre total de photons effectivement générés)}}{\text{(nombre de photons qui seraient générés s'il n'y avait pas rétrodiffusion)}}$$

La rétrodiffusion faisant intervenir tous les atomes de l'échantillon, elle varie avec sa composition et donc avec  $\bar{Z}$ , et ainsi  $R_i$  pour l'échantillon analysé est différent de  $R_i$  pour le matériau standard. De plus,  $R_i$  faisant intervenir le nombre de photons émis, il influe directement sur la valeur de  $I(Z_i)$  qui de ce fait dépend de  $\bar{Z}$ .

- un facteur faisant intervenir le phénomène de fluorescence X parasite (96): l'émission d'un rayon X de forte énergie par un atome j peut, si l'énergie est suffisamment élevée, provoquer l'excitation d'un atome i de plus faible masse moléculaire et qui à son tour émet un rayon X. Ce phénomène de fluorescence X parasite a pour effet d'augmenter artificiellement l'intensité du rayonnement X de l'atome i par rapport à l'atome j et c'est pourquoi, il est nécessaire de faire intervenir un facteur correctif établi par REED (97).

L'estimation de  $F_{RX}(\bar{Z})$  étant très complexe, il est fréquent d'utiliser des échantillons standards dont la composition chimique et la structure cristalline sont proches de celles de l'échantillon analysé. Dans ces conditions, on peut en effet supposer que  $F_{RX}(\bar{Z})$  est égale à 1 pour tous les éléments.

### Profondeur d'analyse :

Comme l'intensité, la profondeur d'analyse dépend de plusieurs facteurs et notamment de l'énergie excitatrice  $E_i$ , du numéro atomique de l'atome considéré ( $Z_i$ ) et de sa masse molaire  $M_i$ , et de la densité du matériau ( $\rho$ ) (96). Pour exprimer la profondeur de pénétration, divers auteurs ont considéré les phénomènes de diffusions élastique et inélastique des électrons dans un matériau. KANAYA et OKAYAMA (98) ont ainsi abouti à l'expression suivante :

$$d_a = \frac{0,0276 \cdot M_i \cdot E_i^{1,67}}{\bar{Z}^{0,889} \cdot \rho} \quad (\text{II.1.11.})$$

$d_a$  est ici exprimé en micromètre,  $M_i$  en g.mol<sup>-1</sup>,  $E_i$  en keV,  $\rho$  en g.cm<sup>-3</sup> et  $\bar{Z}$  est le numéro atomique moyen de l'échantillon. Lorsque le détecteur est incliné d'un angle  $\theta_d$ , la valeur  $d_a$  est modifiée et vaut :

$$d_a(\theta_d) = d_a \cdot \cos \theta_d \quad (\text{II.1.12.})$$

Cette expression de  $d_a(\theta_d)$  s'est révélée correcte dans un grand nombre d'expériences (96) et donc nous l'utiliserons pour évaluer les distances d'analyses au cours de notre étude.

## 3 Appareillage

### a Microscope Electronique à balayage (99)

L'appareil que nous utilisons est un JEOL JSM-35CF. Nous présentons figure II.1.14., l'instrumentation qui permet la formation de l'image :

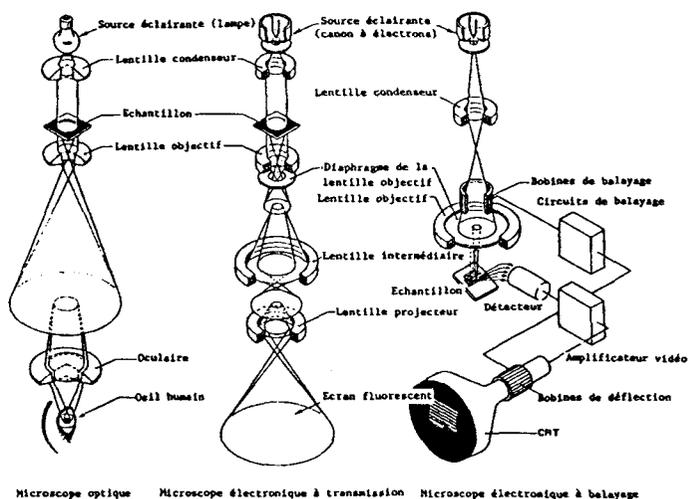


Figure II.1.14. : Principe de formation de l'image dans différents types de microscopés.

- Le canon à électrons est constitué d'un filament de tungstène qui, chauffé par un courant électrique, émet des électrons thermoioniques. Ces électrons soumis à un champ électrique sont ensuite accélérés et dirigés vers la lentille condenseur.
- Les lentilles condenseur et objectif sont des lentilles électroniques qui focalisent le faisceau électronique sur l'échantillon.
- le système de balayage est constitué d'un générateur de courant de balayage SWG qui alimente indépendamment deux paires de bobines de déflexion magnétique. En faisant varier le rapport d'intensité des courants appliqués aux deux paires de bobines et la polarité de ces courants, on déplace le point d'impact du faisceau d'électrons sur l'échantillon, ce qui permet d'effectuer un balayage.
- Le détecteur récupère ensuite les électrons secondaires émis par l'échantillon, puis les amplifie et les transforme en signal vidéo. Le détecteur, composé d'un scintillateur, d'un guide de lumière et d'un photomultiplicateur est synchronisé avec le balayage évoqué précédemment, ce qui permet d'obtenir une image de l'échantillon sur le CRT.
- L'appareil est équipé de deux écrans télévision à ultra haute résolution de type CRT (cathodic ray tube). L'un d'observation large et de longue rémanence pour l'observation et l'autre de faible rémanence pour l'enregistrement.

- Les échantillons sont placés dans la chambre d'échantillon sur une platine qui est animée de trois mouvements de translation, d'un mouvement de rotation et d'un mouvement d'inclinaison. Cette chambre est placée sous vide poussé ( $P < 10^{-4}$  Pa) à l'aide d'un système utilisant une pompe à palettes.

#### b Microsonde X :

La microsonde X couplée au microscope est une microsonde LINK LZ-5. Elle est composée des éléments habituels qui sont, un détecteur au silicium-lithium (94,100), un système amplificateur, un analyseur multivoie et un système informatique (101). Le détecteur est refroidi par un courant d'azote liquide et est incliné en permanence d'un angle de  $25^\circ$  ( $\theta_d = 25^\circ$ ). D'autre part, afin d'éviter la contamination du détecteur, celui-ci est protégé par une fine fenêtre d'aluminium ( $e = 1000 \text{ \AA}$ ) ce qui présente néanmoins le désavantage d'absorber une partie des photons X. Nous présentons dans le tableau II.1.2., les pourcentages de photons transmis pour différents éléments, lorsque l'on utilise cette fenêtre d'aluminium.

	B	C	N	O	F	Ne	Na	Mg	Al
Pourcentage de photons transmis	14%	53%	75%	87%	95%	96%	97%	99%	100%

Tableau II.1.2. : Pourcentage de photons transmis en E.D.X.A., pour différents éléments, en présence d'une fenêtre d'Al.

Pour les éléments de masse atomique supérieure à celle de Al, il n'y a pas adsorption de photons X.

Le système informatique dont est munie la microsonde offre de nombreuses possibilités. Les plus importantes sont :

- la visualisation en temps réel et en cours d'acquisition des spectres EDXA
- la cartographie d'éléments également en temps réel
- l'identification des raies

- la mesure de l'intensité des raies
- le stockage des résultats (spectres, cartographies...) sur disquettes et disque dur.

### c Métalliseur

Nous utilisons un métalliseur cathodique (Polaron PS 100) dans lequel l'échantillon est placé dans une enceinte sous vide ( $P < 10$  Pa). Il permet de métalliser les échantillons avec du carbone ou de l'or.

- Le dépôt de carbone est réalisé en appliquant un courant électrique ( $i = 60$  A) qui chauffe un filament de graphite. Ce chauffage provoque l'ionisation des atomes de carbone qui sont ensuite dirigés sur l'échantillon sous l'effet d'un champ électrique.

- Le dépôt d'or se fait de façon analogue mais en appliquant un courant plus faible ( $i \approx 20$  mA), à une plaquette d'or pendant un temps,  $t$ , donné. Il est ainsi possible de contrôler l'épaisseur,  $e$ , de la couche d'or qui est alors donnée par la relation :

$$e = 7,5 \cdot t \cdot i \quad (e \text{ en } \text{Å}, t \text{ en min}, i \text{ en mA}) \quad (\text{II.1.13.})$$

## 4 Préparation des échantillons

### a Nettoyage

Les échantillons analysés sont des disques de 13 mm de diamètre et de 2 mm d'épaisseur. Ils sont nettoyés suivant un nettoyage de type 5 (cf. ch. II - 2e partie.C.III.1) :

- trempage dans du RBS 35 à 4 % -  $T = 20^\circ\text{C}$  -  $t = 30$  min
- trempage dans eau bidistillée (eau MilliQ) -  $T = 20^\circ\text{C}$  -  $t = 60$  min
- séchage à l'étuve -  $T = 56^\circ\text{C}$  -  $t \geq 60$  min
- rinçage à l'éthanol -  $T \approx 78^\circ\text{C}$  -  $t \approx 90$  min
- séchage à l'étuve -  $T \approx 110^\circ\text{C}$  -  $t = 10$  min
- rinçage au cyclohexane -  $T \approx 80^\circ\text{C}$  -  $t = 30$  min

Après ce nettoyage, les échantillons collés sur le support sont placés dans une étuve à 60°C pendant 2 heures, afin de sécher la colle (colle glue conductrice), puis ils sont métallisés.

### b Métallisation

Au cours d'un essai préliminaire, nous avons déterminé le type de métallisation à réaliser. Pour cela, nous avons observé au microscope des échantillons circulaires de verre Pyrex et de vitrocéramique Vision (diamètre = 34 mm, e = 2 mm) métallisés selon le schéma suivant et dans les conditions de métallisation évoquées précédemment (ch. II, 1re partie.C.I.3.c).

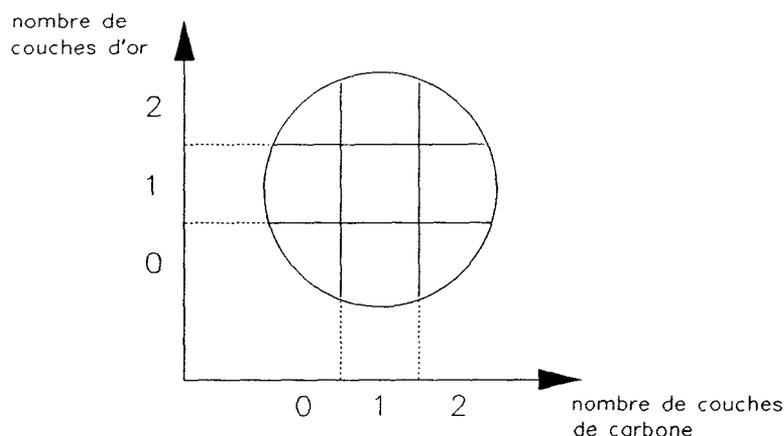


Figure II.1.15.: Représentation schématique des essais de métallisation.

Ces échantillons ont été préparés en déposant successivement deux couches de carbone et deux couches d'or et en protégeant dans chaque cas une partie de la surface des échantillons, à l'aide de lamelles de papier, afin d'obtenir ce quadrillage.

La visualisation des diverses zones montre que la métallisation par l'or est peu efficace alors que celle par le carbone est satisfaisante, si l'on se réfère aux problèmes de conduction électrique. D'autre part, la combinaison "Au + C" est à peu près équivalente à la seule métallisation par le carbone. Ainsi nous avons décidé de recouvrir les échantillons d'une seule couche de carbone. En outre, il faut préciser que la métallisation à l'or poserait des

problèmes lors des analyses en EDXA car Au donne un spectre qui masque une partie des raies attendues pour les éléments des verres et vitrocéramiques que nous étudions.

Après métallisation, les échantillons sont placés dans l'enceinte du microscope pendant 5 min environ jusqu'à ce qu'il n'y ait plus évaporation de molécules provenant des échantillons (eau, carbone...) et jusqu'à obtention d'une pression inférieure à  $10^{-4}$  Pa.

## II Partie expérimentale

### 1 Conditions analytiques et traitement des spectres EDXA

Afin de compléter les résultats obtenus par analyse XPS, nous étudions en EDXA des surfaces du verre Pyrex et des vitrocéramiques Vision et Vision Déco que nous observons également au microscope électronique.

- Les analyses sont réalisées à grossissement 100, à 5 valeurs d'énergies excitatrices :  $E_i = 2, 4, 8, 15$  et  $39$  keV. En utilisant la formule de KANAYA et OKAYAMA (II.1.11.), on peut calculer approximativement la profondeur d'analyse. Les matériaux que nous étudions ont une densité de l'ordre de  $2,5 \text{ g.cm}^{-3}$  et sont essentiellement composés de silice. Nous supposons donc que  $\bar{Z}$  est environ égal à  $\bar{Z}(\text{SiO}_2)$  soit 10. Les valeurs calculées pour  $\theta$  selon II.1.11. sont présentées tableau II.1.3., en prenant  $\theta$  égal à  $25^\circ$ .

- Pour chaque valeur de l'énergie excitatrice, les trois échantillons, placés sur un même support, sont analysés en trois points différents afin de vérifier la reproductibilité des résultats en fonction du point d'analyse. D'autre part pour s'assurer de la stabilité du signal dans le temps, les analyses sont effectuées alternativement sur Pyrex, Vision et Vision Déco. Cette vérification est nécessaire car on observe dans certain cas des modifications de composition chimique dues au faisceau électronique, ce qui se traduit par une instabilité temporelle des spectres (89). Enfin chaque analyse est effectuée pendant un temps de 100 s.

	Ei = 2 Kev	Ei = 4 Kev	Ei = 8 Kev	Ei = 15 Kev	Ei = 39 Kev
C	0,05	0,16	0,50	1,43	7,07
O	0,07	0,21	0,67	1,91	9,43
Na	0,09	0,30	0,96	2,75	13,55
Mg	0,10	0,32	1,02	2,90	14,32
Al	0,11	0,35	1,13	3,23	15,91
Si	0,12	0,37	1,17	3,35	16,50
K	0,16	0,51	1,64	4,67	23,04
Ti	0,20	0,63	2,00	5,72	28,23
Zn	0,27	0,86	2,74	7,81	38,54
Zr	0,38	1,20	3,81	10,90	53,75
Ba	0,57	1,80	5,74	16,41	80,93

Tableau II.1.3. : Profondeur d'analyse (da) en EDXA, en fonction de Ei, pour différents éléments.

- Traitement des spectres EDXA :

Pour chaque analyse, nous obtenons un spectre présentant des raies caractéristiques des différents éléments. La mesure de l'aire de ces raies (S(Y)) nous permet d'obtenir une valeur représentative de l'intensité du signal qui elle-même est reliée à la concentration de l'élément X qu'elle représente. Malheureusement, cette relation (II.1.9.) est très complexe et une étude quantitative nécessiterait d'avoir au préalable réalisé un grand nombre d'étalonnages. Ces références n'étant pas disponibles, nous ne pourrions pas effectuer d'analyse quantitative. D'autre part, il est également impossible d'établir des profils de concentration car pour faire varier la profondeur d'analyse, il faut modifier l'énergie excitatrice. Or l'intensité du signal dépend de Ei mais selon une loi que nous ne connaissons pas. Nous nous limiterons donc ici à une étude qualitative des spectres et à partir des valeurs mesurées de S(Y), à une étude comparative de composition entre les trois matériaux, pour une même valeur de Ei. Cette étude est possible car l'intensité du signal dépend de Ei, de Z et de  $\bar{Z}$ , de la densité du matériau, de  $\theta_a$  et de la concentration de X. Or,  $\theta_a$  est constant et les densités des trois matériaux ainsi que  $\bar{Z}$  sont voisins. (Pyrex :  $\rho = 2,256 \text{ cm}^{-3}$ , Vision :  $\rho = 2,56 \text{ cm}^{-3}$ , Vision Déco :  $\rho = 2,55 \text{ cm}^{-3}$ ). Ainsi pour un élément X et une valeur Ei donnés, seule la concentration C(X) varie entre les trois matériaux et

donc les variations de  $S(Y)$  entre les trois échantillons sont effectivement représentatives des variations de concentration.

Pratiquement les surfaces  $S(Y)$  sont calculées par l'ordinateur en ne considérant que la partie de la raie située entre  $I_{\max} - 60$  eV et  $I_{\max} + 60$  eV. D'autre part, à chaque valeur de  $S(Y)$ , nous soustrayons la valeur d'un bruit de fond ( $S(BF)$ ) mesurée à proximité de la raie caractéristique de l'élément X. Cette valeur est celle d'une surface de 12eV de largeur prise dans le bruit de fond du spectre. Elle n'est bien sûr qu'approximative car le bruit n'est jamais évalué au niveau de la raie. Ainsi, nous ne considérerons comme significatives que les valeurs de  $S(Y)$  qui sont au moins égales à  $0,1.S(BF)$ .

## 2 Visualisation des surfaces en SEM

L'observation des surfaces des trois matériaux (Pyrex, Vision et Vision Déco) réalisée à différents grossissements (surfaces observées allant de  $1 \mu\text{m}^2$  à  $25 \text{mm}^2$ ) ne fait pas apparaître d'hétérogénéités, ce qui indique que les surfaces sont relativement homogènes. Néanmoins, l'observation du Vision Déco à fort grossissement montre que cette surface est plus rugueuse que celles de Pyrex et Vision.

## 3 Résultats d'analyses EDXA

Les mesures de  $S(Y)$  pour les différentes valeurs de  $E_i$ , pour les trois matériaux et pour chaque élément, sont voisines pour les trois analyses réalisées dans chaque cas sur un même échantillon (temps et point d'analyse différents). Ceci nous permet de dire que le signal est stable dans le temps et que la composition des matériaux à une profondeur donnée est homogène.

Dans les tableaux II.1.4a.- 4e., nous présentons les valeurs de  $S(Y)$  et  $S(BF)$  obtenues en faisant la moyenne des trois analyses.

$E_i=2\text{keV}$	PYREX	VISION	VISION DECO	$S(BF)$
Carbone	5658	5309	5765	450
Oxygène	781	1007	988	450

Tableau II.1.4a. : Valeurs moyennes de  $S(Y)$  obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 2keV.

Ei=4keV	PYREX	VISION	VISION DECO	S(BF)
Carbone	4756	4459	4926	1440
Oxygène	20421	20238	19039	1440
Silicium	7424	6878	7391	400
Zircone	0	148	156	400
Aluminium	476	3519	2440	920
Magnésium	0	279	0	1440
Sodium	1574	173	4	1440

Tableau II.1.4b. : Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 4keV.

Ei=8keV	PYREX	VISION	VISION DECO	S(BF)
Carbone	1317	1124	1628	1620
Oxygène	33124	30507	28689	1620
Silicium	43600	36574	39584	1030
Zircone	0	683	679	1030
Aluminium	2784	16629	15299	1325
Magnésium	396	2641	1008	1620
Sodium	5366	1232	746	1620
Potassium	206	47	54	735
Titane	0	266	221	450
Baryum	0	211	151	450

Tableau II.1.4c. : Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 8keV.

Ei=15keV	PYREX	VISION	VISION DECO	S(BF)
Carbone	647	624	649	800
Oxygène	16924	14992	14758	800
Silicium	60618	47933	52350	975
Zircone	0	740	769	975
Aluminium	3590	20029	21016	890
Magnésium	692	3018	1898	800
Sodium	4192	1062	745	800
Potassium	590	172	204	830
Titane	0	1306	1308	710
Baryum	0	1089	1029	710
Zinc	0	121	79	185

Tableau II.1.4d. : Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 15keV.

Ei=39keV	PYREX	VISION	VISION DECO	S(BF)
Carbone	44	33	61	72
Oxygène	597	552	562	72
Silicium	6931	4238	4517	96
Zircone	0	29	31	96
Aluminium	297	1674	1701	84
Magnésium	36	158	125	72
Sodium	195	44	31	72
Potassium	154	59	56	125
Titane	0	579	590	160
Baryum	0	467	443	160
Zinc	0	193	120	102

Tableau II.1.4e. : Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 39 keV.

### III Discussion des résultats

Pour le verre Pyrex, les éléments suivants sont détectés : O, Si, Al et Na. B n'est pas détecté, alors que nous l'avions analysé en XPS, mais cela est dû à l'appareil qui ne permet de détecter que les éléments de masse atomique supérieure à 12.

Pour les deux vitrocéramiques, nous détectons : O, Si, Zr, Al, Mg, Na, K, Ti, Ba et Zn. Par rapport à l'analyse XPS, nous détectons en plus Ti et Zn, mais par contre Ca n'apparaît pas. Or celui-ci peut normalement être détecté en EDXA à partir de  $E_i = 8 \text{ keV}$ . Sa raie la plus intense doit alors se situer entre celle du potassium et celle du titane. L'absence de raie caractéristique de Ca, en EDXA, indique donc qu'il n'est pas présent dans les parties des matériaux que nous avons étudiées ou tout au moins que sa concentration est très faible, alors qu'en XPS, nous l'avions détecté jusqu'à une profondeur de  $100 \text{ \AA}$ , aussi bien en surface qu'au cœur des vitrocéramiques. Le calcium détecté en XPS pourrait donc provenir d'une contamination externe, limitée à la surface des échantillons, et due peut être au nettoyage par l'eau.

*Remarque* : Le carbone qui est détecté sur les trois matériaux provient essentiellement de la métallisation.

#### **Silicium :**

Pour toutes les profondeurs d'analyses, le signal de Si diminue en passant du Pyrex au Vision Déco puis au Vision. De plus, nous constatons que le signal de Si pour le Vision Déco diminue par rapport à celui du Pyrex et se rapproche de celui du Vision quand la profondeur d'analyse augmente. Les résultats indiquent donc que le Pyrex est plus concentré en Si que les deux vitrocéramiques et que la surface du Vision Déco comparée à celle du Vision est surconcentrée en Si alors que dans les couches plus profondes leur concentration sont équivalentes.

**Zircone :**

Zr est détecté à partir de  $E_i = 4\text{keV}$  et nous constatons que sa concentration est équivalente dans les deux vitrocéramiques à toutes les profondeurs d'analyses, ce qui est en accord avec les résultats d'analyses XPS.

**Aluminium :**

Al est détecté pour  $E_i \geq 4\text{keV}$ . Sa concentration dans le Pyrex est inférieure à celle dans les deux vitrocéramiques mais le rapport  $S(\text{Al})\text{-Pyrex}/S(\text{Al})\text{-Vision}$  augmente constamment avec  $d_a$ . Il passe de 0,13 pour  $E_i = 4\text{keV}$  à 0,18 pour  $E_i = 39\text{keV}$ , valeur qui correspond approximativement au rapport d'intensité obtenu en XPS pour les raies de l'aluminium entre le coeur du Pyrex et le coeur du Vision ( $I(\text{Al})\text{-Pyrex coeur}/I(\text{Al})\text{-Vision coeur} = 0,167$ ).

Sachant en outre que les résultats XPS indiquaient une répartition homogène de Al dans le Vision, on peut supposer que dans le Pyrex  $C(\text{Al})$  augmente régulièrement lorsque l'on pénètre dans les premières couches moléculaires du verre, et qu'elle atteint une valeur stable équivalente à  $C_b(\text{Al})$  à une profondeur de  $1\ \mu\text{m}$  environ. Ceci est en accord avec les résultats d'XPS puisque nous avons constaté que  $C(\text{Al})$  en surface était plus faible qu'au coeur.

$C(\text{Al})$  évolue également lorsque l'on pénètre dans le Vision Déco.  $S(\text{Al})\text{-Vision Déco}/S(\text{Al})\text{-Vision}$  passe de 0,7 pour  $E_i = 4\text{keV}$  à 1,02 pour  $E_i = 39\text{keV}$ . Ces valeurs confirment là encore les résultats obtenus en XPS qui indiquaient un appauvrissement en Al de la surface du Vision Déco par rapport à celle du Vision, alors qu'au coeur les concentrations étaient équivalentes. Néanmoins, l'analyse en EDXA apporte ici des informations supplémentaires : en effet à  $15\text{keV}$  et de façon moindre à  $39\text{keV}$ ,  $S(\text{Al})$  est plus importante pour le Vision Déco que pour le Vision ce qui semble indiquer que les couches situées entre  $3$  et  $15\ \mu\text{m}$  s'enrichissent en Al au dépend des couches superficielles, ceci pouvant s'expliquer par une migration de Al vers les couches internes peu profondes du Vision Déco.

**Magnésium :**

Il apparaît pour  $E_i \geq 8\text{keV}$ . Il semble qu'il y en ait quelques traces dans le Pyrex ( $S(\text{Mg}) \neq 0$  pour  $E_i \geq 15\text{keV}$ ) mais sur les spectres obtenus à  $8,15$  et  $39\text{keV}$  (Fig. II.1.16a. - annexe 1), la raie caractéristique de Mg ne ressort pas du bruit de fond. En fait, il est probable que la valeur de  $S(\text{BF})$  évaluée

pour la raie de Mg soit sous-estimée, car nous avons considéré le bruit de fond mesuré avant la raie de Na. Or à cet endroit, il n'y a pas de montée de la ligne de base, ce qui n'est pas le cas au niveau de la raie de Mg car cette dernière se situe entre deux autres raies (Na et Al).

Pour les vitrocéramiques, les spectres EDXA obtenus à 8,15 et 39 keV indiquent bien, par contre, la présence de Mg (Fig. II.1.16b.-16c. - annexe 1). Sa concentration à faible profondeur semble plus importante pour le Vision que pour le Vision Déco, différence qui s'atténue en pénétrant au coeur des matériaux. Cet écart n'apparaissait pas en XPS, ni au coeur, ni en surface. Il semble donc que les couches peu profondes du Vision Déco soient appauvries en Mg par rapport à celles du Vision et ceci pourrait être dû à une migration de Mg vers la surface suivie d'une élimination, car dans le Vision Déco, nous n'observons pas de surconcentration ni au coeur ni en surface.

#### Sodium :

Na est détecté dans le Pyrex dès l'analyse à 4 keV alors que dans les vitrocéramiques, il n'apparaît qu'à partir de 8 keV. D'autre part,  $S(\text{Na})$  est toujours supérieure dans le verre, ce qui corrobore les résultats d'XPS. La comparaison entre Vision et Vision Déco montre d'autre part que au moins jusqu'à une profondeur de 13  $\mu\text{m}$  ( $E_i = 39 \text{ keV}$ ), le Vision Déco est appauvri en sodium. Ceci confirme l'appauvrissement déjà observé en XPS, en surface du Vision Déco et indique de plus que la modification de composition porte sur une profondeur importante (supérieure à 13  $\mu\text{m}$ ).

#### Potassium :

Comme Na, K est beaucoup plus concentré dans le verre Pyrex que dans les vitrocéramiques et là encore, cela est en accord avec les résultats d'XPS. A 15 et 39 KeV le rapport  $S(\text{K})\text{-Pyrex}/S(\text{K})\text{-Vision}$  vaut respectivement 3,4 et 2,6 alors que  $S(\text{K})\text{-Pyrex}/S(\text{K})\text{-Vision Déco}$  vaut 2,9 et 2,75. Par ailleurs, nous constatons que  $C(\text{K})$  semble identique dans les deux vitrocéramiques et non nulle à partir d'une profondeur d'environ 5  $\mu\text{m}$  ( $E_i = 15 \text{ keV}$ ). Or en XPS, nous n'avions pas détecté cet élément au coeur de ces matériaux, ni à proximité de la surface du Vision Déco.

Il semblerait donc que K soit réparti uniquement dans les couches peu profondes

et que d'autre part, le recuit du Vision donnant le Vision Déco provoque la migration de K contenu dans les couches superficielles ( $d < 5 \mu\text{m}$ ) vers la surface où il serait éliminé.

**Titane :**

Cet élément est détecté dans les deux vitrocéramiques à des teneurs équivalentes. Les modifications de composition affectant généralement les couches peu profondes (cas de Al, Mg, Na et K) n'apparaissant pas ici, nous pouvons supposer que le recuit du Vision donnant le Vision Déco ne provoque pas la migration de Ti.

**Baryum :**

Nous observons Ba à partir de  $E_i = 8 \text{ keV}$ , (il n'est pas détectable à plus faible énergie), et seulement dans les vitrocéramiques, où sa concentration y est équivalente à partir de  $16 \mu\text{m}$ . Mais à plus faible profondeur, il semble que le Vision Déco en contienne moins que le Vision. En XPS, il apparaissait que les concentrations au coeur étaient identiques entre les deux matériaux alors qu'en surface, le Vision était plus concentré qu'au coeur et le Vision Déco ne contenait pratiquement pas de Ba. L'analyse EDXA confirme ces observations et nous permet en outre de supposer que lors du recuit du Vision donnant le Vision Déco, il y a eu migration de Ba contenu dans les couches superficielles ( $d < 16 \mu\text{m}$ ), vers la surface où il a été éliminé, puisque au delà de  $16 \mu\text{m}$   $C(\text{Ba})$  est identique pour les deux vitrocéramiques.

**Zinc :**

Zn est détecté à partir de  $E_i = 15 \text{ keV}$  et il semble moins concentré dans le Vision Déco que dans le Vision. Si l'on se rapporte aux observations faites sur la répartition de Al, Mg, Na, K et Ba, on peut supposer que là encore cet appauvrissement est dû à un phénomène analogue à celui ayant affecté ces éléments, à savoir une migration au niveau des couches peu profondes du matériau.

D SYNTHÈSE SUR LES COMPOSITIONS CHIMIQUES DU VERRE PYREX ET DES VITROCÉRAMIQUES VISION ET VISION DECO

Sur les figures II.1.17a-c., nous résumons schématiquement les résultats d'analyses XPS et EDXA, obtenus pour les différents éléments des matériaux étudiés, en indiquant en outre les mouvements de migration qui sont probablement intervenus lors du recuit de ces matériaux vitreux.

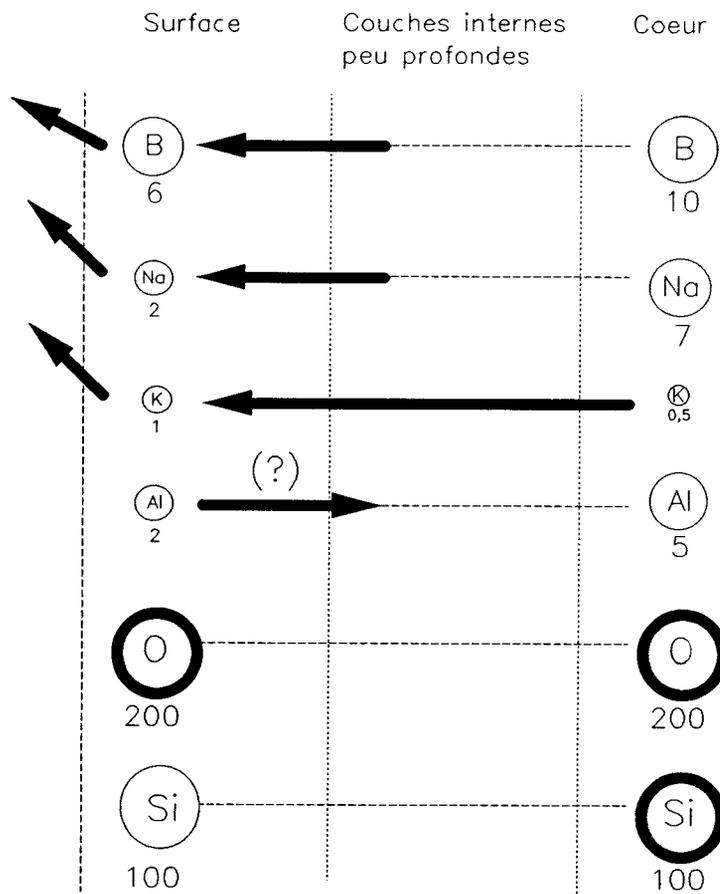


Figure II.1.17a. : Représentation schématique de la composition chimique du verre PYREX

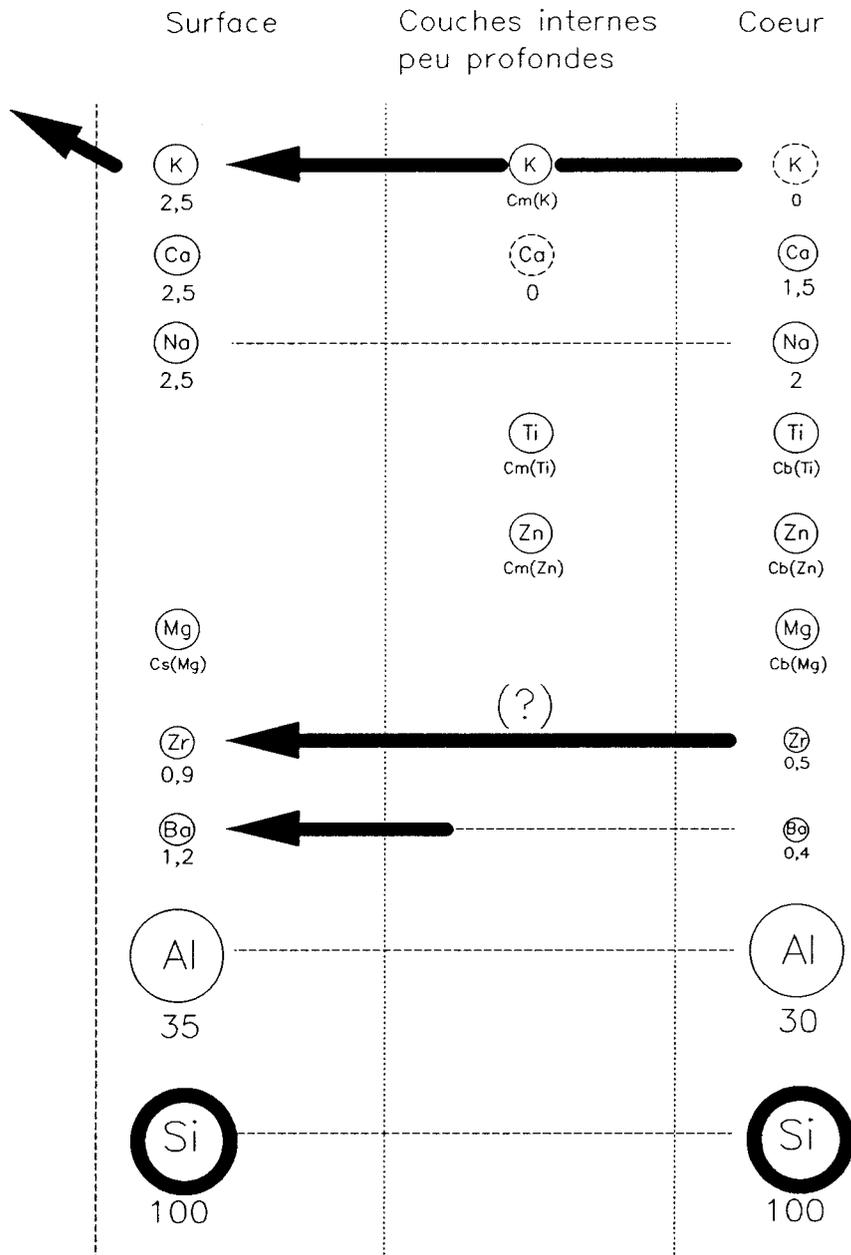


Figure II.1.17b. : Représentation schématique de la composition chimique de la vitrocéramique VISION

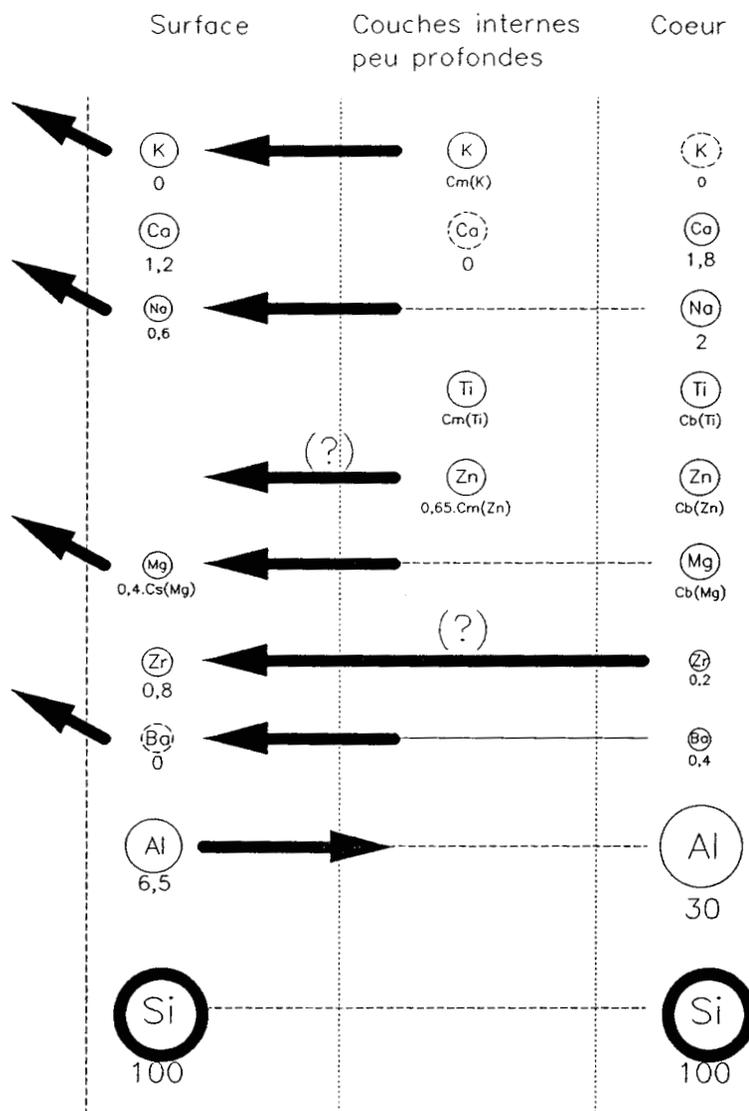


Figure II.1.17c. : Représentation schématique de la composition chimique de la vitrocéramique VISION DECO

Les éléments détectés sont figurés dans un cercle en dessous duquel nous indiquons la valeur du rapport  $100 n_Y/n_{Si}$  obtenue lors des analyses XPS. Lorsque ce rapport n'est pas connu (Mg, Zn et Ti) nous portons le terme Cs(Y), Cm(Y) ou Cb(Y) représentant la concentration de l'élément Y respectivement en surface, dans les couches internes peu profondes et au coeur du Vision. Pour le Vision Déco, nous indiquons les concentrations en ces mêmes éléments, en fonction de ces termes Cs(Y), Cm(Y) et Cb(Y). Il est ainsi possible de comparer les compositions de ces deux matériaux.

Les mouvements de migration sont schématisés par des flèches horizontales et les éliminations d'éléments en surface par des flèches dirigées vers le haut. Enfin, les traits pointillés horizontaux indiquent que  $C(Y)$  est constante. Ces schémas figurent les résultats observés en XPS et EDXA et que nous résumons ci-après :

#### PYREX :

Il est composé essentiellement de  $\text{SiO}_2$  et minoritairement de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  et  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

- Si est réparti de façon homogène.
- Na et B sont moins concentrés en surface qu'au coeur et cela jusqu'à une profondeur de 62 Å au moins. Nous pensons que cet appauvrissement résulte d'une migration des couches peu profondes vers la surface où ces deux éléments sont éliminés en partie.
- K : il est surconcentré en surface et sa concentration diminue au fur et à mesure que l'on pénètre dans le verre, ce qui suggère une migration du coeur vers la surface.
- Al : pour l'aluminium, nous observons un appauvrissement des couches superficielles (jusqu'à 25 Å au moins) qui s'affaiblit lorsque l'on pénètre dans les couches peu profondes et disparaît à environ 1 µm de profondeur.

#### VISION :

Cette vitrocéramique est composée essentiellement de  $\text{SiO}_2$  et  $\text{Al}_2\text{O}_3$  et minoritairement de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{BaO}$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{TiO}_2$  et  $\text{ZnO}$ .

En XPS, nous avons également détecté du calcium, mais ne l'ayant pas observé lors des analyses EDXA, nous pensons qu'il s'agit d'une impureté présente uniquement en surface des échantillons et due à une contamination externe.

La majorité des éléments de ce matériau y sont répartis de façon homogène. Seul K, Ba et éventuellement Zr se répartissent de façon hétérogène. Na est légèrement plus concentré en surface mais la variation n'est pas importante et on peut considérer que  $C(\text{Na})$  est constante.

- K est uniquement observé dans les couches peu profondes du matériau (de 0 à 23 µm au moins mais pas au coeur) et il semble légèrement surconcentré à proximité de la surface. Nous pensons donc que cet élément migre totalement en surface du matériau.

- Ba est surconcentré en surface ce qui résulte probablement d'une migration à partir des couches peu profondes vers l'extérieur.
- Zr : l'étude XPS de Zr semble indiquer une surconcentration de celui-ci en surface de la vitrocéramique, ce qui pourrait être dû à une migration à partir du coeur. Néanmoins, ces résultats doivent être considérés avec précaution car l'étude quantitative est très délicate dans le cas du Zirconium.

#### VISION DECO :

Qualitativement, le Vision Déco a la même composition chimique que le Vision, mais il présente un plus grand nombre d'hétérogénéités de composition.

D'autre part, comme dans le Vision, nous n'observons Ca que par analyse XPS, ce qui suggère que là encore, il s'agit d'une impureté d'origine externe, présente uniquement en surface des échantillons étudiés.

- Na : par rapport au Vision, Na est appauvri au niveau des couches peu profondes (de 0 à 14  $\mu\text{m}$  au moins), alors qu'au coeur les concentrations sont équivalentes. Nous pensons donc qu'il y a eu migration des couches peu profondes vers la surface et élimination en surface, lors du recuit fournissant le Vision Déco.

- K n'est pas détecté au coeur du matériau et dans les couches voisines de la surface (de 0 à 4  $\mu\text{m}$  environ), ce qui suggère une migration, presque totale, du potassium contenu dans cette région (0-4  $\mu\text{m}$ ), vers la surface où il a été éliminé.

- Ba : Ba est réparti de façon homogène à partir d'une profondeur de 16  $\mu\text{m}$  environ et sa concentration est alors équivalente à celle du Vision. Par contre, dans les couches peu profondes, il y a appauvrissement de la concentration surtout à très faible profondeur (de 0 à 100 Å,  $C(\text{Ba}) \approx 0$ ). Comme K, nous pensons donc que le baryum contenu dans les couches peu profondes a migré en totalité vers la surface où il a été éliminé.

- Mg : les couches peu profondes sont appauvries en magnésium mais cet appauvrissement s'atténue lorsque l'on pénètre dans le matériau (à 14  $\mu\text{m}$  de profondeur,  $C_m(\text{Mg}) - \text{Vision Déco} \approx C_m(\text{Mg}) - \text{Vision}$ ), ce qui là encore suggère une migration des couches peu profondes vers la surface où l'élément est éliminé.

- Zn : l'analyse en EDXA de Zn indique que dans les couches peu profondes (de 8 à 39  $\mu\text{m}$ ),  $C(\text{Zn})$  est plus faible que dans le Vision et que cet écart semble

diminuer en pénétrant dans le matériau. Nous ne disposons pas d'autres informations mais il semblerait donc que là aussi les couches peu profondes soient appauvries en Zn du fait peut être d'une migration vers la surface.

- Zr : Zr semble surconcentré en surface et ce phénomène est encore plus marqué que dans le Vision. Surtout sa concentration au coeur est plus faible que dans le Vision ce qui pourrait indiquer une migration du coeur vers la surface.

- Al : par rapport au Vision, nous observons un appauvrissement en Al à proximité de la surface (de 0 à 1  $\mu\text{m}$  de profondeur) puis un léger enrichissement (entre 3 et 16  $\mu\text{m}$ ) alors qu'au coeur les concentrations sont équivalentes. Il semblerait donc qu'il y ait eu migration à partir des couches superficielles (0-1  $\mu\text{m}$ ) vers les couches peu profondes du matériau.

De cette synthèse, il ressort essentiellement :

- que la surface du verre Pyrex se distingue de celle du Vision et du Vision Déco par sa plus forte concentration en  $\text{SiO}_2$  et par la présence de  $\text{B}_2\text{O}_3$ .

- que le Vision qui ne présente pas d'hétérogénéités notables est composé surtout de  $\text{SiO}_2$  et  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

- que la transformation du Vision en Vision Déco provoque l'appauvrissement des couches superficielles en Na, K, Ba, Mg, probablement Zn et surtout Al. La surface du Vision Déco est ainsi beaucoup moins concentrée en  $\text{Al}_2\text{O}_3$  que celle du Vision, ce qui est compensé par un enrichissement en  $\text{SiO}_2$ .

CHAPITRE II  
- 2<sup>eme</sup> PARTIE -

-----

DETERMINATION DE L'ENERGIE  
SUPERFICIELLE DES SUBSTRATS

## Table des matières

A THEORIE DE L'ADSORPTION THERMODYNAMIQUE .....	76
I Forces intermoléculaires .....	76
II Potentiel d'interaction global entre deux molécules .....	78
III Energie libre d'adhésion entre deux corps .....	79
IV Energie de surface .....	79
1 Composantes polaires et dispersives des énergies de surface .....	81
2 Modèle de FOWKES .....	82
3 Choix du modèle .....	83
B METHODES EXPERIMENTALES DE MESURE DES ENERGIES DE SURFACE .....	83
I Mesure d'énergie de surface des liquides .....	84
II Mesure d'énergie de surface des solides .....	85
1 Technique de la goutte posée - principe .....	85
2 Modèle de YOUNG .....	86
3 Détermination de l'énergie de surface d'un solide par mesure d'angles de contact en phase vapeur ( $M = V$ ) .....	87
a Approche de ZISMAN (106) .....	87
b Approche de NEUMANN et WARD par l'équation d'état (107) .....	87
c Approche par le modèle de FOWKES .....	88
d Validité des méthodes de mesure en phase vapeur .....	90
4 Détermination de l'énergie de surface d'un solide par mesures d'angles de contact en phase liquide ( $M = L_2$ ) .....	90
a Application du modèle de FOWKES à la détermination de $\gamma_s$ en milieu liquide. ....	90
b Principe expérimental de détermination de $\gamma_s^d$ et de $I_{s,l}^p$ .....	92
c Discussion de cette méthode .....	92
C APPLICATION : DETERMINATION DES ENERGIES DE SURFACE DU VERRE PYREX ET DES VITROCERAMIQUES VISION ET VISION DECO .....	93
I Mesure des énergies de surface des liquides .....	93
1 Procédé expérimental .....	93
a Réglage de l'appareil .....	93
b Mesure d'énergie superficielle d'un liquide .....	94
2 Résultats .....	94
II Technique de mesure des angles de contact .....	95
1 Appareillage .....	95
2 Mesures d'angles .....	96
III Détermination des énergies de surface de Pyrex, Vision et Vision Déco .....	98
1 Conditionnement des échantillons .....	98
a Nettoyages éthanol et alcane .....	99
b Nettoyage RBS, eau bidistillée, éthanol et alcane .....	100
2 Résultats .....	101
a Vérification du critère de mouillabilité .....	101
b Discussion des résultats .....	105

## DETERMINATION DE L'ENERGIE SUPERFICIELLE DES SUBSTRATS

Dans le cadre de la théorie de l'adsorption thermodynamique, l'énergie superficielle des substrats est l'un des paramètres majeurs. En effet, suivant cette théorie, les phénomènes d'adhésion entre deux corps sont régis par les forces intermoléculaires présentes à leur interface commune et dans le cas de l'adhésion sur un solide, l'énergie de ces forces intermoléculaires est fonction notamment de l'énergie superficielle de ce solide.

Après avoir présenté la théorie de l'adsorption thermodynamique, nous aborderons la détermination expérimentale de l'énergie superficielle d'un solide et plus spécifiquement celle d'un verre ou d'une vitrocéramique. Puis, nous discuterons les résultats obtenus.

### A THEORIE DE L'ADSORPTION THERMODYNAMIQUE

Cette théorie considère que l'adsorption entre deux corps est gouvernée par des forces intermoléculaires de type électrostatique. L'expression de ces forces dépend de la nature des molécules considérées : ions, molécules possédant un moment dipolaire permanent... Nous les présentons succinctement ci-dessous. Elles sont décrites avec plus de détail par ailleurs (48).

#### I Forces intermoléculaires

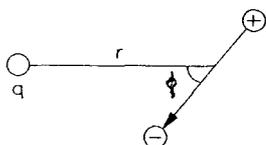
. Interactions ion-ion :

Si l'on considère deux ions de charge respective  $q_1$  et  $q_2$ , le potentiel d'interaction entre ces deux ions est donné par la relation :

$$u(r) = \frac{q_1 q_2}{r} \quad (\text{II.2.1.})$$

$r$  = distance entre les deux ions.

. Ion-dipôle :



$$u(r) = \frac{-q\mu \cos \phi}{r^2} \quad (\text{II.2.2.})$$

$\mu$  = moment dipolaire

. Dipôle-dipôle :

L'expression de  $u(r)$  à un instant donné dépend de l'orientation des dipôles l'un par rapport à l'autre. Mais sous l'effet de l'agitation thermique, cette orientation varie et généralement, nous considérons la valeur moyenne proposée par KEESOM :

$$u(r) = \frac{-2\mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{3 \cdot r^6} \cdot \frac{1}{kT} \quad (\text{II.2.3.})$$

$\mu_1, \mu_2$  = moment dipolaire respectif des deux dipôles

$k$  = constante de Boltzmann

$T$  = température en degrés Kelvin

. Ion-dipôle induit :

Toutes les molécules ne possèdent pas un dipôle permanent mais sous l'effet d'un champ électrique  $\vec{E}$  dû à la présence d'un ion ou d'un dipôle, elles peuvent se polariser. Le moment dipolaire induit est alors de type :  $\vec{\mu} = \alpha \vec{E}$  ( $\alpha$  = polarisabilité de la molécule) et le potentiel d'interaction s'écrit :

$$u(r) = -\frac{\alpha}{2} \cdot \frac{q^2}{r^4} \quad (\text{II.2.4.})$$

. Dipôle-dipôle induit :

Là aussi, l'orientation du dipôle et du dipôle induit l'un par rapport à l'autre intervient et donc nous considérons ici la valeur moyenne exprimée par DEBYE :

$$u_D(r) = -\frac{\alpha_1 \cdot \mu_2^2 + \alpha_2 \cdot \mu_1^2}{r^6} \quad (\text{II.2.5.})$$

. Interactions dispersives :

Ces forces d'interactions proposées par LONDON sont différentes de celles évoquées précédemment : elles ne sont pas dues à la présence d'ions, de dipôles permanents ou de dipôles induits, mais à l'existence de dipôles instantanés. Ceux-ci sont dus à l'instabilité de la configuration électronique de l'atome ou de la molécule considérée, instabilité qui résulte du mouvement perpétuel des électrons.

Ainsi, et même si la valeur moyenne dans le temps de ces dipôles instantanés est nulle, il existe à chaque instant un dipôle capable d'induire un autre dipôle dans les molécules voisines. Il en résulte un terme d'interaction moyen que LONDON a exprimé par :

$$u(r) = -\frac{3}{2} \cdot \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{r^6} \cdot \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \quad (\text{II.2.6.})$$

$I_1, I_2$  = potentiel d'ionisation des molécules 1 et 2 respectivement.

. Interactions donneur-accepteur :

Sous ce terme sont regroupées les interactions de type acide-base et les liaisons hydrogènes. Ce sont des interactions partiellement polaires qui apparaissent entre un atome fortement électronégatif et un atome déficitaire en électrons, tel que l'hydrogène dans beaucoup de molécules.

. Forces de répulsions:

Jusqu'alors, nous n'avons considéré que des forces d'attraction mais il existe aussi des forces répulsives, la somme de toutes ces forces expliquant l'existence de distances d'équilibre entre atomes et molécules. Le potentiel lié à ces forces de répulsion est du type :

$$u(r) = A/r^n \quad (10 < n < 16), \quad A = \text{constante de répulsion } (A > 0).$$

## II Potentiel d'interaction global entre deux molécules

Ce potentiel est la somme des termes énoncés précédemment pour les cas de figures incluant deux molécules. Il s'écrit donc :

$$u(r) = -\frac{2}{3} \cdot \frac{\mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{r^6} \cdot \frac{1}{kT} - \frac{\alpha_1 \cdot \mu_2^2 + \alpha_2 \cdot \mu_1^2}{r^6} - \frac{3}{2} \cdot \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2 \cdot I_1 \cdot I_2}{r^6 \cdot (I_1 + I_2)} + \frac{A}{r^n}$$

(II.2.7.)

$$\Rightarrow u(r) = -\left( \frac{2}{3} \cdot \frac{\mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{kT} + \alpha_1 \cdot \mu_2^2 + \alpha_2 \cdot \mu_1^2 + \frac{3}{2} \cdot \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2 \cdot I_1 \cdot I_2}{(I_1 + I_2)} \right) \cdot \frac{1}{r^6} + \frac{A}{r^n}$$

### III Energie libre d'adhésion entre deux corps

Ce terme noté  $\Delta F_{a1,2}$  permet de caractériser thermodynamiquement l'adhésion entre deux corps 1 et 2. Il correspond à l'inverse du travail qu'il faut fournir pour séparer ces deux corps. Dans le cas où n'interviennent que des forces intermoléculaires,  $\Delta F_{a1,2}$  est calculé par intégration à partir de  $u(r)$ , donné par (II.2.7.) (48), sachant qu'en outre la force globale d'interaction est nulle lorsque les corps 1 et 2 se trouvent à leur distance d'équilibre ( $r = d_{1,2}$ ). En prenant  $n = 12$  dans (II.2.7.), nous obtenons l'expression suivante :

$$\Delta F_{a1,2} = \frac{-\Pi \cdot n_1 \cdot n_2}{16 \cdot d_{1,2}^2} \cdot \left( \frac{3}{2} \cdot \frac{I_1 \cdot I_2}{(I_1 + I_2)} \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2 + \alpha_1 \cdot \mu_2^2 + \alpha_2 \cdot \mu_1^2 + \frac{2 \cdot \mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{3 \cdot kT} \right)$$

$$= \frac{-\Pi \cdot n_1 \cdot n_2}{16 \cdot d_{1,2}^2} \cdot (B_{1,2}^d + B_{1,2}^{pi} + B_{1,2}^{pp})$$

(II.2.8.)

avec  $n_i$  = densité moléculaire du corps  $i$ .

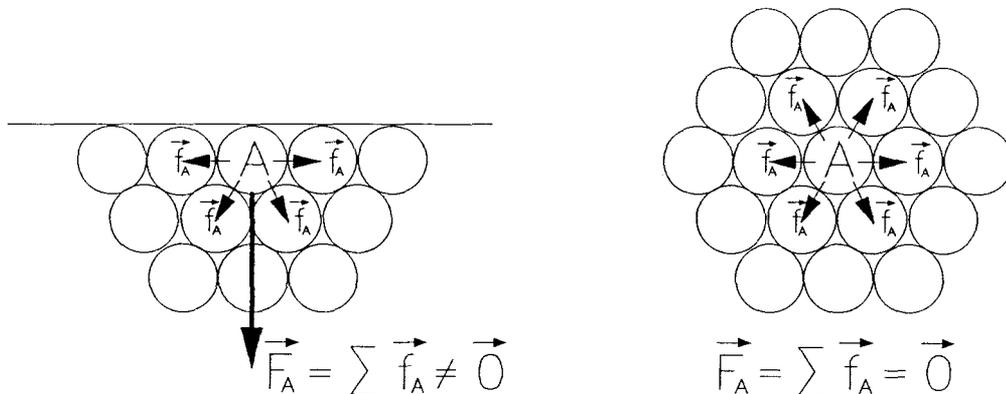
*Remarque :* Cette expression de  $\Delta F_{a1,2}$  peut se ramener à celle de  $\Delta F_{c,i}$ , énergie de cohésion d'un corps  $i$ , en remplaçant les indices 1 et 2 par  $i$ .

Les valeurs de  $\Delta F_{a1,2}$ , nécessaires pour caractériser l'adhésion dans le cadre de la théorie thermodynamique, sont difficilement mesurables directement. Par contre elles peuvent l'être indirectement, comme nous allons le montrer dans le paragraphe suivant, si l'on fait intervenir le concept des énergies de surface.

### IV Energie de surface

Ce terme correspond à l'énergie qu'il faut fournir pour augmenter d'une unité de surface l'aire d'un corps. Son existence est due à la présence d'une

force d'interaction qui s'exerce sur les molécules situées en surface. En effet, alors qu'à l'intérieur la résultante des forces exercées sur une molécule par ses voisines est nulle, en surface elle est non nulle, même à l'équilibre, et est dirigée vers l'intérieur:



Schématisation des forces exercées sur un atome A de surface

Schématisation des forces exercées sur un atome A du coeur

Thermodynamiquement, l'énergie de surface, notée  $\gamma$ , s'exprime par la relation suivante :

$$\gamma_i = \frac{1}{2} \cdot \left( \frac{\partial W_{c,i}}{\partial s} \right)_{T,P,n_i} = \frac{-\Delta F_{c,i}}{2} \quad (\text{II.2.9.})$$

$W_{c,i}$  = travail de cohésion du corps i.

Par extension, on détermine aussi une énergie interfaciale notée  $\gamma_{i,j}$  qui correspond au travail à exercer pour réunir sur une unité de surface deux corps i et j alors que disparaissent une unité de surface du corps i et une unité de surface du corps j.

$$\gamma_{i,j} = \left( \frac{\partial W_{ai,j}}{\partial s} \right)_{T,P,n_i,n_j} \quad (\text{II.2.10.})$$

$W_{ai,j}$  = travail d'adhésion des corps i et j.

Ramené à une unité de surface, ce travail peut aussi s'écrire :

$$W_{ai,j} = \Delta F_{ai,j} - \frac{\Delta F_{c,i}}{2} - \frac{\Delta F_{c,j}}{2}$$

$$\text{d'où } \gamma_{i,j} = \Delta F_{ai,j} - \frac{\Delta F_{c,i}}{2} - \frac{\Delta F_{c,j}}{2}$$

$$\text{et } \gamma_{i,j} = \Delta F_{ai,j} + \gamma_i + \gamma_j \quad (\text{II.2.11.})$$

$\gamma_i$  et  $\gamma_j$  étant des valeurs toujours positives, nous constatons d'après (II.2.11.) que  $\gamma_{i,j}$  caractérise comme  $\Delta F_{ai,j}$  l'adhésion d'un point de vue thermodynamique. Malheureusement, la mesure directe de  $\gamma_{i,j}$  est souvent difficile. En effet, sauf dans le cas où  $i$  et  $j$  sont deux liquides, il n'existe pas de techniques permettant de mesurer directement  $\gamma_{i,j}$ .

C'est pourquoi, divers modèles ont été proposés qui expriment en général  $\gamma_{i,j}$  en fonction de  $\gamma_i$  et  $\gamma_j$  et de leurs composantes polaires et dispersives ( $(\gamma_i^d, \gamma_i^p)(\gamma_j^d, \gamma_j^p)$ ).

### 1 Composantes polaires et dispersives des énergies de surface

La relation (II.2.8.) comprend trois termes correspondant à trois types de forces intermoléculaires.

$$B_{12}^d = \frac{3}{2} \cdot \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2 \quad \text{correspond aux forces dispersives (LONDON)}$$

$$B_{12}^{pi} = \alpha_1 \cdot \mu_2^2 + \alpha_2 \cdot \mu_1^2 \quad \text{correspond aux forces polaires de type DEBYE.}$$

$$B_{12}^{pp} = \frac{2 \cdot \mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{3 \cdot kT} \quad \text{correspond aux forces polaires de type KEESOM.}$$

Les deux termes  $B_{12}^{pi}$  et  $B_{12}^{pp}$  sont généralement regroupés en un seul terme  $B_{12}^p$  correspondant aux interactions polaires. Par extension à l'énergie libre, on écrit alors :

$$\Delta F_{a1,2} = \Delta F_{a1,2}^d + \Delta F_{a1,2}^p$$

$$\text{d'où}$$

$$\gamma_{1,2} = \gamma_1 + \gamma_2 + \Delta F_{a1,2}^d + \Delta F_{a1,2}^p \quad (\text{II.2.12.})$$

Cette distinction de  $\Delta F_{a1,2}$  en deux composantes, dispersive et polaire, s'applique aussi à  $\Delta F_{c,i}$  et donc à  $\gamma_i$  car  $\Delta F_{c,i}$  est égal à  $-2\gamma_i$ .

$$\gamma_i^d = -\frac{1}{2} \cdot \Delta F_{c,i}^d \quad (\text{II.2.13.})$$

$$\gamma_i^p = -\frac{1}{2} \cdot \Delta F_{c,i}^p \quad (\text{II.2.14.})$$

## 2 Modèle de FOWKES

FOWKES (102) introduit les approximations suivantes

$$\frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} = \frac{\sqrt{I_1 \cdot I_2}}{2} \quad (\text{II.2.15.})$$

$$d_{1,2} = \sqrt{d_1 \cdot d_2} \quad \text{avec } d_1 \approx d_2 \quad (\text{II.2.16.})$$

Le terme  $\Delta F_{a1,2}^d$  s'écrit alors :

$$-\frac{\Pi \cdot n_1 \cdot n_2}{16 \cdot d_1 \cdot d_2} \cdot \frac{3}{4} \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2 \cdot \sqrt{I_1 \cdot I_2} = -\sqrt{\Delta F_{c,1}^d \cdot \Delta F_{c,2}^d}$$

soit

$$\Delta F_{a1,2}^d = -2\sqrt{\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d} \quad (\text{II.2.17.})$$

En reportant dans (II.2.12.), nous obtenons :

$$\gamma_{1,2} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2\sqrt{\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d} + \Delta F_{a1,2}^p \quad (\text{II.2.18.})$$

Dans ce modèle, le terme polaire que nous noterons désormais  $-I_{1,2}^p$ , n'est pas exprimé en fonction de  $(\gamma_1^p, \gamma_2^p)$  car cela suppose certaines hypothèses qui ne sont pas vérifiées pour tous les corps, alors que les hypothèses (II.2.15.) et (II.2.16.) sont généralement fondées.

Citons néanmoins deux modèles qui ont décrit le terme polaire :

Modèle de OWENS et WENDT (103) :

Ce modèle suppose qu'au niveau des interactions polaires, il y a prédominance des interactions dipôle-dipôle. Dans ce cas,  $I_{1,2}^p$  est la moyenne géométrique de  $\gamma_1^p$  et  $\gamma_2^p$ .

$$D'où : \quad \gamma_{1,2} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2(\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d)^{1/2} - 2(\gamma_1^p \cdot \gamma_2^p)^{1/2} \quad (\text{II.2.19.})$$

Modèle de WU (102) :

$$\gamma_{1,2} = \gamma_1 + \gamma_2 - 4 \cdot \frac{\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d}{\gamma_1^d + \gamma_2^d} - 4 \cdot \frac{\gamma_1^p \cdot \gamma_2^p}{\gamma_1^p + \gamma_2^p} \quad (\text{II.2.20.})$$

Ce modèle est correct si l'on a  $\gamma_1 \gg \gamma_2$ , c'est-à-dire lorsque l'on considère les interactions entre un corps de haute énergie et un de faible énergie.

### 3 Choix du modèle

Notre étude porte sur l'adhésion de molécules organiques et plus spécifiquement de protéines sur différents verres ou vitrocéramiques. Si l'on se rapporte à la théorie thermodynamique de l'adhésion, l'énergie de surface du substrat devrait intervenir dans l'expression de l'énergie libre d'adhésion.

C'est pourquoi nous voulons déterminer l'énergie de surface des verres. Pour de tels matériaux, le modèle de OWENS et WENDT semble peu raisonnable car il est improbable que les interactions avec les surfaces de verres soient essentiellement de type dipôle-dipôle. De même, le modèle de WU est limitatif au niveau des interactions polaires.

Nous utiliserons donc de préférence le modèle de FOWKES qui en plus nous permet d'intégrer les interactions de type donneur-accepteur dans le terme polaire. Avec ce modèle, nous avons donc :

$$\gamma_{1,2} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2(\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d)^{1/2} - I_{1,2}^p \quad (\text{II.2.21.})$$

et

$$-\Delta F_{a1,2} = 2(\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d)^{1/2} + I_{1,2}^p$$

## B METHODES EXPERIMENTALES DE MESURE DES ENERGIES DE SURFACE

Expérimentalement, il est possible de déterminer l'énergie de surface d'un liquide ou d'un solide dans un état donné (pression, température, état de surface, etc...) ce qui n'est pas le cas à notre connaissance pour une simple molécule telle qu'une protéine. Pour les liquides, des mesures directes sont possibles mais pour les solides, il est nécessaire d'utiliser des méthodes indirectes telles que les mesures d'isothermes d'adsorption ou de chaleur

d'adsorption ou encore des techniques de mouillabilité telle que celle de la goutte posée. Cette dernière technique est celle que nous utilisons pour notre étude.

### I Mesure d'énergie de surface des liquides

Plusieurs techniques existent pour effectuer ces mesures. Nous en avons répertoriées quelques unes dans le tableau II.2.1.

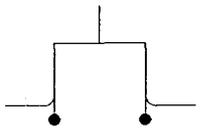
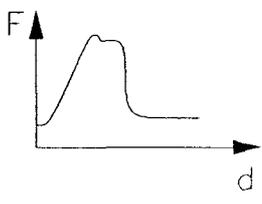
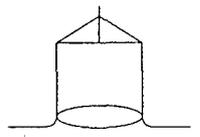
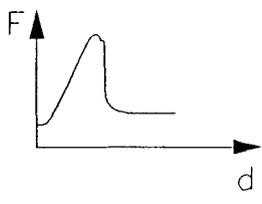
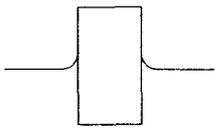
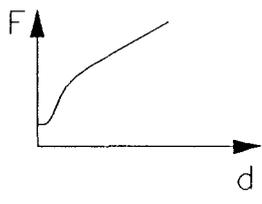
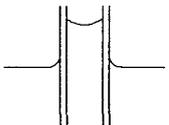
METHODE	MESURE DE $\gamma_L$
ETRIER 	 force d'arrachement
ANNEAU DE DU NOUY 	 force maximum
LAME DE WILHELMY 	 force exercée sur la lame
HAUTEUR CAPILLAIRE 	hauteur de niveau

Tableau II.2.1. : Techniques de mesure d'énergie de surface des liquides (104).

La méthode de l'étrier et celle de la lame de WILHELMY ont fait l'objet d'une étude critique ainsi que la méthode de l'anneau de DU NOUY (104). De ces études, nous avons retenu que :

- la méthode de l'étrier est relativement lourde à mettre en oeuvre et assez imprécise (écart de  $\gamma$  de  $1 \text{ mJ.m}^{-2}$  en général, par rapport aux valeurs publiées antérieurement).
- la méthode de l'anneau de DU NOUY est assez simple à mettre en oeuvre et précise mais nous ne disposons pas de l'appareil au laboratoire.
- la méthode de la lame de WILHELMY donne également selon Bellon-Fontaine (10<sup>4</sup>), des résultats corrects. Comme nous sommes équipés de l'appareil utilisé pour cette technique, nous l'avons choisie pour mesurer les énergies de surface des liquides.

Méthode de la lame de WILHELMY :

Le principe de base de cette technique est de mesurer la force verticale appliquée par la surface du liquide sur une lame. Pour cela, on utilise un tensiomètre Prolabo à équilibrage automatique (appareil PROLABO n° 03161 02-Licence Schlumberger) qui permet de mesurer la force exercée par le liquide sur une lame de platine que l'on émerge. En fait, l'appareil correctement étalonné, affiche directement l'énergie de surface.

## II Mesure d'énergie de surface des solides

### 1 Technique de la goutte posée - principe

Plusieurs techniques de mouillabilité existent. Nous avons choisi celle de la goutte posée pour plusieurs raisons :

- elle a été abondamment employée et dans divers cas de figures. Les problèmes et limitations posés par cette technique sont donc bien connus.
- elle est facile à mettre en oeuvre et nous disposons déjà du matériel de mesure.

Le principe de cette technique est illustré par le schéma suivant :

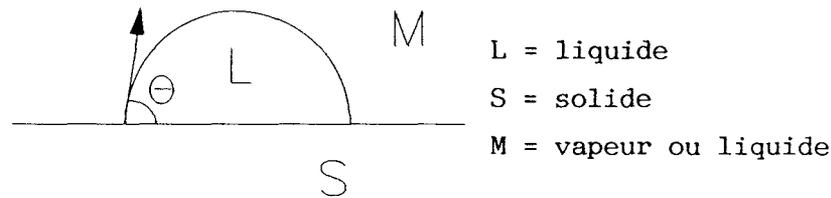


Figure II.2.1. : Schématisation du phénomène de mouillabilité

Le mouillage d'un solide S par une goutte d'un liquide L en présence d'une troisième phase M, se traduit par la formation d'une calotte sphérique caractérisée par  $\theta$ , angle de contact à l'équilibre et dont la valeur est déterminée par les énergies superficielles et interfaciales des trois phases L, M et S. Différents modèles ont été proposés pour relier ensemble ces termes (102,105) mais ils aboutissent tous à la même relation. Parmi ces modèles, nous avons choisi celui de YOUNG qui est l'un des plus couramment employés.

## 2 Modèle de YOUNG

Il est généralement décrit par le schéma suivant (Fig. II.2.2.).

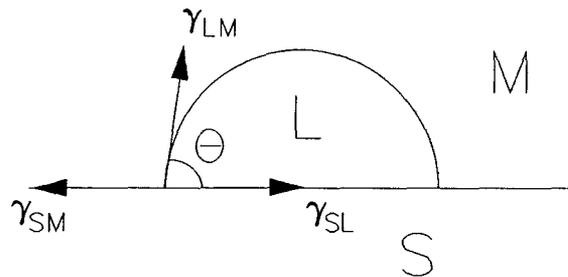


Figure II.2.2. : Schématisation du modèle de YOUNG

avec  $\gamma_{LM}$  = énergie interfaciale liquide-phase M

$\gamma_{SM}$  = énergie interfaciale solide-phase M

$\gamma_{SL}$  = énergie interfaciale solide-liquide

Le modèle de YOUNG est établi en écrivant d'un point de vue vectoriel la condition d'équilibre de la goutte dans le schéma de la figure II.2.2.

Cette condition est :

$$\gamma_{SM} = \gamma_{SL} + \gamma_{LM} \cdot \cos \theta \quad (\text{II.2.22.})$$

Cette relation combinée aux modèles présentés précédemment (II.2.18.-20.) permet, comme nous allons le montrer, de déterminer l'énergie de surface du solide S, soit en présence d'une phase vapeur ( $M = V$ ) soit en présence d'un liquide ( $M = L_2$ ).

### 3 Détermination de l'énergie de surface d'un solide par mesure d'angles de contact en phase vapeur ( $M = V$ )

Plusieurs approches sont ici possibles pour déterminer l'énergie de surface d'un solide. Ce qui distingue ces diverses approches est le modèle employé pour exprimer l'énergie interfaciale  $\gamma_{1,2}$ , en fonction des énergies de surface  $\gamma_1$  et  $\gamma_2$ .

#### a Approche de ZISMAN (106)

Par cette approche nous n'accédons pas directement à l'énergie de surface du solide  $\gamma_s$ , mais à une énergie de surface critique  $\gamma_c$ . Cette valeur est obtenue graphiquement en reportant les cosinus des angles de contact obtenus en utilisant différents liquides d'énergie de surface décroissante, en fonction de  $\gamma_{LV}$  ( $\gamma_{LV}$ , énergie interfaciale du liquide en présence de sa phase vapeur saturée est la valeur mesurée par tensiométrie). En extrapolant la courbe à  $\cos\theta = 1$  c'est-à-dire à  $\theta = 0^\circ$ , on obtient la valeur de  $\gamma_{LV}$  correspondant au mouillage parfait. Cette valeur est en fait  $\gamma_c$ .

Cette détermination graphique très simple à mettre en oeuvre est sujette à beaucoup de controverses pour plusieurs raisons. Entre autre choses,  $\gamma_c$  est une grandeur mal définie et la valeur obtenue dépend de la série de liquide utilisée.

#### b Approche de NEUMANN et WARD par l'équation d'état (107)

Dans cette approche, on introduit un nouveau terme énergétique, qui est la pression d'étalement :  $\pi_e$ . Ce terme est défini par la relation:

$$\pi_e = \gamma_s - \gamma_{sv} \quad (\text{II.2.23.})$$

Le modèle de NEUMANN suppose que lorsque la phase vapeur et le liquide sont des composés purs, il existe une équation d'état reliant  $\gamma_{SV}$ ,  $\gamma_{LV}$  et  $\gamma_{SL}$  soit :

$$\gamma_{SL} = f(\gamma_{SV}, \gamma_{LV}) \quad (\text{II.2.24.})$$

II.2.24. combinée à l'équation de YOUNG devient alors :

$$\gamma_{LV} \cdot \cos\theta = \gamma_{SV} - f(\gamma_{SV}, \gamma_{LV}) \quad (\text{II.2.25.})$$

NEUMANN fait ensuite l'hypothèse que quels que soient les liquides utilisés,  $\gamma_{SV}$  est constante et  $\pi_e$  est constante et négligeable. La relation II.2.25. s'écrit alors :

$$\gamma_{LV} \cos\theta = g(\gamma_{LV})$$

$\gamma_{SV}$  est alors obtenue au point d'intersection de la courbe  $\gamma_{LV} \cos\theta = g(\gamma_{LV})$  et de la droite  $\gamma_{LV} \cos\theta = \gamma_{LV}$ , la valeur de  $\gamma_{LV}$  correspondant à ce point étant  $\gamma_{SV}^*$ .

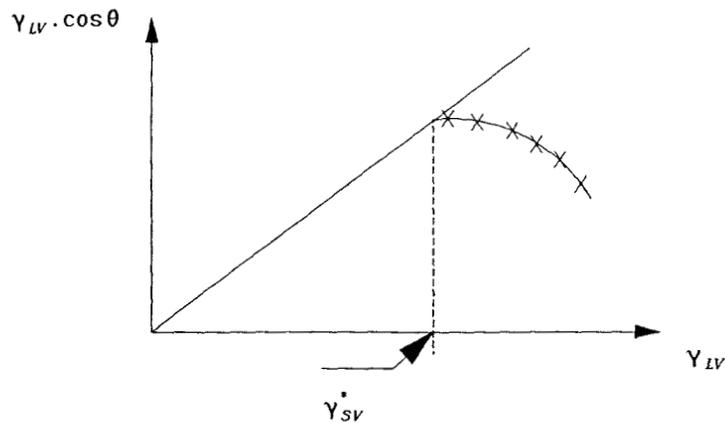


Figure II.2.3. : Détermination des énergies de surface par la méthode graphique de NEUMANN et WARD

### c Approche par le modèle de FOWKES

Cette approche utilise la relation établie précédemment (II.2.18.) :

$$\gamma_{1,2} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2(\gamma_1^d \cdot \gamma_2^d)^{1/2} - I_{1,2}^p \quad (\text{II.2.26.})$$

Appliquée à un couple liquide-solide, on obtient ainsi :

$$\gamma_{SL} = \gamma_S + \gamma_L - 2 \cdot (\gamma_S^d \cdot \gamma_L^d)^{1/2} - I_{SL}^p \quad (\text{II.2.27.})$$

De plus, nous avons :

$$\gamma_{SV} = \gamma_S - \Pi e \quad (\text{II.2.23.})$$

et  $\gamma_{LV} = \gamma_L$  car V représente la phase vapeur saturée du liquide L.

En reportant ces relations dans l'équation de YOUNG (II.2.22.) nous obtenons :

$$\gamma_L \cdot (1 + \cos\theta) = 2 \cdot (\gamma_S^d \cdot \gamma_L^d)^{1/2} + I_{SL}^p - \Pi e \quad (\text{II.2.28.})$$

La détermination de  $\gamma_S^d$  se fait alors en mesurant les angles  $\theta$  obtenus avec différents liquides apolaires (Fig. II.2.3.), puis en portant sur un graphe  $\gamma_L \cdot (1 + \cos\theta)$  en fonction de  $(\gamma_L^d)^{1/2}$  (pour des liquides apolaires  $\gamma_L^d = \gamma_L$ ). Si  $\pi e$  est constante pour la série de liquides utilisés, on obtient une droite de pente  $2 \cdot (\gamma_S^d)^{1/2}$  et d'ordonnée à l'origine  $\pi e$ .

Une série de mesure avec des liquides polaires permet ensuite de calculer le terme  $I_{S,L}^p$  pour chaque couple (liquide-solide) à l'aide de la relation (II.2.29.). Il faut néanmoins avoir au préalable déterminé les composantes dispersives d'énergie de surface des différents liquides, ce qui peut être réalisé par mesures d'angles de contact entre ces liquides et un solide apolaire tel que du Parafilm (108).

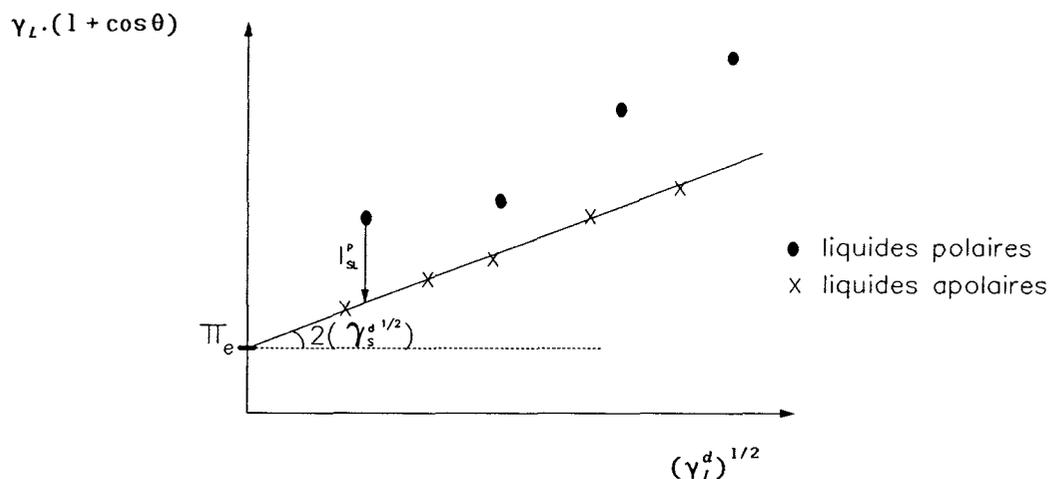


Figure II.2.4. : Principe graphique de détermination des énergies de surface par mesure d'angles de contact en phase vapeur, selon le modèle de FOWKES.

#### d Validité des méthodes de mesure en phase vapeur

- La méthode de ZISMAN a l'avantage d'être simple à mettre en oeuvre. Malheureusement elle ne permet pas d'obtenir la valeur réelle de  $\gamma_s$ , et en outre la valeur de  $\gamma_c$  obtenue dépend des liquides utilisés pour les mesures, ce qui montre que  $\gamma_c$  n'est pas vraiment caractéristique du solide.

- la méthode de NEUMANN et WARD ne nous semble pas non plus convenir, notamment car elle suppose que  $\pi e$  est constante et négligeable. Or il a été montré que dans le cas des verres cela n'est pas vrai. Pour un verre particulier, BUSSCHER (48) a en effet trouvé les valeurs suivantes :  $\pi e = 37$  avec du n-propanol et  $\pi e = 141$  avec de l'eau.

- la méthode de FOWKES semble plus juste, notamment parce qu'elle ne néglige pas  $\pi e$ , mais elle ne permet de déterminer facilement  $\gamma_s^d$  et  $I_{S,L}^d$  que si  $\pi e$  est constante. Cela est généralement vrai pour des solides de faible énergie tels que les polymères mais ça ne l'est pas pour les verres et vitrocéramiques.

#### 4 Détermination de l'énergie de surface d'un solide par mesures d'angles de contact en phase liquide (M = L<sub>2</sub>)

Cette détermination se fait aussi par la technique de la goutte posée et ainsi le modèle de YOUNG s'applique. La différence réside dans la nature de la 3e phase qui ici est une phase liquide, notée L<sub>2</sub>, non miscible avec l'autre phase liquide, notée L.

Les méthodes de ZISMAN et de NEUMANN et WARD ne s'appliquent plus aux mesures en milieu liquide. Par contre, les modèles de FOWKES, de WU (II.2.20.) et de OWENS et WENDT (II.2.19.), restent valables.

##### a Application du modèle de FOWKES à la détermination de $\gamma_s$ en milieu liquide.

Dans le cas d'un liquide L<sub>2</sub> de plus faible densité que le liquide L, le modèle de YOUNG se schématise de la façon suivante :

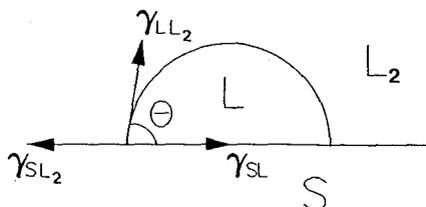


Figure II.2.5. : Schématisation du modèle de YOUNG en milieu liquide

La relation II.2.22. s'écrit ici :

$$\gamma_{LL_2} \cdot \cos \theta = \gamma_{SL_2} - \gamma_{SL}$$

Le modèle de FOWKES (II.2.26.) permet en outre d'explicitier les énergies interfaciales  $\gamma_{LL_2}, \gamma_{SL_2}, \gamma_{SL}$  :

$$\gamma_{LL_2} = \gamma_L + \gamma_{L_2} - 2 \cdot (\gamma_L^d \cdot \gamma_{L_2}^d)^{1/2} - I_{LL_2}^p$$

$$\gamma_{SL_2} = \gamma_S + \gamma_{L_2} - 2 \cdot (\gamma_S^d \cdot \gamma_{L_2}^d)^{1/2} - I_{SL_2}^p$$

$$\gamma_{SL} = \gamma_S + \gamma_L - 2 \cdot (\gamma_S^d \cdot \gamma_L^d)^{1/2} - I_{SL}^p$$

Ces expressions se simplifient lorsque l'un des liquides est apolaire. C'est en fait l'un des principes de base de cette méthode à deux liquides, d'utiliser deux liquides non miscibles dont l'un est apolaire. Nous présentons ici le cas où  $L_2$  est apolaire.  $\gamma_{LL_2}$  et  $\gamma_{SL_2}$  s'écrivent alors :

$$\gamma_{LL_2} = \gamma_L + \gamma_{L_2} - 2 \cdot (\gamma_L^d \cdot \gamma_{L_2}^d)^{1/2}$$

$$\gamma_{SL_2} = \gamma_S + \gamma_{L_2} - 2 \cdot (\gamma_S^d \cdot \gamma_{L_2}^d)^{1/2}$$

En reportant ces expressions dans la relation de YOUNG, on aboutit à :

$$\gamma_L - \gamma_{L_2} + \gamma_{LL_2} \cdot \cos \theta = 2 \cdot (\gamma_S^d)^{1/2} \cdot ((\gamma_L^d)^{1/2} - (\gamma_{L_2}^d)^{1/2}) + I_{SL}^p \quad (\text{II.2.29.})$$

*Remarque* : nous avons ici présenté le cas où le liquide  $L_2$  est moins dense que  $L$ . Le cas contraire peut aussi se présenter, (cas de la goutte captive). Il se schématise ainsi :

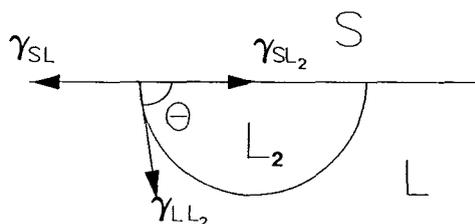


Figure II.2.6. : Modèle de YOUNG en milieu liquide - cas de la goutte captive

En considérant  $L_2$  apolaire, on aboutit à la relation suivante :

$$\gamma_{L2} - \gamma_L + \gamma_{LL2} \cdot \cos\theta = 2 \cdot (\gamma_S^d)^{1/2} \cdot ((\gamma_{L2})^{1/2} - (\gamma_L^d)^{1/2}) - I_{SL}^p \quad (\text{II.2.30.})$$

#### b Principe expérimental de détermination de $\gamma_S^d$ et de $I_{S,L}^p$

La détermination de  $\gamma_S^d$  et  $I_{S,L}^p$  se fait en effectuant des mesures d'angles de contact avec différents liquides  $L_2$ . On représente alors la fonction :

$$\gamma_L - \gamma_{L2} + \gamma_{LL2} \cdot \cos\theta = f(2 \cdot ((\gamma_L^d)^{1/2} - (\gamma_{L2})^{1/2}))$$

et par régression linéaire, on obtient  $\gamma_S^d$  qui est le carré de la pente et  $I_{S,L}^p$  qui est l'ordonnée à l'origine. Dans le cas de la méthode de la goutte captive, on utilise différents liquides  $L_2$ , et  $L$  est invariable. Le principe de calcul de  $\gamma_S^d$  et  $I_{S,L}^p$  est alors identique mais l'ordonnée à l'origine est  $(-I_{S,L}^p)$ .

En pratique, les liquides apolaires utilisés sont généralement des hydrocarbures et le liquide polaire est très souvent de l'eau ultra-pure.

#### c Discussion de cette méthode

Cette technique a été utilisée de nombreuses fois (78, 102, 109) et il a été montré qu'elle convient aussi bien aux matériaux de faible énergie que de forte énergie (78). D'autre part, pour les solides parfaitement propres, elle présente l'avantage d'exclure le terme de pression d'étalement qui est difficile à déterminer. Elle est donc beaucoup plus adaptée à l'étude des verres que les méthodes de mesures à l'air.

Il existe néanmoins certaines restrictions. D'une part, il ne faut pas que le solide soit chimiquement attaqué par l'hydrocarbure, ce qui peut être le cas si l'on étudie un polymère. D'autre part, il faut que le liquide L déplace l'hydrocarbure dans lequel le solide est préalablement plongé. Une étude réalisée à ce sujet (110) permet de dire que sur un verre il est fortement probable que l'eau déplace les hydrocarbures que nous utilisons. Cette hypothèse sera néanmoins vérifiée à l'aide de nos résultats expérimentaux.

### C APPLICATION : DETERMINATION DES ENERGIES DE SURFACE DU VERRE PYREX ET DES VITROCERAMIQUES VISION ET VISION DECO

Pour déterminer les énergies de surface de ces matériaux, nous utilisons donc la méthode de mesure en milieu liquide et essentiellement celle de la goutte posée, en prenant comme liquide L de l'eau bidistillée, et comme liquides L<sub>2</sub> différents hydrocarbures dont les énergies de surface sont comprises entre 16 mJ.m<sup>-2</sup> et 30 mJ.m<sup>-2</sup> environ.

#### I Mesure des énergies de surface des liquides

##### 1 Procédé expérimental

###### a Réglage de l'appareil

La mesure de l'énergie de surface se fait par mesure du poids de la lame de platine, à l'aide d'une balance électromagnétique intégrée à l'appareil. Le poids mesuré varie lorsque l'environnement dans lequel se situe la lame est modifié (air, liquide) et c'est la mesure de ces différences qui permet d'obtenir l'énergie de surface du liquide. Ainsi, il est important de correctement régler l'appareil au point zéro correspondant au cas où la lame propre n'est pas plongée dans le liquide. Le principe de réglage du zéro, expliqué dans la notice technique de l'appareil, est donc effectué avant chaque mesure de  $\gamma_L$ .

*Remarque* : Le nettoyage de la lame de platine se fait en la rinçant à l'eau bidistillée puis en la portant à haute température à l'aide d'une flamme de

bec Bunsen (lame portée au rouge).

### b Mesure d'énergie superficielle d'un liquide

Le liquide à étudier est placé dans un cristallisateur de diamètre supérieur à 5 cm pour éviter les effets de bords. Le cristallisateur est ensuite placé sur la plate-forme située sous la lame, plate-forme que l'on peut déplacer verticalement. Pour mesurer l'énergie de surface du liquide ( $\gamma_L$ ), nous immergeons totalement la lame dans le liquide, puis nous abaissons régulièrement la plate-forme jusqu'à rupture du ménisque formé par le liquide sur la lame.  $\gamma_L$  est alors la valeur maximale affichée sur l'appareil et obtenue juste avant l'arrachement. La mesure est réalisée plusieurs fois jusqu'à ce qu'elle soit reproductible et dans chaque cas, nous renettoyons la lame de platine et vérifions le réglage du zéro.

## 2 Résultats

Comme nous l'avons vu, la mesure d'énergie de surface des liquides est nécessaire à la détermination des énergies de surface des solides. Nous présentons donc dans le tableau II.2.2., les résultats obtenus pour les liquides utilisés. Les valeurs présentées sont les moyennes d'au moins 20 mesures.

Tous les alcanes sont des produits Merck à l'exception du tétradécane (Prolabo réf. 28542-182, pureté non donnée). Leur pureté est supérieure à 99 % à l'exception de celle du squalane qui n'est pas précisée. Il s'agit du squalane de référence 9766 pour chromatographie en phase gazeuse. L'eau bidistillée est obtenue par filtration d'eau distillée à l'aide du système de production d'eau ultra pure Milli-Q (société Millipore). Cette eau est exempte de matières organiques et d'anions. Elle contient néanmoins des traces de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{NH}_4^+$ .

LIQUIDE	$\gamma_L^{exp}$ ( $mJ.m^{-2}$ )	$\gamma_L^{th}$ ( $mJ.m^{-2}$ )	$\gamma_L^{dth}$ ( $mJ.m^{-2}$ )	Ref.
Eau bidistillée	$72,9 \pm 0,3$	73	21,7	- (78,92)
Squalane	$29,3 \pm 0,1$	29,5	0	- (104)
Hexadécane	$27,6 \pm 0,1$	27,6	0	- (92)
Cyclohexane	$25,5 \pm 0,1$	25,5	0	- (92)
Dodécane	$25,4 \pm 0,1$	25,4	0	- (78)
Décane	$23,9 \pm 0,1$	23,9	0	- (104)
Octane	$21,8 \pm 0,1$	21,8	0	- (92)
Heptane	$20,3 \pm 0,1$	20,3	0	- (78)
Hexane	$18,6 \pm 0,2$	18,4	0	- (92)
Pentane	$16,4 \pm 0,3$	16,3	0	- (92)

Tableau II.2.2. : Energie de surface des liquides.

## II Technique de mesure des angles de contact

### 1 Appareillage

La mesure des angles se fait sur un écran où ils sont projetés et agrandis à l'aide d'un montage optique réalisé au laboratoire.

Ce montage est schématisé figure II.2.7. :

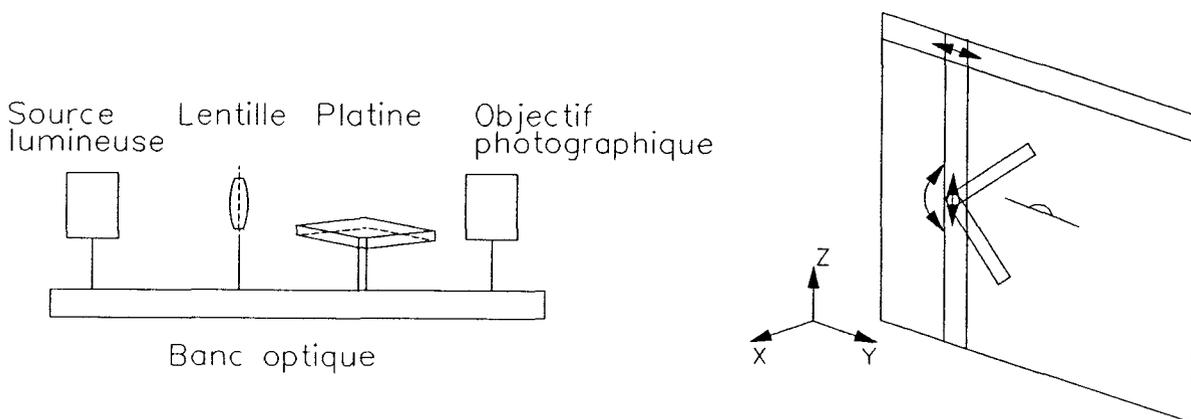


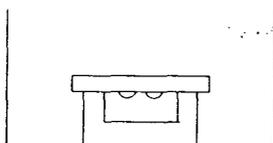
Figure II.2.7. : Montage optique pour la mesure des angles de contact

Il est constitué :

- d'une lampe de projecteur diapositive
- d'une lentille convergente pour concentrer le faisceau lumineux et ainsi augmenter l'intensité lumineuse.
- d'une platine animée d'un mouvement transversal et vertical (X et Z).
- d'un objectif photographique (Nikon, distance focale = 50 mm) pour projeter la goutte sur l'écran.
- d'un écran sur lequel est monté un té qui permet de mesurer les angles. Ce té peut être déplacé suivant les axes X et Z et est animé d'un mouvement de rotation.

Les échantillons sont placés au fond de cuves en verre étanches dont les faces sont parallèles ( $h = 5,5$  cm, longueur =  $l = 6$  cm) et qui sont remplies du liquide  $L_2$  jusqu'à une hauteur de 4 cm. Les gouttes du liquide L sont déposées sur les échantillons à l'aide d'une microseringue (précision = 0,5 microlitre). Le volume de la goutte est dans chaque cas de 1 microlitre.

*Remarque* : Lorsque la détermination des énergies de surface se fait par la méthode de la goutte pendante, les cuves sont remplies d'eau bidistillée, les échantillons sont posés sur un support creux et à l'aide d'une microseringue dont l'aiguille est courbée, on dépose sur la face inférieure des échantillons, les gouttes des différents alcanes de mesure :



**Figure II.2.8.** : Représentation de l'emplacement des échantillons dans la technique de la goutte pendante.

## 2 Mesures d'angles

- Pour chaque goutte, on mesure la hauteur maximale ( $h$ ) la largeur à la base ( $l$ ) et les angles à gauche ( $\theta_g$ ) et à droite ( $\theta_d$ ). A partir de  $h$  et  $l$ , on calcule une troisième valeur d'angle  $\theta_c$  donnée par la relation suivante :

$$\theta_c = 2 \cdot \text{Arctg} \left( \frac{2h}{l} \right) \quad (\text{II.2.31.})$$

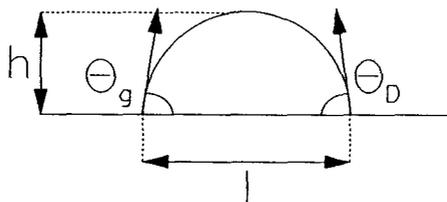


Figure II.2.9. : Méthode expérimentale de mesures des angles de contact.

*Remarque* : La relation II.2.31. suppose que la goutte à la forme d'une calotte sphérique, ce qui est vrai lorsque les forces de gravité agissant sur la goutte peuvent être négligées. Ceci est vérifié pour des gouttes de faibles volumes ( inférieurs à 3  $\mu\text{l}$  ) (111) et donc l'est dans notre cas.

A partir de ces trois valeurs, on obtient ensuite  $\theta_m$ , valeur moyenne de  $\theta_g$ ,  $\theta_d$  et  $\theta_c$  :

$$\theta_m = \frac{\theta_g + \theta_d + \theta_c}{3} \quad (\text{II.2.32.})$$

- Les mesures d'angles sont réalisées à l'équilibre bien que beaucoup d'auteurs contestent la validité de cette mesure (102, 105). Il semble que la valeur la plus caractéristique soit celle de l'angle à l'avancée ( $\theta_{av}$ ), angle obtenu en augmentant le volume de la goutte (Fig. II.2.10.).

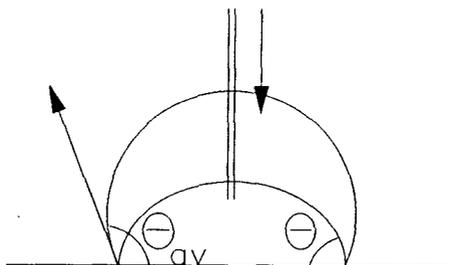


Figure II.2.10. : Schématisation d'un angle de contact à l'avancée

Néanmoins, nous avons choisi de mesurer les valeurs à l'équilibre pour plusieurs raisons :

.ADAMSON (105) note que selon FOWKES, les phénomènes d'hystérésis disparaissent avec des solides correctement nettoyés et des liquides purs.

.De plus l'hystérésis est essentiellement liée, semble-t-il, aux problèmes

de rugosité des surfaces (112). BUSSCHER a ainsi rapporté que pour des surfaces de rugosité moyenne inférieure à 0,1 micromètre (rugosité évaluée par la méthode du stilet), ces phénomènes d'hystérésis disparaissent (113).

Puisque les liquides utilisés ont un taux de pureté élevé (supérieur à 99 % pour les hydrocarbures, et à 99,9 % pour l'eau bidistillée), et que les surfaces de verres et vitrocéramiques non poreuses présentent des rugosités moyennes généralement inférieures à 0,1 micromètre (annexe 2), nous considérons que les phénomènes d'hystérésis sont négligeables dans notre étude. Donc nous mesurons l'angle à l'équilibre qui en général est stable dans le temps. Dans le squalane, il est néanmoins nécessaire d'attendre que la goutte se stabilise (de 15 à 30 min) car ce liquide est fortement visqueux.

- Reproductibilité des mesures : Dans une même série, nous mesurons par hydrocarbure et par matériau un minimum de 60 angles correspondant à 20 gouttes d'eau bidistillée déposées sur 4 échantillons différents. Ceci nous permet de vérifier la reproductibilité des résultats.

### III Détermination des énergies de surface de Pyrex. Vision et Vision Déco

#### 1 Conditionnement des échantillons

Les échantillons sont des plaques massives de 0,6 cm de hauteur et 5 cm de côtés. Ces plaques sont planes et possèdent une surface polie et une surface non polie que nous étudions.

La préparation de ces échantillons se résume en un nettoyage dont le but est d'une part d'éliminer toutes les contaminations externes et d'autre part d'éliminer de façon reproductible l'eau physisorbée à la surface.

Une étude du nettoyage des verres a été présentée par SIMON (78). D'après cette étude, il ressort qu'un nettoyage par de l'hexane (extraction à chaud dans un soxhlet), élimine les contaminations organiques ainsi qu'une partie au moins de l'eau physisorbée et cela sans affecter fortement la composition superficielle du verre, ce qui correspond au but que nous nous sommes fixés.

Néanmoins, l'hexane étant un produit apolaire, nous avons décidé de compléter ce nettoyage en utilisant un produit polaire, en l'occurrence de l'éthanol chaud (pur à 95 %).

#### a Nettoyages éthanol et alcane

Des essais préliminaires avec l'éthanol et l'hexane nous ont permis de définir les temps de nettoyage par ces solvants, en utilisant comme critère de sélection la reproductibilité des mesures d'angles pour un matériau dans un alcane de mesure donné. Nous avons ainsi opté pour un nettoyage de 1,5 h à l'éthanol suivi d'une extraction par l'hexane pendant un minimum de 30 min.

Ce protocole de nettoyage a alors été appliqué sous diverses formes plus précisément en utilisant d'autres alcanes et également dans un cas en séchant les échantillons à l'étuve. Sur cette base nous avons réalisé 4 nettoyages :

- |                                 |              |             |
|---------------------------------|--------------|-------------|
| 1. Extraction à l'éthanol chaud | - t = 1,5 h  | - T = 80°C  |
| Extraction à l'hexane chaud     | - t ≥ 30 min | - T = 70°C  |
| 2. Extraction à l'éthanol chaud | - t = 1,5 h  | - T = 80°C  |
| Extraction au décane chaud      | - t ≥ 30 min | - T = 174°C |
| 3. Extraction à l'éthanol chaud | - t = 1,5 h  | - T = 80°C  |
| Extraction au cyclohexane chaud | - t ≥ 30 min | - T = 81°C  |
| 4. Extraction à l'éthanol chaud | - t = 1,5 h  | - T = 80°C  |
| Séchage à l'étuve               | - t = 10 min | - T = 110°C |
| Extraction au cyclohexane chaud | - t ≥ 30 min | - T = 81°C  |
| Séchage à l'étuve               | - t = 10 min | - T = 110°C |



*Remarque* : Dans la série 4, nous séchons les échantillons à l'étuve afin d'éliminer l'éthanol et le cyclohexane. Dans la suite, nous avons omis le second passage à l'étuve car en fait le cyclohexane s'évapore rapidement des échantillons sortis du soxhlet.

Nous avons utilisé différents alcanes de nettoyage, afin d'étudier leur influence sur les valeurs mesurées des énergies de surface. Plus précisément, nous avons supposé que la quantité d'eau physisorbée éliminée devrait varier, notamment car la température d'extraction au soxhlet (température d'ébullition de l'alcane) varie.

#### b Nettoyage RBS, eau bidistillée, éthanol et alcane

Dans un second temps, nous avons décidé de compléter le nettoyage en utilisant un tensioactif dont la fonction est d'éliminer les graisses. Il s'agit du RBS 35 fourni par la société des traitements chimiques de surface (59236 FRELINGHIEN-FRANCE). Pour éliminer le RBS, il a fallu d'autre part ajouter un rinçage par de l'eau bidistillée suivi d'un séchage à 56°C. Nous avons ainsi réalisé deux nettoyages :

5 . RBS 35 (4 %)	- t = 30 min - T = 20°C
Eau bidistillée	- t = 1 h - T = 20°C
Séchage à l'étuve	- t ≥ 1 h - T = 56°C
Extraction à l'éthanol chaud	- t = 1,5 h - T = 80°C
Séchage à l'étuve	- t = 10 min - T = 110°C
6 . 5 + Extraction au cyclohexane	- t ≥ 30 min - T = 81°C

L'omission du nettoyage au cyclohexane dans le protocole n°5 nous permet de mesurer les énergies de surface dans le cas où la couche d'eau physisorbée est maximale. A la suite de ce nettoyage, nous avons d'ailleurs réalisé les mesures non seulement par la méthode de la goutte posée mais aussi par celle de la goutte captive.

Après ces nettoyages, les échantillons sont placés dans des boîtes de pétri pendant un temps  $t_a$  (temps dans l'air), puis ils sont plongés dans un bécher contenant de l'alcane de mesure pendant un temps minimal de 10 min (pour la méthode de la goutte captive, les échantillons nettoyés sont plongés dans un bécher contenant de l'eau bidistillée, là encore pendant un minimum

de 10 min). Ce rinçage par le liquide dans lequel est ensuite placé l'échantillon a pour but d'éliminer toutes traces éventuelles d'impuretés et d'assurer le recouvrement de l'échantillon par le liquide  $L_2$ .

## 2 Résultats

Les résultats sont présentés dans les tableaux II.2.3. et II.2.4. en précisant dans chaque cas le type de nettoyage, les matériaux étudiés, les alcanes utilisés et les valeurs de  $\gamma_S^d$ ,  $I_{S,L}^d$ ,  $I_{S,L}^p$  et  $\gamma_S^p$  calculées suivant le modèle de OWENS et WENDT (II.2.19.). D'autre part nous présentons figures II.2.11-12., l'évolution de  $\gamma_S^p$  en fonction de  $\gamma_S^d$  pour PYREX et VISION.

### a Vérification du critère de mouillabilité

Pour que la méthode à deux liquides soit correcte, il faut entre autre chose que le liquide L déplace le liquide  $L_2$ . Dans notre cas, il faut donc que l'eau déplace l'alcane et réciproquement. A l'aide des relations proposées par SHANAHAN et al. (110) et des valeurs de  $\gamma_S^d$  et  $I_{S,L}^p$  que nous obtenons, nous avons vérifié que les critères de mouillabilité sont toujours respectés. Pour cela il faut s'assurer que les inégalités suivantes sont vraies :

$$2 \cdot [(\gamma_S^d)^{1/2} - (\gamma_{L_2})^{1/2}] \cdot [(\gamma_{L_2})^{1/2} - (\gamma_L^d)^{1/2}] < I_{SL}^p < 2 \cdot \gamma_L^p - 2 \cdot [(\gamma_S^d)^{1/2} - (\gamma_L^d)^{1/2}] \cdot [(\gamma_L^d)^{1/2} - (\gamma_{L_2})^{1/2}] \quad (\text{II.2.33.})$$

$L_2 = \text{alcane} , L = \text{eau bidistillée.}$

Pour tous les résultats présentés dans les tableaux II.2.3. et II.2.4. et pour tous les alcanes de mesures, ces inégalités sont vérifiées et donc les critères de mouillabilité sont bien respectés.

NETTOYAGE	ALCANES	MATERIAU	$\sqrt{\gamma_s^d}$	$\gamma_s^d$ mJ.m <sup>-2</sup>	$I_{SL}^d$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s^p$ mJ.m <sup>-2</sup>	$I_{SL}^p$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s^s$ mJ.m <sup>-2</sup>
1 : Ethanol et Hexane ta ~ 30 s	Squa, Hexad, Tétra Dodéc, Déc Oct, Hex	PYREX VISION	9,1 ± 0,8	83	84,8	18,2	61,0 ± 10,7	101,2
2 : Ethanol et Décane ta ~ 30 s	Hexad, Tétra Dodéc, Déc Oct, Hept	PYREX VISION	14,4 ± 2,0	207	134,2	12,2	49,9 ± 11,5	219,2
3 : Ethanol et Cyclohexane ta ~ 30 s	Squa, Hexad, Dodéc Déc, Oct, Hept Hex, Pent	PYREX VISION	15,1 ± 1,3	226,8	140,7	12,8	51,1 ± 7,0	239,6
4 : Ethanol, Cyclohexane et étuves à 110°C ta ~ 30 s	Squa, Cyclo Déc, Oct, Pent	PYREX VISION	7,1 ± 0,7	50	66,1	16,7	58,4 ± 8,6	66,7
			7,4 ± 0,5	55,2	68,9	19,4	63,0 ± 6,5	74,6
			11,2 ± 1,4	126,4	104,3	17,8	60,4 ± 11,7	144,2
			11,2 ± 1,2	125	104,3	21,8	66,8 ± 10,2	146,8

TABEAU II.2.3 : Mesures des énergies de surface du PYREX et du VISION.  
(nettoyages éthanol et alcane).

NETTOYAGE	ALCANES	MATERIAU	$\sqrt{\gamma_s^d}$	$\gamma_s^d$ mJ.m <sup>-2</sup>	$I_{SL}^d$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s^p$ mJ.m <sup>-2</sup>	$I_{SL}^p$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s$ mJ.m <sup>-2</sup>
5 : Ethanol (goutte posée)	Squa, Déc Oct, Pent	PYREX	9,0 ± 0,6	80,6	83,8	28,2	76,0 ± 6,0	108,8
		VISION	5,7 ± 0,8	33	53,1	26,5	73,7 ± 10,1	59,5
5' : Ethanol (goutte pendante)	Squa, Hexad, Cyclo Dodéc, Dec, Oct Hept, Hex, Pent	PYREX	4,8 ± 0,3	23,1	44,7	32,7	81,8 ± 4,1	55,8
		VISION	4,0 ± 0,3	16,0	37,3	31,6	80,5 ± 3,9	47,6
6 : Ethanol et Cyclohexane ta ~ 2 min	Squa, Hexad, Dodéc Dec, Oct, Hept Hex, Pent, Cyclo	PYREX	6,5 ± 0,6	42,4	60,6	25,5	72,3 ± 8,2	67,9
		VISION	6,1 ± 0,5	37,5	56,8	26,7	74,0 ± 6,3	64,2
		VISION DECO	8,0 ± 0,4	63,3	74,5	24,1	70,2 ± 10,1	87,4
6' : Ethanol et Cyclohexane ta ~ 30 s	Squa, Cyclo, Hexad Dodéc, Dec, Oct Hept, Hex, Pent	VISION DECO	9,4 ± 0,6	89,0	87,6	18,8	62,0 ± 9,1	107,8

TABLEAU II.2.4 : Mesures des énergies de surface du PYREX , du VISION et du VISION DECO  
Nettoyages RBS , Ethanol et Alcane.

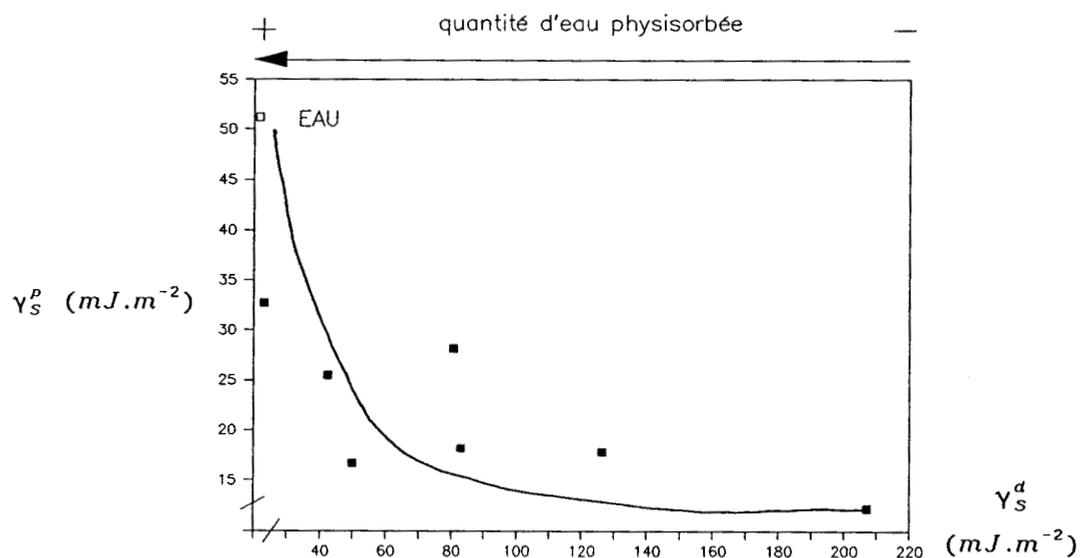


Figure II.2.11. : Evolution de  $\gamma_S^p$  en fonction de  $\gamma_S^d$  pour le verre PYREX lorsque la quantité d'eau physisorbée en surface, varie.

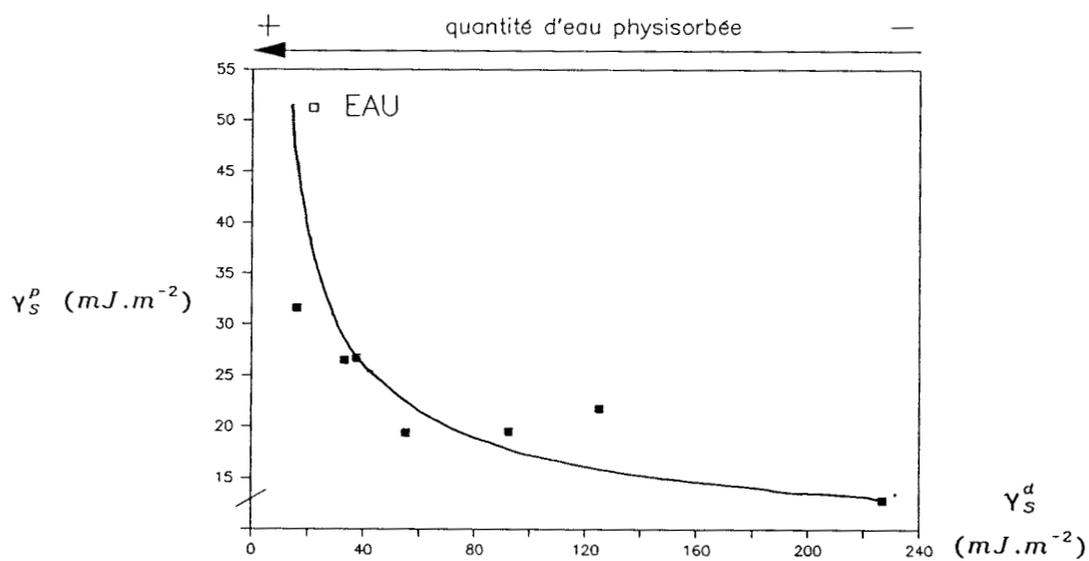


Figure II.2.12. : Evolution de  $\gamma_S^p$  en fonction de  $\gamma_S^d$  pour la vitrocéramique VISION lorsque la quantité d'eau physisorbée en surface, varie.

## b Discussion des résultats

### - Comparaison des matériaux :

D'après nos résultats, il n'est pas possible de distinguer d'un point de vue énergétique le verre Pyrex et la vitrocéramique Vision. En effet, il n'apparaît de différences notables entre ces deux matériaux que dans un seul cas (nettoyage RBS et éthanol - méthode de la goutte posée) qui en fait est celui pour lequel le plus faible nombre d'alcanes de mesure intervient (4 alcanes). Ainsi, cette différence ne peut pas être vraiment prise en considération.

Le Vision Deco semble lui avoir une composante dispersive d'énergie de surface légèrement plus forte que le Pyrex et le Vision. Mais les mesures de rugosité de surface (annexe 2) indiquent que le Vision Deco a une rugosité moyenne supérieure à  $0,1 \mu\text{m}$  et donc pour ce solide, il y a risque d'hystérèse lors de la mesure des angles de contact (ce qui n'est pas le cas pour Pyrex et Vision). Plus précisément, il semblerait que cette hystérèse ait pour effet de surévaluer la composante  $\gamma_s^d$  de Vision Déco (annexe 2) et ainsi la faible différence que nous observons expérimentalement ne peut pas être considérée comme significative.

### - Influence du nettoyage :

Nos résultats montrent clairement que le nettoyage a une influence considérable sur les valeurs mesurées d'énergie de surface. Or, le paramètre essentiel qui varie entre tous les conditionnements effectués, est la quantité d'eau physisorbée. En particulier, il est raisonnable de penser que d'une part elle augmente avec  $t_a$  et que d'autre part elle diminue quand on utilise un alcane pour nettoyer les échantillons et que la température d'ébullition de cet alcane augmente, ou lorsque l'on sèche les échantillons à  $120^\circ\text{C}$  (après le nettoyage par l'alcane). Pratiquement on observe les évolutions suivantes :

- .  $I_{S,L}^p$  ( $\gamma_s^p$ ) augmente et  $\gamma_s^d$  diminue quand  $t_a$  augmente.
- .  $I_{S,L}^p$  ( $\gamma_s^p$ ) augmente et  $\gamma_s^d$  diminue quand  $T_{eb}$  (alcane linéaire) diminue ou que l'on n'utilise pas d'alcane (nettoyage au décane puis à l'hexane puis

sans alcane).

.  $\gamma_s^d$  diminue quand on supprime les séchages à l'étuve à 120°C (nettoyages 3 et 4).

En reliant ces observations aux remarques faites précédemment sur la variation de la quantité d'eau physisorbée, il semble donc que  $I_{s,l}^p$  augmente et  $\gamma_s^d$  diminue quand la quantité d'eau physisorbée augmente. Plus précisément, il apparaît que :

- .  $I_{s,l}^p$  augmente et tend vers  $I_{l,l}^p$  ( $I_{l,l}^p = 2 \gamma_l^p = 102,4 \text{ mJ.m}^{-2}$  pour L=eau)
- .  $\gamma_s^d$  diminue et tend vers  $\gamma_l^d$  ( $\gamma_l^d = 21,7 \text{ mJ.m}^{-2}$  pour L=eau)

Le cas extrême de cette évolution devrait être celui où les mesures sont réalisées en plongeant les échantillons dans de l'eau c'est-à-dire lorsque la couche d'eau physisorbée est maximale. Or nous constatons effectivement que c'est dans ce cas que la valeur de  $\gamma_s^d$  est la plus faible et que celle de  $I_{s,l}^p$  est la plus forte. Ces observations semblent donc indiquer que les valeurs mesurées ne correspondent jamais au matériau lui-même mais à celui-ci recouvert d'une couche d'eau et que sa contribution à l'énergie mesurée sera d'autant plus faible que la couche d'eau est importante.

#### - Choix d'un protocole de nettoyage.

La détermination des énergies de surface des substrats avait pour but, de comparer l'énergie libre d'adhésion d'un corps quelconque sur ces matériaux, afin de déterminer, suivant la théorie thermodynamique, sur quel matériau l'adhésion des protéines est la plus faible.

Pratiquement, l'adhésion des protéines se fait généralement en solution aqueuse. Pour prédire thermodynamiquement l'adhésion, il serait donc préférable d'utiliser les énergies de surface des matériaux recouverts d'eau comme nous l'avons fait par la méthode de la goutte captive. Malheureusement, cette méthode est plus difficile à mettre en oeuvre que celle de la goutte posée. C'est pourquoi, nous suggérons d'utiliser cette dernière technique combinée à un nettoyage de type 6 avec un temps de passage à l'air de 2-3 min car alors les énergies mesurées sont proches de celles obtenues par la méthode de la goutte captive. Dans ce cas nous avons:

Substrat	$\gamma_s^d$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s^p$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s$ mJ.m <sup>-2</sup>
Pyrex	42,4	25,5	67,9 ± 8
Vision	37,5	26,7	64,2 ± 7
Vision Déco	63,3	24,1	87,4 ± 10

Par contre, si l'on désire obtenir des valeurs caractéristiques des matériaux exempts d'eau de surface, un nettoyage de type 6 en utilisant du décane au lieu du cyclohexane est préférable, car c'est cet alcane qui élimine le mieux l'eau physisorbée. Pour le nettoyage de type 2 nous obtenons ainsi:

Substrat	$\gamma_s^d$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s^p$ mJ.m <sup>-2</sup>	$\gamma_s$ mJ.m <sup>-2</sup>
Pyrex	207	12,2	219,2 ± 11
Vision	226,8	12,8	239,6 ± 7

Dans ce cas, il semble que le Vision ait une énergie de surface légèrement supérieure au Pyrex, la différence étant essentiellement d'origine dispersive. Les valeurs de  $\gamma_s^p$  pour les 2 matériaux sont par contre équivalentes et les courbes tracées figures II.2.11.-12. semblent indiquer que  $\gamma_s^p$  tende vers une valeur limite d'environ 10 mJ.m<sup>-2</sup> qui est identique pour les 2 matériaux.

Ainsi seule la composante  $\gamma_s^d$ , qui est ici très élevée par rapport à  $\gamma_s^p$ , permet de distinguer le Pyrex du Vision. Cette différence peut s'expliquer par une différence de composition, ce dont nous discuterons dans la synthèse. Nous y parlerons également des relations entre nos résultats et les phénomènes d'adhésion, traités d'un point de vue quantitatif, sur Pyrex, Vision et Vision Déco.

CHAPITRE III

-----

ETUDES D'INTERACTIONS  
ENTRE MOLECULES ORGANIQUES  
ET SURFACES DE VERRES

## Table des matières

A	METHODES D'ETUDES DES INTERACTIONS .....	112
I	Etude par spectroscopie XPS .....	112
II	Etude par spectroscopie infra-rouge .....	113
1	Principe de la spectroscopie infra-rouge .....	113
2	Etudes précédemment réalisées en spectroscopie infra-rouge .....	116
III	Etude par spectroscopie Raman .....	117
IV	Choix d'une méthode analytique .....	119
B	ETUDE DE L'ADHESION DE MOLECULES SIMPLES, ACIDE OU BASIQUE, SUR SURFACES MINERALES ACIDES OU BASIQUES. ....	121
I	Appareils et méthodes .....	121
1	Choix et préparation des substrats .....	121
2	Mesures de pH des surfaces .....	123
3	Préparation des solutions d'adsorptions .....	123
4	Adsorption .....	124
5	Etude des interactions .....	124
II	Résultats .....	125
1	pH des surfaces .....	125
2	Analyse Raman des substrats .....	126
3	Interactions acide octanoïque-surfaces minérales .....	128
a	Analyse Raman de l'acide octanoïque .....	128
b	Etude Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur surfaces acide (Pyrex, Vision, Vision déco) .....	129
c	Adsorption sur NiO .....	130
d	Adsorption sur CaCO <sub>3</sub> .....	131
e	Discussion des résultats d'analyse Raman .....	133
4	Interactions octylamine-surfaces minérales .....	136
a	Analyse Raman de l'octylamine .....	136
b	Adsorption sur surfaces acides : Pyrex et Vision .....	137
c	Adsorption sur NiO .....	140
d	Adsorption sur calcite .....	141
e	Discussion des résultats .....	141
III	Conclusion sur les interactions acides-bases .....	144
C	ETUDE D'ADSORPTION D'ALPHA-LACTALBUMINE SUR SURFACES DE VERRES .	145
I	Appareils et méthodes .....	146
1	Système d'adsorption .....	146
a	Appareillage .....	147
b	Etude des cinétiques de chauffage .....	151
2	Préparation des substrats .....	151
3	Préparation des solutions .....	152
4	Conditions d'adsorption .....	152
5	Méthodes d'analyses des interactions .....	153
II	Etude des interactions $\alpha$ -Lactalbumine-verres par spectroscopie Raman .....	153
1	Analyse des substrats .....	153
2	Analyse de l' $\alpha$ -Lactalbumine .....	153
3	Etude de l' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée à 55°C et à 90°C .....	160
a	Observation des dépôts au microscope .....	161
b	Analyse de dépôts épais .....	162
c	Analyses de dépôts fins .....	169

III · CONCLUSION SUR L'ADSORPTION D' $\alpha$ -LACTALBUMINE SUR SURFACES DE  
VERRES ..... 180

## ETUDES D'INTERACTIONS ENTRE MOLECULES ORGANIQUES ET SURFACES DE VERRES

Comme nous l'avons vu au chapitre I, l'adhésion de molécules organiques sur surfaces minérales peut être envisagée selon différentes théories, les plus utilisées étant la théorie thermodynamique (développée au chapitre II), la théorie électrostatique et la théorie des liaisons chimiques. Cette dernière semble particulièrement adaptée pour expliquer notamment les interactions entre molécules acides ou basiques (au sens de LEWIS) et surfaces minérales. Des études faisant notamment intervenir des acides aminés, molécules formant les protéines, et des surfaces d'oxydes ont été menées et font ressortir la prédominance des liaisons de type acide-base. Puisque les protéines portent des fonctions acides et basiques et que les verres sont des oxydes non neutres, la théorie acide-base pourrait donc expliquer l'adhésion des protéines sur les surfaces de verres.

Aussi, afin de vérifier la validité de cette théorie et avant d'étudier spécifiquement les interactions protéines-verres, nous analyserons l'adsorption d'un acide et d'une base organique sur les surfaces du verre Pyrex et de la vitrocéramique Vision, ainsi que sur des surfaces de caractère plus basique, d'oxyde de nickel ( $\text{NiO}$ ) et de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ).

Ensuite nous étudierons l'interaction d'une protéine soluble du lactosérum avec le verre Pyrex et la vitrocéramique Vision, car ces protéines semblent être à l'origine de l'encrassement laitier et car de manière générale les protéines jouent un rôle majeur dans la formation de dépôts biologiques. En outre, toutes ces molécules présentant des groupements fonctionnels identiques, les mécanismes d'adsorption proposés pour l'une d'elles, pourraient éventuellement être appliqués aux autres protéines.

## A METHODES D'ETUDES DES INTERACTIONS

Les techniques les plus souvent utilisées pour l'étude in-situ des interactions entre molécules organiques et surfaces minérales sont des techniques spectroscopiques et plus spécifiquement l'XPS et les spectroscopies infra-rouge et Raman.

### I Etude par spectroscopie XPS

Le principe de l'XPS a été présenté au chapitre II et nous avons vu que dans cette technique d'analyse de surface, il est possible de faire varier l'angle d'incidence ( $\theta_i$ ) du faisceau de rayons X, ce qui a pour effet de modifier l'épaisseur d'analyse. Ainsi, lors de l'analyse de dépôt, en réduisant l'angle  $\theta_i$ , on passe d'une analyse globale du dépôt à une analyse des couches superficielles (les plus éloignées de la surface du matériau).

L'étude de l'évolution de la composition chimique, avec  $\theta_i$ , permet alors de préciser, le cas échéant, quels éléments de la molécule adsorbée se trouvent à proximité de la surface du matériau, et il devient ainsi possible de préciser les mécanismes d'adhésion.

Ce type d'étude a été réalisée dans le cas de l'adsorption de glycine sur graphite (114), silice (115) et or (116) et il apparaît que la glycine adsorbée sur ces surfaces est sous sa forme zwitterionique ( $^+H_3N - CH_2 - CO_2^-$ ), l'axe principal de la molécule étant perpendiculaire à la surface et le groupement ( $NH_3^+$ ) proche de cette dernière (Fig. III.1.).

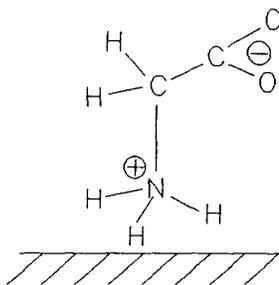


Figure III.1. : Schématisation de la glycine adsorbée sur surfaces de graphite (114), silice (115) et or (116).

Des études d'adsorption de protéines ont également été menées. RATNER (117) a montré que la majorité des atomes d'azote présents dans l'hémoglobine adsorbée sur platine, se trouvent à l'extérieur du dépôt et, non à l'interface avec le substrat.

PAYNTER (118) par une étude quantitative d'adsorption de fibronectine et d'hémoglobine sur différents polymères, a montré que le taux de recouvrement augmente avec l'énergie de surface du substrat et que la fibronectine adhère plus que l'hémoglobine. D'autres études quantitatives ont été réalisées par GÖLANDERS et al. (119,120) pour l'adsorption de diverses protéines sur polymères mais aucun mécanisme d'adhésion précis n'a été proposé.

## II Etude par spectroscopie infra-rouge

### 1 Principe de la spectroscopie infra-rouge

Par cette technique, l'échantillon est excité par un faisceau de photons de faible énergie. Celle-ci, absorbée, est insuffisante pour provoquer une émission d'électrons comme en ESCA, mais elle induit un changement des liaisons moléculaires, c'est-à-dire un déplacement des atomes par rapport à leur position d'équilibre. Ce déplacement engendre des forces de rappel qui mettent la molécule en vibration, ce qui se traduit par des transitions dans les niveaux d'énergies vibrationnelles. Il y a ensuite retour à l'équilibre par relaxation avec émission de photons dont l'énergie ( $E$ ) est caractéristique de la liaison et de sa vibration. Ces photons sont émis avec une fréquence  $\nu(E = h\nu)$  à laquelle est associé un nombre d'onde  $\bar{\nu} = c\nu$ .  $\bar{\nu}$  correspond à la fréquence de la vibration, qui dépend notamment de la force de la liaison et de la masse des atomes impliqués dans cette liaison. Ainsi une variation de fréquence d'une vibration indique une variation de la force de la liaison correspondante. Plus précisément,  $\bar{\nu}$  est relié à la force de la liaison et à l'inverse de la masse des atomes.

En fait, toutes les vibrations ne sont pas actives dans le spectre infra-rouge. Il existe des règles de sélection liées à la symétrie de la molécule : une vibration n'est active en spectroscopie infra-rouge (IR) que

si elle s'accompagne d'une variation du moment dipolaire permanent de la liaison considérée. La théorie des groupes permet de prévoir l'activité des modes de vibration.

Dans l'approximation des fréquences de groupe, un spectre infra-rouge permet donc d'identifier les liaisons et les fonctions caractéristiques d'une molécule et peut aussi apporter des renseignements sur sa symétrie.

Il existe différentes techniques utilisant la spectroscopie infra-rouge, qui sont liées d'une part au type du spectromètre utilisé et d'autre part à la nature du rayonnement analysé. Les trois plus importantes pour les études d'interactions, sont l'IR par absorption, l'IR par réflexion spéculaire ou diffuse et l'IR par réflexion interne (FTIR-ATR) :

**- IR par absorption :**

Cette technique est l'une des plus courante et elle consiste à mesurer la différence d'intensité entre le faisceau incident et le faisceau transmis, en fonction de la longueur d'onde. Cette technique est limitée dans ses applications aux échantillons qui ne sont pas trop absorbants, et elle est peu adaptée aux études superficielles.

**- IR par réflexion spéculaire ou diffuse :**

Dans cette technique le faisceau analysé est celui réfléchi par l'échantillon. Dans le cas d'analyses de dépôts, l'étude de l'interface dépôt-substrat nécessite donc d'avoir un dépôt qui transmet les radiations infra-rouge et un substrat qui les réfléchit (Fig. III.2.). Ceci n'est malheureusement pas le cas pour des substrats vitreux qui absorbent les radiations infra-rouges.

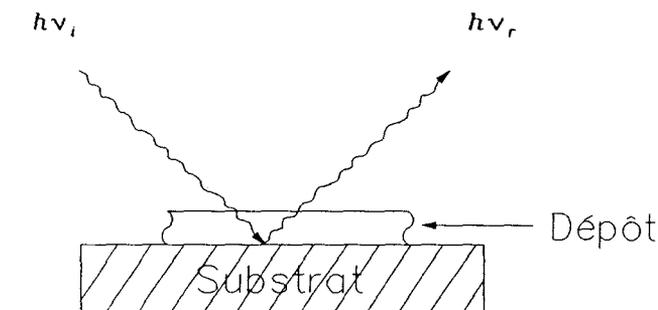


Figure III.2. : Principe de l'IR par réflexion diffuse.

- IR par réflexion interne (ATR) :

Cette technique, très récente, est particulièrement adaptée aux études de surface. Son principe est illustré par le schéma suivant (Fig. III.3.) :

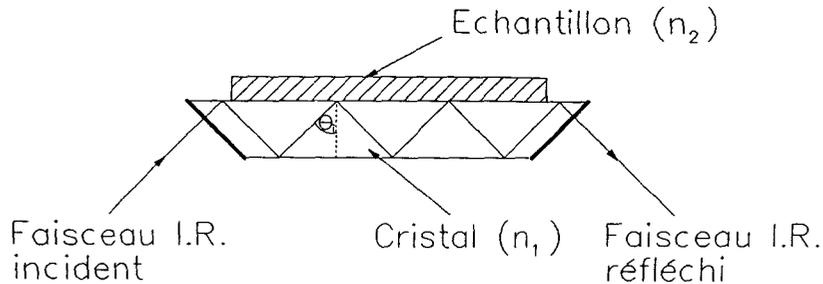


Figure III.3. : Principe de l'IR par réflexion interne (ATR).

Pour qu'il y ait réflexion interne du faisceau incident, il faut que celui-ci passe d'un milieu d'indice de réfraction élevé (n<sub>1</sub>) à un milieu de plus faible indice (n<sub>2</sub>). Pour un angle d'incidence (θ<sub>i</sub>) correctement choisi :

$$\theta_i > \theta_c ; \theta_c = \sin^{-1}(n_2/n_1) \quad (\text{III.1.})$$

, on a alors réflexion du faisceau dans le premier milieu. Néanmoins, ceci s'accompagne de la formation à l'interface d'une onde stationnaire ("evanescent wave") qui pénètre dans le second milieu. La profondeur de pénétration, d<sub>p</sub>, profondeur à laquelle l'intensité du signal, I, est égale à l'intensité initiale, I<sub>i</sub>, divisée par e (I = I<sub>i</sub>/e), est donnée par la relation suivante (121) :

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \left[ \sin^2 \theta_i - \left( \frac{n_2}{n_1} \right)^2 \right]^{1/2}} \quad (\text{III.2.})$$

λ = longueur d'onde.

Généralement, on a 0,5 μm < d<sub>p</sub> < 3 μm

Outre les informations obtenues par les autres techniques IR, l'ATR permet théoriquement d'accéder à d'autres données :

- profils de concentrations par variation de l'angle d'incidence du faisceau IR (122)
- orientation des liaisons au niveau de l'interface dépôt-substrat (123)
- détermination de l'épaisseur de films fins (124).

Mais l'intérêt de cette technique pour nous est surtout, qu'elle permet de faire des études de surfaces et d'autre part d'analyser des dépôts fins, car le faisceau pénétrant à plusieurs reprises dans le matériau, le signal est intensifié. De plus l'étude sur matériau absorbant l'IR est possible car le chemin optique parcouru par le faisceau dans le matériau est faible (quelques dizaines de  $\mu\text{m}$ ).

## 2 Etudes précédemment réalisées en spectroscopie infra-rouge

L'IR a été abondamment utilisée pour l'étude de protéines adsorbées ou non car cette méthode est l'une des plus adaptées, notamment, pour l'analyse conformationnelle .

De telles études ont en particulier été réalisées par MORRISSEY (63) et BAIER (11) pour l'adsorption de protéines du sang.

GENDREAU (14,18) et WINTERS (15) ont déterminé par FTIR-ATR l'évolution en fonction du temps de la composition d'un dépôt sanguin sur un cristal de germanium. Mais ces études n'ont pas apporté d'informations sur les interactions spécifiques protéines-substrats.

LIEDBERG (38,66) par analyse IR par réflexion a par contre expliqué l'adhésion de plusieurs acides aminés (glycine, L-phénylalanine et L-histidine) sur des surfaces d'or et de cuivre : selon cet auteur l'adhésion résulte de la formation de liaisons entre les groupements ioniques de l'acide aminé et les métaux.

Enfin, des études en IR par absorption ont été menées sur des poudres de silice sur lesquelles ont préalablement été adsorbées différentes molécules organiques (benzène, diéthyléther, acétone, cyclopentanone...) (67,68,71,73-75). Ces analyses indiquent que l'adsorption est due à un transfert électronique entre l'hydrogène des groupements silanols présents en surface de la silice et les électrons délocalisés des molécules organiques (électrons présents dans les liaisons  $\pi$ , noyaux benzéniques ou paires d'électrons libres). L'existence de ces liaisons a été mise en évidence par les déplacements en fréquence des bandes caractérisant le groupement OH de Si-OH.

### III Etude par spectroscopie Raman

En spectroscopie Raman, les échantillons sont excités par une lumière monochromatique de haute énergie qui est en partie absorbée ou réfléchiée par l'échantillon et en partie diffusée. Cette dernière est analysée par le spectromètre.

Comme en spectroscopie infra-rouge, la radiation incidente a pour effet de provoquer des vibrations de liaisons qui énergétiquement se traduisent par des transitions dans les niveaux d'énergie vibrationnelle. Le retour à l'équilibre, après excitation peut se faire de trois manières (Fig. III.4.).

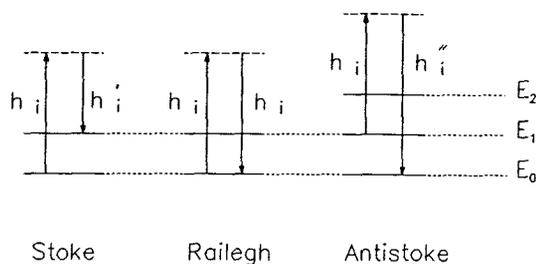


Figure III.4. : Principe de la diffusion Raman.

- retour sur le niveau initial (raie Rayleigh)
- retour sur un niveau stationnaire d'énergie supérieure à celle du niveau incident (raie Stokes). Il y a alors absorption d'énergie.
- retour sur un niveau stationnaire d'énergie inférieure au niveau initial. Il y a alors émission d'énergie (raie Anti-Stokes).

La différence d'énergie peut être d'origine électronique, vibrationnelle, rotationnelle ou translationnelle, mais la spectroscopie Raman traditionnelle ne considère pas la contribution électronique.

La plus grande partie des photons émis après excitation sont diffusés sans changement de longueur d'onde. Ils constituent la raie Rayleigh. Les autres photons (raie Stokes et Anti-Stokes) sont émis avec un changement de fréquence et l'ensemble de ces changements est caractéristique des molécules constituant le milieu diffusant. En outre, ces écarts sont indépendants de la radiation incidente.

Ainsi comme l'IR, le Raman est une spectroscopie vibrationnelle, mais les règles de sélection sont différentes. En Raman, une vibration est active si elle s'accompagne d'une variation de la polarisabilité de la liaison correspondante. Ainsi, ces deux spectroscopies apportent des informations complémentaires, et pour des molécules totalement assymétriques, elles fournissent des spectres similaires.

Comme l'IR, la spectroscopie Raman est donc très intéressante pour l'analyse de molécules complexes car elle fournit un spectre présentant des raies caractéristiques des différents types de liaisons de la molécule. De plus, la fréquence des raies dépendant de la force de la liaison, leurs déplacements peuvent fournir des informations sur les modifications conformationnelles et sur l'existence d'interactions avec d'autres atomes ou liaisons. Il est également possible de faire des études en lumière polarisée ce qui permet d'obtenir des renseignements sur l'orientation des liaisons. Pour des informations complémentaires concernant la spectroscopie Raman, on se réfèrera à l'annexe 3.

En pratique, deux types d'appareils sont utilisés en Raman :

- Les appareils classiques qui permettent d'analyser localement les échantillons sur une surface d'1 mm<sup>2</sup>,
- les appareils de micro-Raman qui sont munis d'un microscope, ce qui permet d'analyser des surfaces de l'ordre du µm<sup>2</sup> et de sélectionner la zone d'étude. En outre, dans l'étude d'échantillons épais, il est possible de se positionner sur des points situés à des profondeurs variables.

Ainsi, cette technique est très adaptée à l'analyse de dépôts hétérogènes, car elle permet de bien se focaliser sur les dépôts et en même temps il est possible d'étudier l'évolution de la composition et de la structure des dépôts au fur et à mesure que l'on s'éloigne du substrat. Cette possibilité d'analyse locale en un point choisi est un avantage majeur que ne présentent pas la plupart des montages en spectroscopie infra-rouge. Ceci compense le fait que le signal Raman émis par un produit est souvent plus faible que le signal infra-rouge.

Un autre intérêt de cette technique est qu'elle ne nécessite pas de préparation spéciale des échantillons et qu'il est possible d'étudier des dépôts sur beaucoup de substrats massifs et notamment les verres. Ceci n'est pas le cas en IR par absorption (Il faut des poudres, des couches fines ou des solutions.), en IR par réflexion diffuse (Il faut des substrats qui réfléchissent l'I.R..) et en IR par réflexion interne (Il faut un substrat d'indice de réfraction élevé.).

Néanmoins pour les études d'adsorption de protéines ou acides aminés sur surfaces minérales, les spectroscopies Raman et micro-Raman ont rarement été utilisées. Ces techniques ont essentiellement été appliquées jusqu'alors, à la caractérisation des protéines en solution ou sous forme solide.

#### IV Choix d'une méthode analytique

Au cours d'essais préliminaires, nous avons utilisé les spectroscopies évoquées auparavant (XPS, FTIR-ATR, Raman, micro-Raman), afin d'en comparer les performances dans le cadre de notre travail.

Pour cela, nous avons réalisé des analyses d'un dépôt épais de lactosérum préparé sur des échantillons de verre Pyrex, de vitrocéramique Vision et Vision déco (le protocole expérimental d'adsorption est celui utilisé pour l'adsorption d' $\alpha$ -Lactalbumine. Il est décrit plus en détail au ch. III.C.1.).

L'analyse XPS de ce dépôt ne nous a pas apporté d'informations précises essentiellement à cause du problème suivant : l'identification de l'environnement chimique d'un élément et donc la connaissance de la liaison dans laquelle il est impliqué est faite par mesure de l'énergie cinétique des photoélectrons émis. Cette valeur varie généralement de quelques électrons volts (eV) ou dixièmes d'eV quand l'environnement chimique est modifié. Mais dans le cas d'analyses sur verres, la valeur de  $E_c$  est généralement faussée car les verres étant mauvais conducteurs, la vitesse d'émission (et donc  $E_c$ ) des photoélectrons est modifiée, souvent réduite, dans une proportion équivalente aux variations résultant de la modification de l'environnement chimique. Ainsi dans le cas d'analyses sur verres, il est difficile d'identifier les liaisons de macromolécules adsorbées.

. L'oxyde de nickel est préparé au laboratoire par oxydation de plaques de nickel (Aldrich Chemical Company Inc., Ref. 26701-5, Pureté = 99,997 %) de 1 mm d'épaisseur et de 25 mm de côté. Ces plaques nettoyées suivant le protocole de type 5 exposé au Chapitre II - 2e partie, sont oxydées par chauffage à 800°C pendant 1 heure dans un four à Moufle (montée et refroidissement lents en température). Les échantillons oxydés sont ensuite rennettoyés selon le protocole de type 5. Une analyse en SEM-EDXA réalisée à différentes tensions accélératrices montre que seule la surface des plaquettes est oxydée. A forte profondeur ( $E_i = 30 \text{ keV}$ ), le signal de l'oxygène est faible par rapport à celui de Ni mais à faible tension accélératrice ( $E_i = 8 \text{ keV}$ ), le spectre EDXA est analogue à celui d'un étalon de NiO.

. La calcite, l'une des formes cristallines de  $\text{CaCO}_3$  (Fig. III.5.) appartient au groupe d'espace  $D_{3h}$ . Les échantillons nous ont été fournis par la Compagnie Générale de Madagascar (75009 PARIS) sous forme de blocs de spaths d'Islande de dimensions n'excédant pas 5 cm x 5 cm x 5 cm, que nous avons ensuite réduits en les cassant selon les directions des plans de clivages ce qui permet d'obtenir des surfaces planes sur des blocs de dimensions inférieures à 3 cm x 2 cm x 2 cm. Ceux-ci ont subi également le nettoyage de type 5 appliqué aux plaques de NiO.

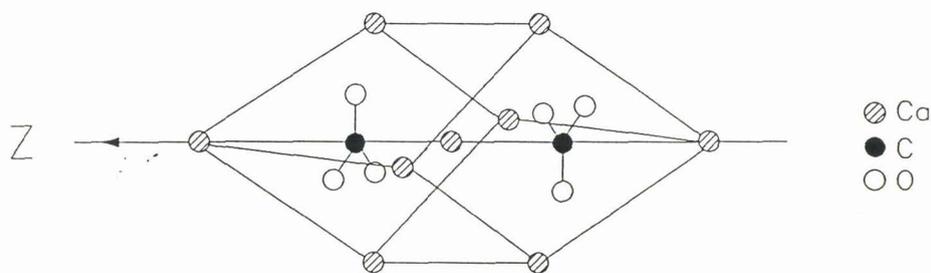


Figure III.5. : Représentation du réseau cristallographique de la calcite.

Les trois autres substrats sont le verre Pyrex et les deux vitrocéramiques Vision et Vision déco. Pour les mesures de pH, nous utilisons des plaques de 5 cm x 5 cm x 1 cm et pour les études d'adsorption des disques de 2 mm d'épaisseur et de 13 mm de diamètre. Tous ces échantillons sont nettoyés comme la calcite et NiO.

## B ETUDE DE L'ADHESION DE MOLECULES SIMPLES, ACIDE OU BASIQUE, SUR SURFACES MINERALES ACIDES OU BASIQUES.

Comme nous l'avons dit en introduction, la théorie des interactions acide-base semble souvent expliquer l'adhésion des acides aminés sur surfaces minérales. Les protéines étant constituées d'acides aminés et surtout portant de telles fonctions acido-basiques, leur adhésion sur surfaces acido-basiques pourrait donc être du même type que celle des acides aminés.

Aussi dans un premier temps, nous allons étudier l'adsorption d'un acide carboxylique et d'une amine sur différents substrats minéraux (Pyrex, Vision, NiO, CaCO<sub>3</sub>) afin :

- de voir si la théorie des interactions acide-base peut s'appliquer aux surfaces de Pyrex et Vision.
- de déterminer quels sont les groupements qui interviennent dans l'adsorption et quelles liaisons sont éventuellement formées entre la molécule organique et le substrat.

Ce second point est très important car la majorité des fonctions acides et basiques des protéines sont des fonctions carboxyliques ou amines. Ainsi, il sera intéressant de comparer, entre les molécules simples et les protéines, l'évolution, du fait de l'adsorption, des raies Raman caractérisant ces fonctions.

### I Appareils et méthodes

#### 1 Choix et préparation des substrats

Les matériaux vitreux étant généralement acides (ce qui sera vérifié pour Pyrex, Vision et Vision déco dans le prochain paragraphe), nous avons choisi d'utiliser deux matériaux à caractère basique afin d'étudier plus complètement les interactions acide-base. Ces matériaux sont l'oxyde de nickel et le carbonate de calcium sous forme de calcite.

L'analyse en spectroscopie infra-rouge par absorption a rapidement été écartée car les substrats que nous utilisons absorbent l'infra-rouge entre 200 et 2000  $\text{cm}^{-1}$ , région où se situe toutes les raies permettant l'étude des protéines.

L'analyse en IR par réflexion interne a également été écartée pour plusieurs raisons :

- Pour obtenir le phénomène de réflexion interne, il faut utiliser un cristal réfléchissant contre lequel doivent être plaqués les échantillons à analyser. Il faut donc tout d'abord obtenir un très bon contact qui est souvent difficile à établir.

- Pour obtenir un signal suffisamment intense il faut ensuite adapter l'angle d'incidence, qui donc est rarement le même, quand on passe d'un échantillon à un autre. Or cette variation d'angle entraîne un décalage artificiel en fréquence alors que ces décalages caractérisent normalement les modifications des forces de liaisons et donc sont très importants dans l'étude des interactions. Ici, ces informations ne sont donc plus disponibles.

La troisième spectroscopie que nous avons utilisée est le Raman.

En Raman, nous avons tout d'abord étudié un dépôt protéique non pas in-situ mais retiré des surfaces par grattage. L'analyse de la poudre nous a fourni un spectre faible et mal résolu. Ce manque d'intensité est dû en grande partie à la faiblesse des signaux Raman émis par les protéines.

En micro-Raman, grâce au microscope dont est équipé l'appareil, nous avons pu nous focaliser sur un point où du produit s'était effectivement déposé, ce qui n'est pas possible en Raman standard. D'autre part comme le spectromètre est alors un appareil multicanal, le spectre obtenu par accumulation est bien résolu et il est caractéristique des protéines du lactosérum. Cette technique, facile d'utilisation, adaptée à l'étude in-situ de dépôts hétérogènes sur verres, est donc la seule, parmi les techniques testées, qui nous a permis d'identifier les protéines. Nous l'avons donc choisie pour l'étude des interactions protéines-verres.

*Remarque* : les disques et les plaques de verres et vitrocéramiques proviennent d'ustensiles de cuisine et elles sont réduites à l'épaisseur voulue par polissage mécanique. Ces échantillons présentent donc une face rugueuse (face polie) que nous n'étudions pas et une face plane qui est brute de formage.

## 2 Mesures de pH des surfaces

Ces mesures sont réalisées pour déterminer approximativement le pH des substrats que nous étudions, afin surtout d'établir un classement du point de vue pH et afin de savoir si ces surfaces sont acides ou basiques.

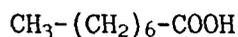
Pour cela, nous appliquons la méthode décrite notamment par BENESI (59) qui utilise une série d'indicateurs colorés que nous déposons en fine couche sur les surfaces nettoyées. La réaction étant limitée à l'interface substrat-indicateurs, il est nécessaire de déposer une très fine couche pour être capable de voir les variations de couleur. Cette méthode qui ne donne qu'une évaluation du pH a l'avantage d'être très simple et très rapide à mettre en oeuvre.

Les mesures sont réalisées sur les échantillons nettoyés selon le protocole de type 5, en déposant un peu d'indicateur coloré à l'aide d'une pipette Pasteur. Nous utilisons quatre indicateurs colorés, préparés suivant le protocole indiqué dans le Handbook of Chemistry and Physics (92). Il s'agit du vert de Bromocrésol, du rouge de méthyle, du pourpre de Bromocrésol et du bleu de Bromothymol.

## 3 Préparation des solutions d'adsorptions

L'acide carboxylique et l'amine que nous utilisons pour cette étude sont l'acide octanoïque et l'octylamine.

. acide octanoïque : pKa = 4.89 (25°C) (Merck Réf. = 193 - Pureté = 99 %)



. octylamine : pKa = 10,65 (25°C) (Merck Réf. 806917 - Pureté > 98 %)



Les solutions utilisées pour l'adsorption de ces deux produits, sont des

solutions à 1 % en volume dans de l'eau bidistillée.

#### 4 Adsorption

L'adsorption est réalisée à température ambiante ( $T = 20^{\circ}\text{C}$ ) pendant 1 heure, les échantillons étant déposés sur une grille placée dans un bécher contenant 100 ml de la solution d'adsorption. Afin d'éviter les risques de contamination, les échantillons vitreux, NiO et  $\text{CaCO}_3$  sont placés dans trois béchers différents.

##### Nettoyage après adsorption :

Après adsorption, les échantillons sont mis à plat sur une grille dans un bécher contenant de l'eau bidistillée. L'eau est changée toutes les 10 min pendant les 30 premières minutes, puis toutes les 30 min, jusqu'à avoir la tension de surface de l'eau de rinçage égale à la tension de surface de l'eau bidistillée. Généralement le nettoyage dure 1 heure. Après rinçage à l'eau, les échantillons sont stockés dans les boîtes de Pétri et mis à sécher à l'étuve à  $56^{\circ}\text{C}$ .

#### 5 Etude des interactions

L'étude des interactions est réalisée en micro-Raman sur un spectromètre multicanal de la société DILOR, le OMARS 89 (DILOR-59000 LILLE), que nous présentons plus en détail en annexe 3. Les spectres des substrats propres sont également obtenus sur cet appareil. Dans chaque cas, les échantillons massifs sont déposés sous le microscope sur une lame de microscope et l'analyse est réalisée après focalisation sur un point particulier de la surface.

La source excitatrice est la raie verte monochromatique de l'Argon ( $\lambda = 5145 \text{ \AA}$ ) fournie par un laser (Spectraphysics - LES ULIS - FRANCE). Les analyses sont effectuées avec une puissance laser variable, dépendant de la stabilité des échantillons étudiés ( $P = 50 - 300 \text{ mW}$ ). Mais la puissance réelle au niveau de l'échantillon est plus faible car le faisceau laser suit un trajet optique au cours duquel il subit des pertes d'intensité. La puissance

réelle est en fait de 7 mW pour 100 mW de puissance initiale du laser, avec l'objectif optique que l'on utilise. Cet objectif est un Olympus de grossissement 100 (Réf. 105385).

Les analyses sont réalisées sans utilisation de filtres interférentiels. L'ouverture des fentes est de 300  $\mu\text{m}$ .

Les spectres sont obtenus par accumulation afin d'obtenir un bon rapport signal/bruit, chaque analyse durant un temps  $t_i$ , temps d'intégration qui varie de 2 à 5 s. En outre, entre chaque analyse, l'appareil enregistre pendant un même temps  $t_i$ , pendant lequel l'échantillon n'est pas irradié, un signal résiduel qui est ensuite soustrait du signal global émis par excitation de l'échantillon.

Pour l'étude d'échantillons liquides tels que les solutions pures d'acide octanoïque et d'octylamine, nous utilisons un spectromètre Raman (T-800 - DILOR), et les solutions sont placées dans des capillaires en verres. Ces échantillons donnant un signal intense, les spectres sont obtenus sans accumulation. D'autre part, à la différence des analyses sur OMARS où les spectres sont obtenus par zones successives couvrant chacune une région spectrale de 400-500  $\text{cm}^{-1}$  de largeur, en Raman standard, le spectre s'obtient par un balayage lent de la gamme de fréquence choisie. Les conditions d'analyses exactes (Puissance, ouverture des fentes...) seront précisées pour chaque spectre.

## II Résultats

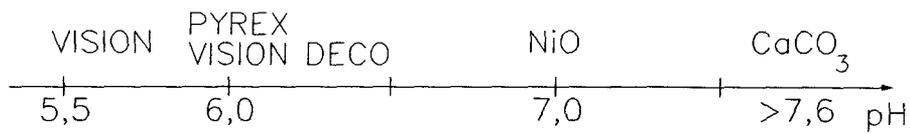
### 1 pH des surfaces

Les observations réalisées pour les différents substrats et indicateurs colorés sont résumées dans le tableau III.1.

	Vert de Bromocrésol	Rouge de méthyle	Pourpre de Bromocrésol	Bleu de Bromothymol
VISION	bleu	rouge-jaune	jaune(-poupre)	jaune
PYREX	bleu	jaune	jaune-pourpre	jaune(-bleu)
VISION DECO	bleu	jaune	jaune-pourpre	jaune(bleu)
NiO	bleu	jaune	pourpre	jaune-bleu
CaCO <sub>3</sub>	bleu	jaune	pourpre	bleu

Tableau III.1. : Mesure de pH des substrats.

Ces observations et la connaissance des zones de virage nous permet de classer les substrats par acidité croissante et d'évaluer le pH de leur surface :



Les matériaux vitreux sont donc acides, la calcite est basique et NiO est plutôt neutre.

## 2 Analyse Raman des substrats

Les spectres Raman des substrats sont réalisés sur le OMARS 89. Nous ne présentons ici que le spectre du verre Pyrex et de la calcite (Figs. III.6-7.). Le spectre de NiO ne présente qu'une large bande ( $\Delta\bar{\nu} = 50 \text{ cm}^{-1}$ ) centrée sur  $570 \text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la liaison Ni-O. et ceux de Vision et Vision déco sont identiques, entre eux et ne présentent qu'une large bande centrée vers  $450 \text{ cm}^{-1}$ . Le spectre de Pyrex, mieux résolu (Fig. III.6.) présente les raies suivantes (tableau III.2.):

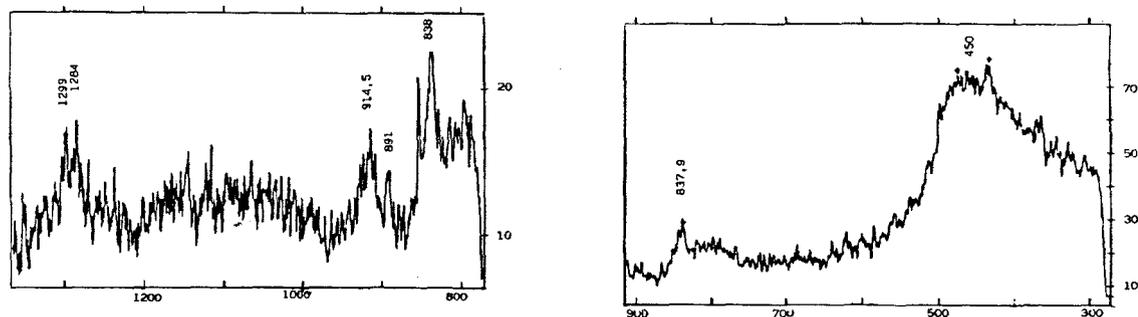


Figure III.6. : Spectre Raman du verre Pyrex entre 350  $\text{cm}^{-1}$  et 1320  $\text{cm}^{-1}$  .

nombres d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	I	attributions
1296	m NP	$\nu$ B-O(?) (125)
946	f NP	$\nu$ Si-O-H (126)
914	m NP	$\nu$ Si-O-B (126)
839	F NP	$\nu$ , Si-O-Si (127)
795	f NP	[SiO <sub>4</sub> ] (126)
450	msf - m P	$\delta$ O-Si-O (125)
		$\delta$ Si-O-Si (125)

Tableau III.2. : Raies Raman du verre Pyrex.

Remarque : La raie à 839  $\text{cm}^{-1}$  peut être attribuée à une vibration symétrique des liaisons Si-O-Si selon BERTOLUZZA et al. (127), dans les tétraèdres de SiO<sub>4</sub> (126).

Liste des abréviations utilisées dans les tableaux III.2. à III.17. :

- . s = symétrique, a = assymétrique.
- . tF = très fort, F = fort, m = moyen, f = faible, tf = très faible.
- . msf = massif, sh = épaulement.
- . P = polarisée, NP = non polarisée.
- .  $\delta$  = vibration de déformation,  $\nu$  = vibration de valence,  $\nu_w$  = vibration de "wagging",  $\nu_t$  = vibration de torsion.
- . AI = amide I, AII = amide II, AIII = amide III.
- . hp = hors du plan, dp = dans le plan.
- . Tyr = Tyrosine, Phé = Phénylalanine, Trp = Tryptophane.

. Pour la calcite (Fig. III.7.), nous obtenons un spectre très bien résolu qui présente les raies suivantes (tableau III.3.) :

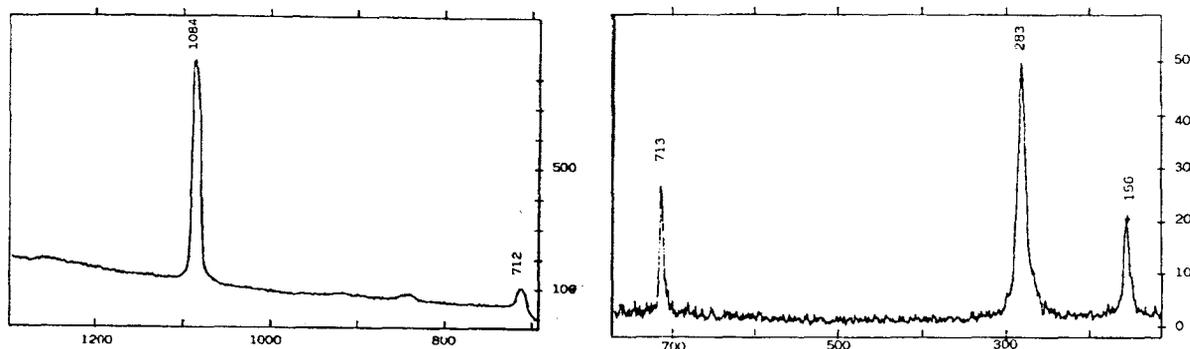


Figure III.7. : Spectre Raman de la calcite entre 100  $\text{cm}^{-1}$  et 1400  $\text{cm}^{-1}$ .

nombres d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	I	attributions
1084	tF	$\nu_s \text{CO}_3^{2-}$ (128)
713	m	$\delta \text{CO}_3^{2-}$ (128)
283	m	] mouvements de translation et rotation de $\text{CO}_3^{2-}$
156	F	

Tableau III.3. : Raies Raman de  $\text{CaCO}_3$  (calcite).

### 3 Interactions acide octanoïque-surfaces minérales

#### a Analyse Raman de l'acide octanoïque

Le spectre Raman de l'acide octanoïque, réalisé sur le T800 est présenté figure III.8. (annexe 1). La source excitatrice est la raie verte de l'Argon ( $\lambda = 5145 \text{ \AA}$ ) et la puissance laser est de 200 mW. Sur les figures III.9. - III.11. (annexe 1), nous présentons plus en détail trois zones de fréquence, extraites du spectre global. Dans le tableau III.4., nous indiquons les raies observées avec leur nombre d'ondes et les attributions proposées.

nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	Attributions (129)	nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	Attributions (129)
2931	F	$\nu_{\text{OCH}_3}$	1065	m	C - C
2911	F	$\nu_{\text{OCH}_2}$	1040	m	
2874	F	$\nu_{\text{CH}_3}$	1000	sh	C - C
2857	F	$\nu_{\text{CH}_2}$	890	F	C - C - H (CH <sub>3</sub> )
2725	m	$\nu_{\text{OH}}$ (OH liés)?	837	F	
1655	F	$\nu_{\text{C}=\text{O}}$	789	f	
1444	tF	$\delta$ (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )	733	f	
1420	f - sh	$\nu_{\text{C}-\text{O}}$	722	f	
1305	tF	$\nu_{\text{C}-\text{O}}$ couplée avec $\delta_{\text{OH}}$	600	f large	
1174	f	C - C - H (CH <sub>3</sub> )	400	f large	C - C - C
1126	tF	C - C et C - C - H (CH <sub>3</sub> )	315	sh	C - C - C
1075	m		260	msf-m	

Tableau III.4. : Raies Raman de l'acide octanoïque (liquide, pur à 99%)

La région de 200 à 1200 cm<sup>-1</sup> présente un grand nombre de raies qui correspondent aux vibrations de la chaîne carbonée. Les raies caractérisant la fonction carboxylique, groupement qui nous intéresse plus spécialement, apparaissent entre 1250 et 1800 cm<sup>-1</sup>.

**b Etude Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur surfaces acide (Pyrex, Vision, Vision déco)**

L'observation au microscope du spectromètre, des échantillons de Pyrex, Vision et Vision déco sur lesquels ont été réalisés les essais d'adsorption d'acide octanoïque, montre qu'il n'y a pas ou très peu de dépôts. D'autre part, les spectres obtenus en micro-Raman en se focalisant en différents points de ces échantillons, sont identiques aux spectres des substrats propres. Ainsi, nous pouvons supposer que l'acide octanoïque ne s'adsorbe pas sur ces surfaces.

## c Adsorption sur NiO

Nous présentons sur les figures III.12a-c. (annexe 1), le spectre de l'acide octanoïque adsorbé sur NiO. Cette analyse a été réalisée sur le bord d'un grain épais observé sur la surface de NiO et donc en un endroit où le dépôt est fin. Le spectre présente les raies suivantes (tableau III.5.) :

nombres d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	I	attributions
2980	F	$\nu_0$ ( $\text{CH}_3$ )
2944	F	$\nu_0$ ( $\text{CH}_2$ )
1508	msf - F	$\nu_0$ ( $\text{CO}_2^-$ )
1460	sh	$\delta$ ( $\text{CH}_2, \text{CH}_3$ )
1291	f	$\nu$ C - O (?)
1080	msf - F	
966	m	
909	f	
891	f	vibration du squelette
836	m	C - C - H ( $\text{CH}_3$ )

Tableau III.5. : Raies Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur NiO.

La région comprise entre 200 et 800  $\text{cm}^{-1}$  ne présente que le massif caractérisant NiO. Dans les autres régions, on constate que le spectre Raman de l'acide a été notablement modifié du fait de l'adsorption.

Les raies caractérisant les vibrations du squelette et comprises entre 1000 et 1175  $\text{cm}^{-1}$  dans le spectre de l'acide semblent apparaître après adsorption sous forme d'un massif de forte intensité centré sur 1080  $\text{cm}^{-1}$ . D'autre part, une nouvelle raie est apparue à 909  $\text{cm}^{-1}$  qui pourrait provenir d'un déplacement vers les hautes fréquences de la raie située à 890  $\text{cm}^{-1}$  dans l'acide. Ces déplacements en fréquence des raies de vibration du squelette indique une modification des forces de liaisons dans la chaîne carbonée qui peut notamment s'expliquer par un changement de la conformation spatiale.

Les autres raies caractérisant les vibrations de liaison de la chaîne carbonée, situées dans la région de 2900  $\text{cm}^{-1}$  sont également affectées par l'adsorption: les vibrations symétriques de valence des liaisons C-H pour  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$  ont diminué d'intensité. D'autre part, les raies des vibrations

assymétriques correspondantes ont été déplacées vers les hautes fréquences ce qui indique un accroissement de la force des liaisons C-H dû à un transfert électronique vers ces liaisons.

L'autre point important est la disparition des raies correspondant aux vibrations du groupement carboxyle ( $\nu$  C=O à  $1655\text{ cm}^{-1}$  et  $\nu$  C-O à  $1300$  et  $1420\text{ cm}^{-1}$ ), alors qu'apparaît une bande large centrée sur  $1500\text{ cm}^{-1}$  qui pourrait correspondre à la vibration de valence assymétrique du groupement O-C-O d'un ion carboxylate ( $\text{CO}_2^-$ ), dont la densité électronique serait affaiblie du fait d'une interaction avec un composé électro-accepteur. En effet, la raie de la vibration  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$  est située entre  $1610$  et  $1550\text{ cm}^{-1}$  habituellement, mais la présence d'un contre-anion électro-attracteur a pour effet de la déplacer vers les basses fréquences. D'autre part, l'absence de la raie caractérisant la vibration symétrique située normalement vers  $1400\text{ cm}^{-1}$  peut s'expliquer par une orientation spécifique de l'ion carboxylate par rapport au vecteur champ électrique du polariseur.

#### d Adsorption sur $\text{CaCO}_3$

Le spectre de l'acide octanoïque adsorbé sur calcite est présenté figure III.13. L'analyse est réalisée sur le OMARS 89 avec une puissance laser de  $40\text{ mW}$ , sur un dépôt épais (de l'ordre de  $1\text{ }\mu\text{m}$  d'épaisseur). Les raies de ce spectre sont regroupées dans le tableau III.6.

Comme lors de l'adsorption sur  $\text{NiO}$ , on peut supposer que la symétrie et les mouvements de la chaîne carbonée ont été modifiés car les raies caractérisant les vibrations correspondantes ont varié d'intensité et ont été déplacées en fréquence. Ainsi les raies intenses situées à  $837$  et  $890\text{ cm}^{-1}$  dans le spectre de l'acide en solution, ont ici disparu et celle située à  $1125\text{ cm}^{-1}$  semble avoir été déplacée vers  $1150\text{ cm}^{-1}$ .

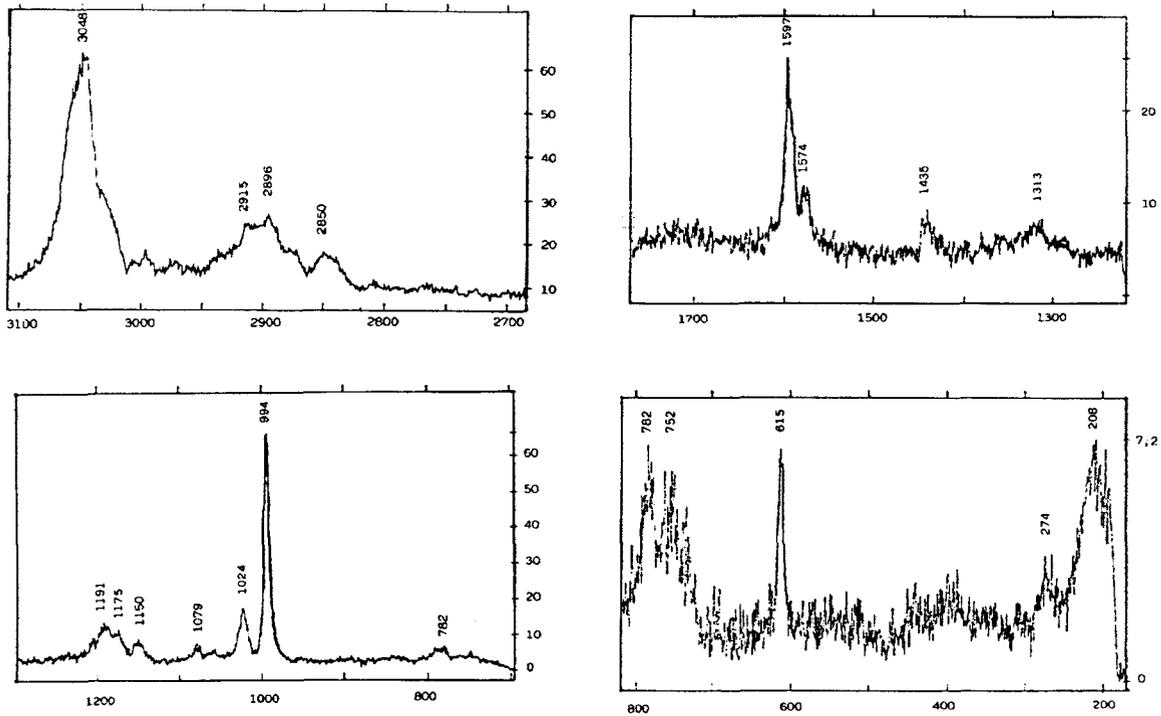


Figure III.13. : Spectre Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur calcite

nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	Attributions	nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	Attributions
3048	tF	$\nu_s \text{CH}_3$	1150	m	vibration du squelette
2915	msf - F	$\nu_s \text{CH}_2$	1079	m	CaCO <sub>3</sub>
2896	msf - F	$\nu_s \text{CH}_2$	1058	f	vibration du squelette
2877	f - sh	$\nu_s \text{CH}_3$	1024	F	squelette carboné ?
2850	msf - m	$\nu_s \text{CH}_2$	994	tF	?
1597	m	$\nu_s \text{C=O (CO}_2^- \text{ ?)}$	782	m	squelette carboné
1574	f - sh		752	m	squelette carboné
1435	f	$\delta (\text{CH}_2, \text{CH}_3)$	615	m	squelette carboné
1313	f	$\delta \text{ C-O}$	400	f - large	C - C - C
1191	msf - F	vibration du squelette	274	f	CaCO <sub>3</sub>
1175	m	vibration du squelette	208		?

Tableau III.6. : Raies Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur CaCO<sub>3</sub>

D'autre part, les raies caractérisant  $\nu_a(\text{CH}_3)$ ,  $\nu_s(\text{CH}_3)$  et  $\nu_s(\text{CH}_2)$  ont diminué d'intensité suggérant que ces vibrations sont modifiées du fait d'une structure plus rigide. D'autre part, une raie apparaît à  $2896 \text{ cm}^{-1}$  qui pourrait caractériser une vibration  $\nu_a$  d'un groupement  $\text{CH}_2$  pour lequel les forces des liaisons C-H auraient diminué (déplacement vers les basses fréquences) du fait d'une diminution de la densité électronique.

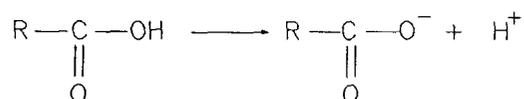
Mais surtout, nous constatons là encore que les raies caractérisant le groupement carboxylique ( $1655$  et  $1300 \text{ cm}^{-1}$ ) ont disparu alors qu'apparaît une raie forte à  $1597 \text{ cm}^{-1}$  qui peut là aussi être attribuée à la vibration de valence assymétrique du groupement O-C-O d'un ion carboxylate ( $\text{CO}_2^-$ ) (129) alors que la vibration symétrique semble ici encore interdite.

Les deux raies situées à  $3048$  et  $994 \text{ cm}^{-1}$  n'ont pu être attribuées.

#### e Discussion des résultats d'analyse Raman

Selon la théorie de l'adsorption par liaisons de type acide-base, l'adsorption de molécules de caractère acide est impossible ou très faible sur surfaces acides, mais possible sur surfaces basiques. Nous constatons cela ici, puisque l'acide octanoïque s'adsorbe sur NiO et  $\text{CaCO}_3$  qui ont un caractère basique alors qu'il n'y a pas adsorption sur les surfaces acides de Pyrex, Vision et Vision déco.

D'autre part, il semble que du fait de l'adsorption, le groupement acide de l'acide octanoïque se transforme en un ion de type carboxylate, consécutivement à la perte de l'hydrogène acide :

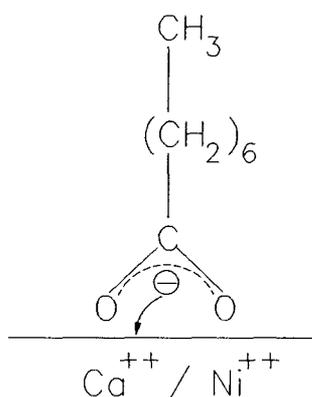


Cette perte d'un proton peut s'expliquer par une réaction avec la surface basique de  $\text{CaCO}_3$  ou de NiO. Dans le cas de la calcite, le caractère basique est en fait déterminé par  $\text{CO}_3^{2-}$  et pour NiO par l'oxygène alors que  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  ont un caractère acide au sens de LEWIS, car ils présentent des vacances électroniques.

Ainsi, si  $\text{CO}_3^{2-}$ , ou l'oxygène de NiO réagissent avec le proton acide de l'acide octanoïque en lui transférant un électron, la déficience en électrons de  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  sera accrue et donc leur caractère attracteur d'électrons.

Dans ces conditions, une interaction de type acide-base avec l'ion carboxylate est probable et expliquerait la disparition des raies Raman caractérisant le groupement carboxylique.

Suivant ce cas de figure, nous aurions donc le schéma d'interaction suivant (Fig. III.14.) :



**Figure III.14.** : Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction, entre l'acide octanoïque et,  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{NiO}$ .

Ce schéma peut s'appliquer à l'adsorption sur  $\text{NiO}$  et  $\text{CaCO}_3$ . D'autre part, nous avons vu que dans le cas de  $\text{NiO}$ , le contre anion de l'ion carboxylate devait être très électro-attracteur (fort déplacement vers les basses fréquences de  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$ ). Suivant le mécanisme proposé, cela est vérifié. En effet,  $\text{Ni}^{++}$ , possédant des orbitales d vacantes (structure électronique de  $\text{Ni}^{++}$  :  $4s^23d^6$ ), il est acide au sens de LEWIS, beaucoup plus que  $\text{Ca}^{++}$  qui a une structure électronique stable (pas d'orbitales vacantes). Ceci se retrouve d'ailleurs dans le fait que  $\text{NiO}$  est plus acide que  $\text{CaCO}_3$ . Ainsi, le transfert d'électrons de l'ion carboxylate vers  $\text{Ni}^{++}$  est plus important que vers  $\text{Ca}^{++}$ , ce qui signifie que la liaison avec l'oxyde de nickel est plus covalente qu'avec la calcite.

Ce transfert électronique vers la surface va par contre-coup appauvrir en électrons, le carbone du groupement  $\text{CH}_2$  adjacent au groupement  $\text{CO}_2^-$ . Ceci entraîne une diminution de la densité électronique de la liaison C-H correspondante et donc de sa force de liaison. Nous l'observons expérimentalement puisque les spectres Raman de l'acide octanoïque adsorbé présentent une raie caractérisant une vibration  $\nu_a \text{CH}_2$  déplacée vers les basses fréquences.

Pour déterminer l'orientation la plus probable de la molécule par rapport à la surface, on doit considérer les vibrations de valence de  $\text{CO}_2^-$  qui se composent d'une vibration symétrique ( $\nu_s$ ) et d'une vibration assymétrique ( $\nu_a$ ) pour lesquelles l'intensité de la raie Raman dépend de l'orientation de la molécule.

Selon les attributions des tableaux III.5. et III.6.,  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$  est intense mais  $\nu_s(\text{CO}_2^-)$  n'apparaît pas. Pour ce groupement, trois positions extrêmes par rapport à la surface sont envisageables (Figs. III.15.a-c.).

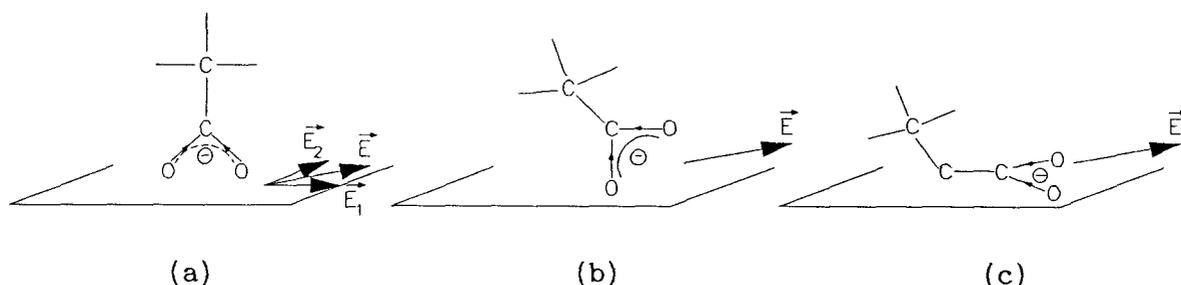


Figure III.15. : Orientations possibles de  $\text{CO}_2^-$  (acide octanoïque) par rapport à la surface des substrats.

Remarque :  $\vec{E}$  est la combinaison de  $\vec{E}_1$  et  $\vec{E}_2$  qui sont les vecteurs champs électriques (situés dans le plan du substrat) correspondant aux deux cas extrêmes de polarisation (cf. annexe 3).

. 1er cas - chaîne perpendiculaire à la surface (a) :

Suivant les règles de sélection des vibrations en Raman (130), la vibration  $\nu_s(\text{CO}_2^-)$  schématisée par deux flèches pointées dans la même direction, sera dans ce cas active alors que  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$  est inactive ou très faiblement active. En effet, la vibration  $\nu_s$  provoque une déformation du nuage électronique et donc de la polarisabilité du groupement  $\text{CO}_2^-$ , selon la composante  $\vec{E}_1$  du vecteur  $\vec{E}$ , ce qui rend cette vibration active. Par contre, la vibration  $\nu_a$  provoque plutôt un déplacement de ce nuage mais ne le déforme pas ou très peu. Ainsi  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$  n'entraîne pas de variation de la polarisabilité et donc est inactive.

. 2e cas - une liaison C-O parallèle à la surface et une liaison C-O perpendiculaire à la surface (b).

Suivant ce cas de figure, seules les composantes des vibrations  $\nu_a$  et  $\nu_s$ , parallèles à la surface sont actives et elles le sont toutes deux de façon équivalente.

. 3e cas - ion carboxylate dans le plan de la surface (c).

Suivant la composante  $\vec{E}_1$  de  $\vec{E}$ , la vibration  $\nu_s(\text{CO}_2^-)$  est inactive ou faiblement active alors que  $\nu_a$  est active. Suivant  $\vec{E}_2$ , nous avons le cas contraire ( $\nu_a$  faible,  $\nu_s$  forte).

L'examen de ces trois cas de figure montre donc que seul le troisième cas s'accorde aux observations expérimentales. Ainsi, il semblerait que l'ion carboxylate soit parallèle au plan de la surface ( $\nu_a(\text{CO}_2^-)$  active,  $\nu_s(\text{CO}_2^-)$  inactive). Cette situation est peu favorable car l'encombrement stérique est important mais il correspond à une interaction maximale entre le nuage électronique de  $\text{CO}_2^-$  et les cations de surface ( $\text{Ni}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ), ce qui pourrait expliquer cette configuration.

#### 4 Interactions octylamine-surfaces minérales

##### a Analyse Raman de l'octylamine

Le spectre Raman (Fig. III.16. - annexe 1) est obtenu comme celui de l'acide octanoïque sur le T-800, le produit pur étant placé dans un capillaire en verre. La source excitatrice est la raie verte de l'Argon, la puissance laser est de 225 mW, l'ouverture des fenêtre est de 300  $\mu\text{m}$ . Les raies caractéristiques de l'octylamine sont présentées dans le tableau III.7..

Des raies caractéristiques de la fonction amine, nous n'observons que la raie à 1079  $\text{cm}^{-1}$ . Les raies des vibrations de la liaison NH ( $\nu$  NH vers 3390 et 3330  $\text{cm}^{-1}$ ) et  $\delta$   $\text{NH}_2$  (entre 1590 et 1650  $\text{cm}^{-1}$ ) ne sont pas présentes sur le spectre Raman.

nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	attributions
2944 - 2858	m msf - F	$\nu_s$ CH <sub>3</sub> $\nu_s$ CH <sub>2</sub>
1467	m - sh	$\delta$ (CH <sub>2</sub> )
1447	F	$\delta$ (CH <sub>3</sub> )
1312	F	CH <sub>2</sub> mode "wagging"
1128	m	
1079	F	$\nu$ C-N
904 887 860	F F F	NH <sub>2</sub> mode "wagging"
260	F	

Tableau III.7. : Raies Raman de l'octylamine (liquide, pure à 98%).

#### b Adsorption sur surfaces acides : Pyrex et Vision

L'analyse de dépôt adsorbé sur Vision Déco ne nous a pas permis d'obtenir de résultats corrects car le bruit de fond est toujours très important et il masque ainsi le signal émis par le dépôt. Ceci est probablement dû au substrat et plus particulièrement à ses propriétés optiques. Le spectre de dépôt obtenu pour le Vision (Fig. III.17. - annexe 1) est peu résolu car comme pour le Vision déco, le bruit de fond est important. Nous observons néanmoins quelques raies caractéristiques (tableau III.8.):

nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	attributions
2925	F - large	$\nu_s$ CH (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )
1657	F - large	$\delta$ NH <sub>2</sub> ?
1446	m	$\delta$ (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )
1108	m - large	$\nu$ C-N ?
440	msf - m	Si-O-Si (Vision)

Tableau III.8. : Raies Raman de l'octylamine adsorbée sur Vision

Cette analyse suggère que du fait de l'adsorption sur Vision, la chaîne carbonée de l'octylamine a une conformation géométrique plus figée car la bande de la vibration  $\nu_s$  ( $\text{CH}_2$ ) est beaucoup moins intense. Mais la densité électronique des liaisons CH n'a apparemment pas changé, puisque nous n'observons pas de déplacements en fréquence des raies caractéristiques des groupements  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ .

D'autre part, l'apparition d'une raie attribuable à  $\nu\text{NH}$  et le déplacement vers les hautes fréquences de la raie de  $\nu\text{CN}$  suggère que la fonction amine intervient dans l'adsorption. Plus spécifiquement, il semble que lors de l'adsorption, il y ait eu un transfert d'électrons vers la liaison C-N.

L'analyse de dépôts observés sur le Pyrex donne un spectre Raman similaire (Fig. III.18.), mais mieux résolu. En outre, pour cette analyse, nous avons pu utiliser une lame demi-onde qui permet de polariser le vecteur champ électrique et ainsi d'obtenir des renseignements sur l'orientation des liaisons. Les raies Raman pour ce dépôt sont présentées tableau III.9. :

nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	Attributions	nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	Attributions
3280	m - large NP	$\nu$ OH (SiOH lié)	1448	m NP	$\delta$ ( $\text{CH}_2$ )
3063	m NP		1439	m P	$\delta$ ( $\text{CH}_3$ )
2965	f - sh NP	$\nu_s$ $\text{CH}_3$	1297	m - Large NP	$\nu$ B-O (Pyrex)
2930	F P	$\nu_s$ $\text{CH}_2$	1048	f - large	$\nu$ C-N
2873	F P	$\nu_s$ $\text{CH}_3$	932	f - large	$\nu$ Si-O-H (Pyrex)
1653	F P	$\delta$ $\text{NH}_2$	452	m - large P	Si-O-Si (Pyrex)

Tableau III.9. : Raies Raman de l'octylamine adsorbée sur Pyrex

La surface du verre Pyrex est surtout composée de silice comme nous l'avons vu au chapitre II. L'adsorption d'eau donne ainsi lieu à la formation de groupements silanols (SiOH) pour lesquels certaines vibrations peuvent être observées en Raman. En particulier  $\nu$  Si-O donne une raie à 946 cm<sup>-1</sup> dans le verre Pyrex propre. Il existe aussi une raie caractérisant la vibration  $\nu$  OH des groupements silanols libres mais que nous n'avons pas observée sur le Pyrex propre. Elle se situe vers 3600-3700 cm<sup>-1</sup> et est déplacée vers 3250

$\text{cm}^{-1}$  lorsque ces groupements forment des liaisons hydrogènes intermoléculaires. La raie observée ici à  $3280 \text{ cm}^{-1}$  pourrait donc caractériser des groupements silanols non libres qui apparemment n'existent pas sur le Pyrex propre.

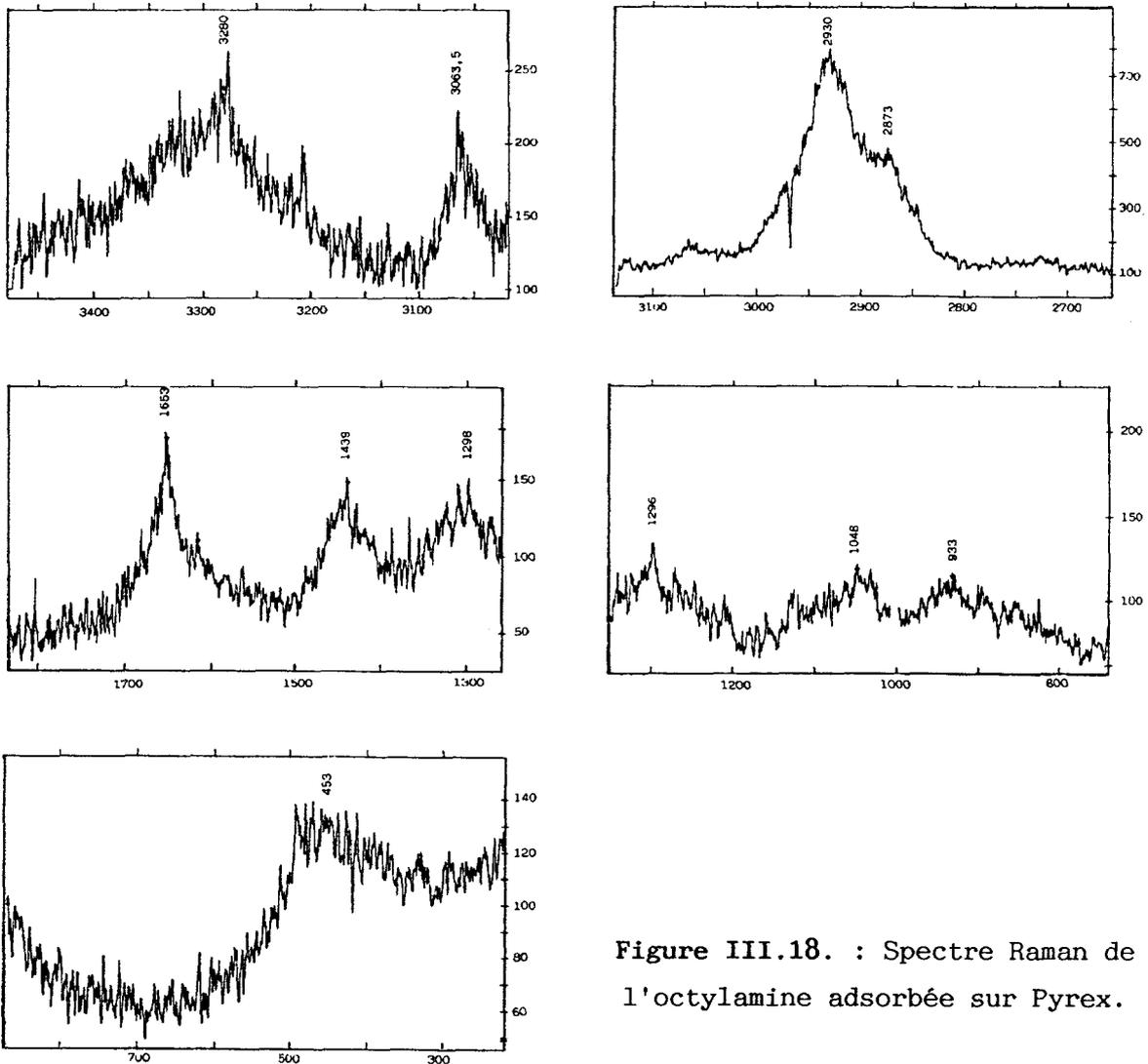


Figure III.18. : Spectre Raman de l'octylamine adsorbée sur Pyrex.

Pour l'octylamine, les principales modifications concernent la fonction amine.

Comme lors de l'analyse sur Vision, nous observons une raie attribuable à  $\delta\text{NH}_2$  et la raie attribuée à  $\nu \text{C-N}$  est déplacée vers les basses fréquences ce qui pourrait indiquer une perte d'électrons pour cette liaison. D'autre part, la polarisation de la raie de  $\delta\text{NH}_2$  indique que cette liaison est orientée.

Les raies caractérisant la chaîne carbonée sont elles déplacées vers les hautes fréquences ce qui indique un renforcement des liaisons C-H. Nous constatons d'autre part que la vibration  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> est empêchée, suggérant là encore une orientation spécifique de la chaîne carbonée.

### c Adsorption sur NiO

Le spectre de l'octylamine adsorbée sur NiO (Fig. III.19. - annexe 1; tableau III.10.) a été effectué avec une puissance laser de 80 mW. Il présente les raies suivantes :

nombres d'onde (cm <sup>-1</sup> )	I	attributions
2936	F	$\nu_s$ CH <sub>3</sub>
2926	F	$\nu_s$ CH <sub>2</sub>
2880	m - sh	$\nu_s$ CH <sub>3</sub>
1516	m - large	$\delta$ NH <sub>2</sub> ?
1091	f - large	$\nu$ C-N
725	f	?
565	f	NiO

Tableau III.10. : Raies Raman de l'octylamine adsorbée sur NiO.

Là encore, nous constatons que la raie caractérisant  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> est fortement affaiblie ce qui nous permet de supposer que la position de la chaîne carbonée par rapport à la surface est semblable dans les trois cas d'adsorption vu jusqu'à présent. Mais nous n'observons pas de déplacements importants en fréquence pour les vibrations de valence des groupements CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> (Les vibrations de déformations de CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> semblent ici masquées par le massif centré sur 1516 cm<sup>-1</sup>).

Les autres modifications par rapport au spectre de l'octylamine pure concernent la fonction amine :

- une bande large que l'on pourrait attribuer à  $\delta\text{NH}_2$  apparaît à  $1516\text{ cm}^{-1}$  soit à très faible fréquence pour cette raie. Si l'attribution est correcte, on peut donc supposer que NH interagit avec le substrat directement par l'intermédiaire de la liaison NH.
- la vibration  $\nu\text{CN}$  est déplacée vers les hautes fréquences indiquant ainsi un renforcement électronique de cette liaison, qui ne se fait pas au dépend de la chaîne carbonée, car nous n'observons pas de décalages en fréquence des vibrations  $\nu(\text{CH}_2, \text{CH}_3)$ .

#### d Adsorption sur calcite

Sur la calcite, qui est basique, nous n'observons pas de dépôts d'octylamine, ce qui est en accord avec la théorie des interactions acide-base qui prévoit qu'une molécule basique n'adhère pas sur une surface basique.

#### e Discussion des résultats

Dans chaque cas d'adsorption d'octylamine, nous avons vu que la vibration  $\nu\text{CN}$  était décalée en fréquence et que  $\delta\text{NH}_2$  apparaissait, alors que les vibrations des groupements de la chaîne carbonée sont peu affectées par l'adsorption. Nous notons essentiellement l'affaiblissement de la raie de  $\nu_s(\text{CH}_2)$ .

Ces observations suggèrent que la fonction amine est responsable de l'adhésion et plus particulièrement l'azote qui étant électro-donneur peut réagir facilement avec des surfaces acides.

Dans le cas de l'adsorption sur Pyrex, on peut en particulier supposer qu'il y a interaction avec l'hydrogène acide des groupements silanols de surface, puisque le spectre Raman suggère que ceux-ci sont liés. Nous proposons donc pour ce substrat le mécanisme d'interaction suivant (Fig. III.20.).

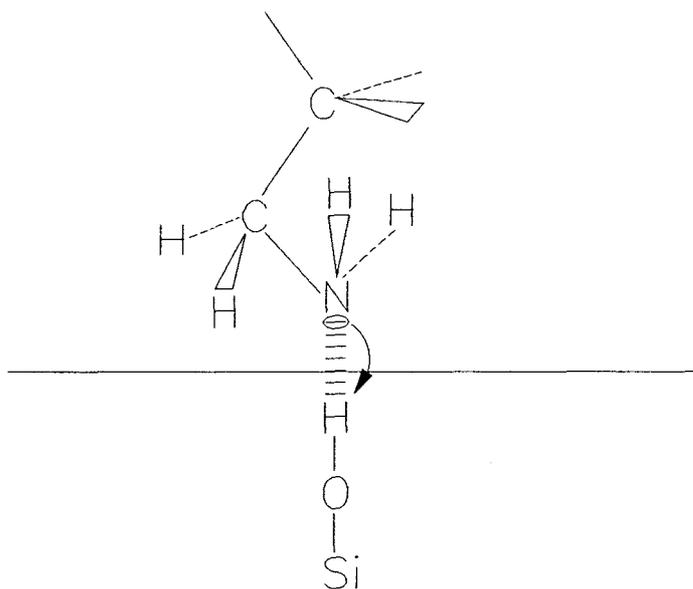


Figure III.20. : Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction, entre l'octylamine et le verre Pyrex.

Suivant ce schéma, la liaison se fait par transfert électronique du doublet électronique de l'azote vers l'hydrogène de SiOH. Les électrons de la liaison NH sont donc peu impliqués dans cette interaction ce qui se traduit spectroscopiquement par un déplacement très faible de la vibration de  $\delta\text{NH}_2$ , mais important de la vibration  $\nu\text{OH}$  (71). Ces déplacements sont effectivement observés dans le spectre de l'octylamine adsorbée sur Pyrex. En outre, le décalage de la raie de  $\nu\text{CN}$  vers les basses fréquences confirme le schéma d'interaction précédent, puisqu'il indique un affaiblissement de la densité électronique de la liaison C-N qui est l'une des conséquences du transfert d'électrons de N, vers H de SiOH: pour compenser cette perte, N, élément électro-négatif, attire les électrons des liaisons avoisinantes.

Enfin, la polarisation des vibrations nous apporte des informations sur l'orientation de la molécule par rapport à la surface : par rapport à celle-ci, deux positions extrêmes sont possibles pour un atome en conformation tétraédrique tel que C dans  $\text{R}_1(\text{CH}_2)\text{R}_2$  ou N dans  $\text{R}(\text{NH}_2)$ . Pour  $\text{CH}_2$ , nous avons notamment :

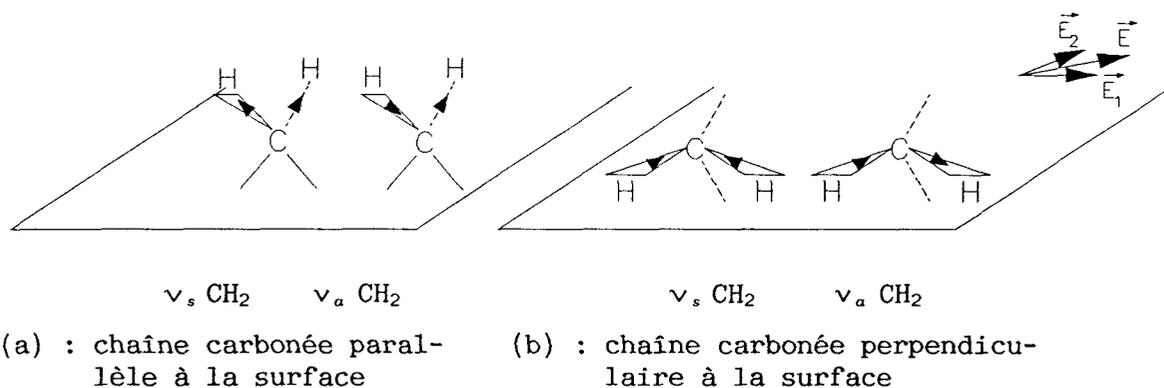


Figure III.21. : Orientations extrêmes possibles, pour un groupement CH<sub>2</sub>, par rapport au plan de polarisation (=surface du substrat).

Le premier cas (III.21a.) correspond à une chaîne carbonée parallèle à la surface alors que dans le second cas, la chaîne est perpendiculaire à la surface. Sur ces schémas, nous figurons également par des flèches les vibrations de valence ( $\nu_a$  et  $\nu_s$ ) des liaisons CH qui se font suivant l'axe de la liaison. Les règles de sélection Raman permettent alors de prévoir suivant la polarisation, quelles vibrations seront actives (130).

- pour le schéma III.21a., nous aurons ainsi :

. en polarisation -  $\vec{E}_1$  :  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> - inactive       $\nu_a$  CH<sub>2</sub> - inactive  
                           -  $\vec{E}_2$  :  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> - forte             $\nu_a$  CH<sub>2</sub> - faible

- pour le schéma III.21b. (chaîne perpendiculaire à la surface):

. en polarisation -  $\vec{E}_1$  :  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> - forte       $\nu_a$  CH<sub>2</sub> - faible  
                           -  $\vec{E}_2$  :  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> - faible       $\nu_a$  CH<sub>2</sub> - forte

Si l'on se réfère aux résultats expérimentaux ( $\nu_a$  CH<sub>2</sub> forte et polarisée,  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> faible), le second cas de figure est plus vraisemblable. En outre, il correspond à un encombrement stérique minimal et donc est plus probable.

Ainsi, nous proposons comme mécanisme d'adsorption de l'octylamine sur le verre Pyrex et la vitrocéramique Vision, celui schématisé figure III.20.

Pour l'adsorption d'octylamine sur Vision, nous pouvons supposer que le mécanisme d'interaction est identique car, d'une part les deux surfaces ont le même type de composition (essentiellement SiO<sub>2</sub>), le Vision étant néanmoins

plus acide, et d'autre part, le spectre d'octylamine adsorbée sur Vision est proche de celui obtenu sur Pyrex. Une seule différence apparaît, elle concerne la raie de la vibration  $\nu_{CN}$  qui semble déplacée vers les hautes fréquences lors de l'adsorption sur Vision.

Pour l'adsorption sur NiO, le mécanisme d'interaction semble aussi faire intervenir la fonction amine mais le fort décalage vers les basses fréquences de  $\delta_{NH_2}$  suggère que cette liaison est directement impliquée dans l'adhésion, et non plus le doublet d'électrons de l'azote. Ainsi, nous pensons qu'une interaction de type liaison hydrogène entre N-H et  $O^-$  est le mécanisme le plus probable ici.

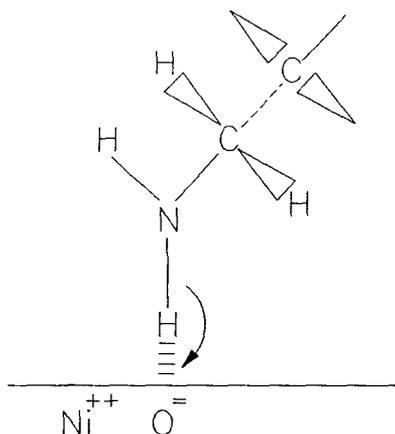


Figure III.22. : Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction entre l'octylamine et NiO.

### III Conclusion sur les interactions acide-base

Les études d'adsorptions d'acide octanoïque et d'octylamine sur surfaces minérales acides ou basiques semblent donc indiquer la prépondérance des interactions de type acide-base. Ainsi, l'acide octanoïque ne s'adsorbe pas sur surfaces acides (Pyrex, Vision, Vision déco) mais adhère sur surfaces basiques (NiO,  $CaCO_3$ ) par formation d'une liaison ionique entre l'ion carboxylate et le contre-anion de la surface d'oxyde basique ( $Ni^{++}$  et  $Ca^{++}$  ici). D'autre part l'octylamine réagit avec les surfaces acides par formation d'une liaison ionique, due à un transfert électronique du doublet de l'azote de

l'amine, vers l'hydrogène des groupements hydroxyles présents en surface des verres (SiOH), mais il semble qu'elle ne réagisse pas avec les surfaces basiques. Avec les surfaces neutres ou faiblement basiques (NiO) il semble qu'il y ait formation d'une liaison hydrogène entre l'hydrogène de la fonction amine (NH<sub>2</sub>) et l'oxygène de la surface.

Cette étude a donc montré que les surfaces de verres sont acides et que les interactions de type acide-base jouent un rôle prédominant dans les phénomènes d'adhésion sur ces surfaces. Les protéines possédant des groupements acides et basiques, l'adsorption de celles-ci sur surfaces acides de verres pourrait donc être contrôlée également par des interactions de type acide-base.

### C ETUDE D'ADSORPTION D'ALPHA-LACTALBUMINE SUR SURFACES DE VERRES

Le but essentiel de notre travail est d'expliquer les mécanismes d'adhésion qui conduisent à la formation des dépôts alimentaires sur surfaces de verres. Nous avons vu au chapitre I que les protéines jouent un rôle très important dans beaucoup des phénomènes de formation de dépôts biologiques sur surfaces non biologiques. Ceci est vrai notamment dans le cas de la formation de dépôts laitiers sur surfaces d'aciers inoxydables.

Le lait étant un fluide alimentaire comprenant les différents composés que l'on trouve dans les autres aliments, nous l'avons choisi comme modèle. De plus, puisqu'il semble que les protéines du lactosérum, (protéines solubles du lait), soient à l'origine de la formation des dépôts laitiers sur surfaces d'aciers inox qui, comme les verres, sont des surfaces d'oxydes minéraux, nous avons décidé d'étudier plus particulièrement les interactions d'une des protéines majeures du lactosérum, avec les surfaces de Pyrex, Vision et Vision Déco. Une analyse préliminaire en Raman nous a montré que la  $\beta$ -Lactoglobuline est beaucoup moins stable que l' $\alpha$ -Lactalbumine quand elle est irradiée par un faisceau laser. Ainsi, nous avons choisi de porter notre étude, dans un premier temps, sur l'adsorption d' $\alpha$ -Lactalbumine.

Cette étude d'adsorption sera réalisée en faisant intervenir les facteurs pH et température car ceux-ci ont une influence sur la formation des dépôts, au moins d'un point de vue quantitatif. Ainsi il a été montré que le dépôt

protéique formé à partir du lait est maximal au voisinage de pI et vers 90°C. Ceci pourrait être en relation avec la solubilité, la dénaturation et la charge de la protéine.

Nous étudierons donc l'adsorption à trois pH : ( $\text{pH} < \text{pI}$ ,  $\text{pH} \approx \text{pI}$ ,  $\text{pH} > \text{pI}$ ) et à deux températures : à 55°C (température où la dénaturation débute et est fortement réversible) et à 90°C (température où la dénaturation est fortement irréversible).

## I Appareils et méthodes

### 1 Système d'adsorption

Pour réaliser l'adsorption de protéines sur substrats massifs, nous disposons au laboratoire d'un système d'adsorption en dynamique, décrit en détail par LALANDE et al. (131). Dans ce système les substrats sont fixés dans un module et de part et d'autre des substrats circulent en sens inverse, de l'eau chaude et le fluide biologique. Ce système, mis au point pour des substrats en acier inoxydable, pourrait être adapté à des verres, mais il présente deux désavantages majeurs :

- il opère dans une gamme limitée de températures car la face externe du substrat (face non souillée) ne peut être chauffée au delà de 100°C, ce qui est particulièrement gênant pour des solides mauvais conducteurs thermiques comme les verres.
- ce procédé n'est pas pratique d'utilisation et surtout il ne reproduit pas les conditions dans lesquelles se font généralement les dépôts alimentaires sur verre Pyrex ou vitrocéramiques Vision et Vision déco. Ces dépôts se font en effet en statique et à des températures de surface externe plus élevées.

Pour réaliser l'adsorption de protéines sur verres et vitrocéramiques, nous utiliserons donc un système que nous avons mis au point et qui utilise un bain-marie à sec et un nouveau module d'adsorption.

## a Appareillage

### . Description du bain-marie à sec

Nous utilisons un bain-marie à sec de marque LIEBISCH (Ref. 2250, type KJL-450-COM-9-42). L'appareil est constitué d'un bloc en aluminium (surface = 180 mm x 180 mm) chauffé par effet Joule à l'aide d'une résistance électrique. Un régulateur électronique intégré à l'appareil permet de travailler à température donnée avec une précision temporelle de  $\pm 1^\circ\text{C}$  (données du constructeur). La gamme de températures couverte par cet appareil va de la température ambiante à  $450^\circ\text{C}$ .

### . Module d'adsorption

Le module d'étude est réalisé afin de répondre aux exigences suivantes :

- Maniabilité - facilité d'emploi : nous voulons avoir la possibilité de contrôler la durée des expériences d'adsorption qui, en l'occurrence, pourraient être très courtes puisque nous nous intéressons essentiellement aux premiers instants de l'adsorption. La mise en route et l'arrêt des expériences doivent donc se faire facilement et rapidement.
- Mise en place et récupération aisées des substrats : la mise en place doit se faire aisément, afin de ne pas risquer de toucher et donc de salir la face interne des échantillons, avant adsorption. De même après adsorption, il faut être capable de récupérer les échantillons sans toucher au dépôt.
- Possibilité de contenir un volume déterminé de liquide et étanchéité.
- L'élimination de la solution d'adsorption doit être facile et rapide pour assurer un bon contrôle des temps d'adsorptions.
- Bon contact thermique entre le bloc aluminium et la surface externe des substrats.
- De nouvelles utilisations ultérieures du bain-marie à sec doivent être possibles. Il serait donc préférable de ne pas usiner le bloc aluminium.

Le module réalisé suivant ces impératifs est schématisé ci-dessous (Fig. III.23.).

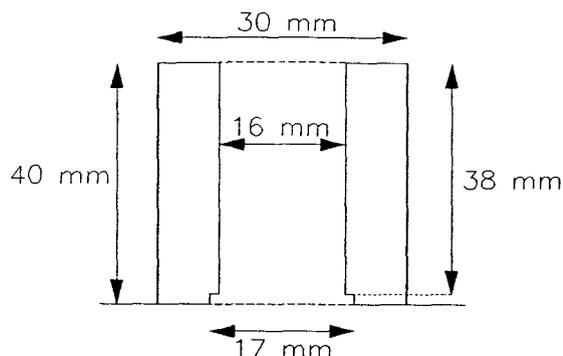


Figure III.23. : Schéma du module d'adsorption.

Il s'agit d'un cylindre en acier inox, échancre dans la partie inférieure de la surface interne. L'échantillon de verre ou de vitrocéramique serti d'un joint est inséré partiellement dans cette échancre, puis, ainsi fixé sur le module, est déposé sur le bloc en aluminium (le contact thermique est amélioré du fait du poids du module d'étude (155 g). Le joint qui assure l'étanchéité est en viton, polymère qui peut être chauffé jusqu'à 230°C. Ses dimensions sont 12,1 mm x 2,7 mm.

*Remarque* : Les dimensions internes du cylindre sont choisies pour permettre d'insérer des échantillons circulaires de diamètre 13 mm (épaisseur = 2 mm) qui est le diamètre maximal possible pour les échantillons analysés en ESCA.

#### . Etalonnage du bain-marie à sec

Le constructeur annonce pour cet appareil une précision de température de  $\pm 1^\circ\text{C}$ . Pour vérifier cela et en même temps s'assurer de l'homogénéité spatiale des températures, nous avons effectué des mesures de température en différents points de la surface du bloc aluminium. Ces mesures sont réalisées non pas directement sur la surface de l'aluminium, mais sur la face interne d'un échantillon de verre Pyrex fixé sur un module d'étude. Cela nous donnera ainsi une courbe de température de référence représentant la température réelle obtenue à la surface interne du verre, en fonction de la température affichée sur le bain-marie à sec ( $T_{\text{BMS}}$ ).

Pour réaliser cet étalonnage, nous utilisons une sonde constituée d'un thermocouple en constantan. Cette sonde est tout d'abord calibrée à l'aide d'une sonde étalon.

#### . Calibrage de la sonde de température

Le calibrage est réalisé au cours d'une montée en température par palier de 5°C, puis d'une descente en température par palier de 10°C. Nous obtenons une courbe de calibrage qui est une droite (Fig. III.24. - annexe 1) d'équation :

$$Y = 0,9577.X + 2,66 \quad (\text{III.3.})$$

X = température indiquée par la sonde (°C)

Y = température réelle (donnée par la sonde étalon) (°C)

#### . Courbes de température du verre Pyrex

Nous effectuons les mesures de température en neuf points différents, schématisés ci-dessous, de la surface du bloc d'aluminium. La première mesure est de plus réalisée lors de la montée puis lors de la descente en température, pour déterminer une hystérésis éventuelle.

1	2	3	partie arrière du BMS
4	5	6	
7	8	9	partie frontale du BMS

*Remarque* : Le contact thermique entre la sonde de température et le verre est assuré à l'aide de graisse de silicone.

Pour chaque point, nous traçons la courbe représentant la température de la surface interne du verre Pyrex ( $T_{\text{PYR}}$ ) en fonction de la température affichée sur le bain-marie ( $T_{\text{BMS}}$ ). Chacune de ces courbes est assimilable à une droite, l'incertitude étant de  $\pm 2^\circ\text{C}$ . En outre, dans cet intervalle d'incertitude, nous pouvons considérer qu'il n'y a pas d'hystérésis. Les équations des diverses droites sont regroupées ci-dessous :

Point 1 :	$T_{\text{PyR}} = 8,23 + 0,74.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.4.)
Point 2 :	$T_{\text{PyR}} = 9,69 + 0,73.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.5.)
Point 3 :	$T_{\text{PyR}} = 8,50 + 0,74.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.6.)
Point 4 :	$T_{\text{PyR}} = 8,87 + 0,72.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.7.)
Point 5 :	$T_{\text{PyR}} = 8,64 + 0,74.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.8.)
Point 6 :	$T_{\text{PyR}} = 9,30 + 0,73.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.9.)
Point 7 :	$T_{\text{PyR}} = 7,61 + 0,73.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.10.)
Point 8 :	$T_{\text{PyR}} = 7,59 + 0,74.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.11.)
Point 9 :	$T_{\text{PyR}} = 8,32 + 0,74.T_{\text{BMS}}$	$R = 0,999$	(III.12.)

R = coefficient de corrélation

Chacune de ces droites présentant des coefficients équivalents, nous pouvons considérer qu'il y a effectivement une homogénéité spatiale en température. Ainsi, nous pouvons définir la droite moyenne qui servira de courbe d'étalonnage pour connaître la température à la surface du verre. Son équation est :

$$T_{\text{PyR}} = 9,186 + 0,730.T_{\text{BMS}} \quad R = 0,999 \quad (\text{III.13.})$$

La représentation graphique de cette droite (Fig. III.25. - annexe 1) permet d'évaluer l'incertitude qui est de 2 %.

#### . Courbes de températures des vitrocéramiques Vision et Vision déco

Les mesures réalisées sur le verre Pyrex ont montré l'homogénéité spatiale en température du bain-marie à sec. Nous établirons donc la courbe d'étalonnage des vitrocéramiques Vision et Vision déco à partir des mesures réalisées en un seul point (point 5). Là-encore nous obtenons des droites d'équations :

$$T_{\text{VIS}} = 8,071 + 0,745.T_{\text{BMS}} \quad R = 0,999 \quad (\text{III.14.})$$

$$T_{\text{VBL}} = 11,48 + 0,73.T_{\text{BMS}} \quad R = 0,9987 \quad (\text{III.15.})$$

Les coefficients de ces droites sont proches de ceux de la courbe d'étalonnage du verre Pyrex, ce qui est normal car les conductivités thermiques de ces trois matériaux sont équivalentes ( $k_T \approx 2 \text{ W.m}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ ).

Les courbes de températures ainsi définies pour les surfaces internes des substrats nous permettront de connaître la température à afficher sur le bain-marie pour obtenir la température d'adsorption désirée, qui est celle de la surface interne du substrat.

## b Etude des cinétiques de chauffage

Cette étude est réalisée afin de déterminer si les préchauffages du bain-marie à sec et du substrat sont nécessaires et le cas échéant pendant quelle durée. Pour cela, nous avons réalisé des mesures de températures avec la sonde étalon utilisée au paragraphe précédent, à intervalles réguliers et pour une température finale du bain-marie à sec de 70°C. Les mesures sont réalisées sur la surface du bain-marie et sur un échantillon de Vision (épaisseur = 2 mm) placé dans un module d'adsorption. Les courbes de températures sont présentées figure III.26. (annexe 1). Pour chaque courbe, les conditions sont les suivantes :

- (a): Températures du bain-marie à sec (BMS) en surface : évolution en fonction du temps pour une température affichée ( $T_{BMS}$ ) de 70°C.
- (b):  $T_{Vis}$  pour un échantillon de Vision non préchauffé et recouvert d'eau (module rempli d'eau), BMS n'étant pas préchauffé.
- (c): Comme (b) mais en préchauffant BMS pendant 20 min.
- (d): BMS préchauffé pendant 20 min - mesure de  $T_{Vis}$ 
  - de  $t = 0$  à  $t = 10$  min : Vision non recouvert d'eau
  - à  $t = 10$  min : ajout d'eau jusqu'à remplir le module ( $V = 5$  ml)
  - de  $t = 10,5$  à  $t = 21$  min.  $T_{Vis}$  pour un échantillon recouvert d'eau.

Le facteur température étant important dans la formation des dépôts laitiers, nous pensons qu'il est préférable d'atteindre la température désirée en présence de la solution protéique le plus rapidement possible, afin de minimiser l'adsorption aux températures intermédiaires. C'est la courbe (d) qui répond le mieux à cette exigence. Ainsi, avant de mettre en contact la solution et le substrat, le BMS puis le substrat placé dans le module et déposé sur le BMS, seront chacun préchauffés pendant 10 min.

## 2 Préparation des substrats

Les substrats sont des disques de 13 mm de diamètre et 2 mm d'épaisseur préparés comme lors des études d'adsorptions d'acide et de base (Ch. III, B-I-1).

### 3 Préparation des solutions

Les solutions d' $\alpha$ -Lactalbumine ( $\alpha$ -La) à  $1 \text{ g.l}^{-1}$ , teneur approximative du lait de vache en  $\alpha$ -La.(21), sont préparées, à température ambiante, par ajout d' $\alpha$ -La. native (Sigma, Ref. 6010, pureté = 85 %) dans une solution de NaCl 0.2M préparée avec de l'eau bidistillée. L'ajustement aux 3 pH d'études se fait ensuite par ajout de NaOH et/ou HCl.

A partir de ces solutions, nous réalisons les essais d'adsorption mais nous préparons également des références d' $\alpha$ -La. traitées dans les conditions d'adsorptions. Pour cela 50 ml de chacune des trois solutions sont chauffées à  $90^\circ\text{C}$  pendant 30 min dans un bain-marie, puis sont congelées à  $-80^\circ\text{C}$  pendant 10 min et lyophilisées dans un lyophilisateur Serail (type RP2V, société CIRP, Argenteuil-France). Les poudres ainsi obtenues sont utilisées pour obtenir des spectres Raman de références.

### 4 Conditions d'adsorption

Après préchauffage du BMS et des substrats, la solution protéique est versée dans le module ( $V = 5 \text{ ml}$ ) et l'adsorption dure 30 min. Au bout de ces 30 min, le module est enlevé du BMS et la solution est éliminée. Les substrats otés du module, sont ensuite nettoyés séparément, selon le procédé utilisé précédemment lors de l'adsorption d'acide et de base (Ch. III, B-I-4). En outre, afin de vérifier la reproductibilité des analyses, l'adsorption est dans chaque cas réalisée en parallèle sur 2 échantillons du même substrat, et généralement en parallèle également sur les différents substrats (Pyrex, Vision, Vision déco).

*Remarque* : Des analyses Raman préliminaires de dépôts obtenus après différents temps d'adsorption nous ont permis de choisir ce temps égal à 30 min. Pour des temps inférieurs ( $t = 10 \text{ min}$ ), il apparaît que le nettoyage très rigoureux appliqués après adsorption élimine fortement le dépôt et il est alors difficile d'analyser des dépôts épais. Pour des temps supérieurs ( $t = 60 \text{ min}$ ), le problème inverse apparaît : il devient difficile d'observer des dépôts fins.

Puisque nous désirons avoir la possibilité de comparer l'état de la protéine entre ces deux types de dépôts, nous avons choisi un temps intermédiaire égal à 30 min.

## 5 Méthodes d'analyses des interactions

Les analyses sont réalisées en micro-Raman, dans les mêmes conditions que celles appliquées lors des études des interactions acides-bases effectuées précédemment (Ch. III, B-I-5), les échantillons massifs ou les poudres d' $\alpha$ -La. étant déposés sur une lame de microscope placée sous le microscope.

Pour s'assurer de la reproductibilité des résultats, les analyses sont réalisées au minimum en deux points situés sur deux échantillons différents et en polarisant le faisceau laser à l'aide d'une lame demi-onde selon deux directions du champ électrique.

## II Etude des interactions $\alpha$ -Lactalbumine-verres par spectroscopie Raman

L'un des points majeurs dans l'étude en micro-Raman des interactions  $\alpha$ -La.-verres est la comparaison des spectres Raman de la protéine non adsorbée et de la protéine adsorbée, le but de cette comparaison étant de mettre en évidence des modifications de structure, d'orientation et de forces de liaisons, dues à l'adsorption. C'est pourquoi il est nécessaire de disposer des spectres de référence des substrats, de la protéine native et de la protéine chauffée à 90°C et 55°C dans des solutions de pH = 3,5, 4,85 et 6,2.

### 1 Analyse des substrats

Cette analyse a été présentée précédemment (Ch. III, B-II-2), le spectre du verre Pyrex étant représenté figure III.6.

### 2 Analyse de l' $\alpha$ -Lactalbumine

Les spectres Raman obtenus sur le OMARS 89 sont présentés figure III.27. pour l' $\alpha$ -La. native et l' $\alpha$ -La. traitée à 90°C, aux 3 pH d'adsorption. Nous

n'avons pas étudié l' $\alpha$ -La. traitée à 55°C car il apparaît que les spectres d' $\alpha$ -La. adsorbée à 90°C et à 55°C aux différents pH, aussi bien entre dépôts fins, qu'entre dépôts épais, sont similaires.

Les raies Raman des spectres présentés figure III.27. sont résumées dans le tableau III.11. et leur attribution est réalisée en se référant à divers articles (13,30-34,38,129,132-145).

$\alpha$ -La. native		$\alpha$ -La. pH=3,5, T=90°C		$\alpha$ -La. pH=4,85, T=90°C		$\alpha$ -La. pH=6,2, T=90°C		Attributions
3056	m - large	3059	m - large	3057	m - large	3050	m - large	$\nu$ NH (Amide)
2965	m - sh	2960	m - sh	2962	m - sh	2959	m - sh	$\nu$ , CH <sub>3</sub>
2934	m - sh	2935	F					$\nu$ , CH <sub>2</sub>
2923	F	2928	F	2929	F	2928	F	$\nu$ , CH <sub>2</sub>
2874	m - sh	2875	m - sh	2873	f - sh	2869	m - sh	$\nu$ , (CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> )
1673	f - sh			1680	m - sh			désordonnée feuille $\beta$
1658	F	1670	f - sh	1666	F	1669	m - F	AI- courbure $\beta$
1646	m - sh	1654	F	1655	F	1657	m - F	hélice $\alpha$
						1649	m - F	désordonnée
1617	m - f	1620	f -	1613	f - large	1619	m - f	Tyr
1601	m - f	1605	large			1604	f	Phé
1577	m - f			1577	m			Trp (?)
1553	m	1554	F	1551	F	1552	m	AlI
		1547						
1510	f							Phé
1494	f							Trp (?)
1449	F	1450	F	1462	f - sh			$\delta$ (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )
1443	F	1440	F	1450	F	1444	F - large	
		1417	f - sh	1442	F			
				1421	f - sh	1408	tf - sh	$\nu$ , CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
1386	f							$\delta$ , CH <sub>3</sub>

Tableau III.11a. : Raies Raman de  $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre), native et traitée à 90°C à pH = 3,5, 4,85 et 6,2.  
Gamme de fréquences : 3100 cm<sup>-1</sup> - 1380 cm<sup>-1</sup>

α-La. native		α-La. pH=3,5, T=90°C		α-La. pH=4,85, T=90°C		α-La. pH=6,2, T=90°C		Attributions
1352	f - sh	1359	m - sh	1358	m - sh			δ (CH), ν <sub>w</sub> (CH <sub>2</sub> ) γ <sub>i</sub> (CH <sub>2</sub> ), Trp
1340	F-	1335	F	1342	F-	1320	msf - m	
1319	large	1325	m - sh	1310	large			
1277	f					1273	f	AIII. hélice α hélice α + désordonnée désordonnée feuillet β
1261	f			1266	f - large	1263	f	
1239	f	1250	f - large	1238	tf - large	1240	f	
1123	m					1128	m - f	ν C-N (fonction Amide)
1072	f							
1025	f							Phé
1006	m	1009	F	1009	m - F	1009	m - F	Phé + Trp δ <sub>sp</sub> (CH)
999	m	1002	F	1001	m - F	1001	m - F	
930	f							ν <sub>s</sub> (C-C-N) hélice α
850	f					851	f	Tyr δ <sub>sp</sub> (CH)
827	f							
757	f			758	f	761	f	Trp δ <sub>sp</sub> (CH)
506	tf - large	510	tf - large	508	f - large	510	f	ν (S-S)

Tableau III.11b. : Raies Raman de α-Lactalbumine (en poudre), native et traitée à 90 °C à pH = 3,5, 4,85 et 6,2 .  
Gamme de fréquences : 1380 cm<sup>-1</sup> - 350 cm<sup>-1</sup>

. La raie amide I (AI) caractérise la vibration ν C=O du groupement carbonyle de la fonction amide. Sa fréquence dépend de la structure secondaire, ce qui rend cette raie très intéressante pour l'étude conformationnelle. Une étude très complète de BYLER et al. (142) sur la position des raies amide I en rapport avec la structure des protéines a récemment été publiée et rapporte les valeurs obtenues pour plusieurs protéines. Pour l'α-Lactalbumine, ils ont trouvé les composantes suivantes (tableau III.12.):

Feuillet β	1627, 1637 et 1676 cm <sup>-1</sup>
Helice α	1652 cm <sup>-1</sup>
Désordonnée	1644 cm <sup>-1</sup>
Courbure β	1665 et 1684 cm <sup>-1</sup>

Tableau III.12. : Bandes A.I de l'α-Lactalbumine native (142).



Les structures en feuillet  $\beta$  et hélice  $\alpha$  ont été présentées au ch. I (figures I.4. et I.5.). La courbure  $\beta$ , très fréquente dans les protéines (Fig. III.28.), permet un repliement de la chaîne peptidique sur elle-même, par formation de ponts hydrogène.

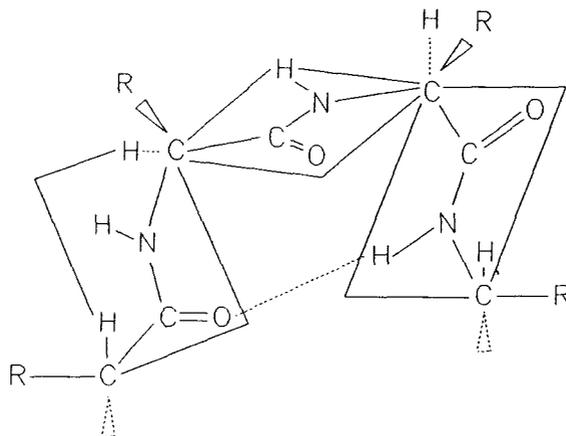


Figure III.28. : Représentation schématique d'une courbure  $\beta$ .

. La raie amide II (AII) caractérise la vibration de déformation du groupement HNC ( $\delta$ HNC) de la fonction amide. Cette raie, qui est généralement peu intense dans les protéines, ne permet pas d'identifier la structure secondaire. Elle est située vers  $1550 \text{ cm}^{-1}$ .

. La raie amide III, située entre  $1290$  et  $1235 \text{ cm}^{-1}$ , est un couplage de la vibration  $\nu$ CN et de  $\delta$ HNC ( $129$ ). Cette raie, de faible intensité, permet comme la raie AII d'identifier la structure secondaire. Essentiellement, on observe trois composantes :

- une raie fine située entre  $1270$  et  $1290 \text{ cm}^{-1}$  caractérisant l'hélice  $\alpha$ .
- une raie large centrée sur  $1250 \text{ cm}^{-1}$  caractérisant une structure désordonnée.
- une raie fine située vers  $1235$  et  $1240 \text{ cm}^{-1}$  caractérisant les feuillets  $\beta$ .

Les autres raies caractérisant la liaison amide sont situées vers  $3050 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$ NH) et dans la région de  $1160 - 1050 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$ CN).

. La vibration  $\nu_s(\text{CO}_2^-)$  est la composante symétrique de la vibration de valence des groupements  $\text{CO}_2^-$  présents sur les chaînes latérales. Cette vibration se

situé vers 1400-1410  $\text{cm}^{-1}$ . La composante assymétrique apparaît vers 1620  $\text{cm}^{-1}$  généralement. Ces groupements carboxyliques sont présents sur les di-acides aminés de la protéine, qui sont l'acide aspartique ( $\text{pKa} = 3,8$ ) et l'acide glutamique ( $\text{pKa} = 4,1$ ).

. La raie située vers 500-510  $\text{cm}^{-1}$ , de très faible intensité, caractérise la vibration de valence des ponts di-sulfures ( $\nu$  S-S).

. Enfin nous observons également sur ces spectres des raies caractéristiques des trois acides aminés comportant un noyau aromatique : la Phénylalanine (Phé), le Tryptophane (Trp) et la Tyrosine (Tyr). Ces acides aminés donnent lieu à des raies dans trois régions du spectre :

- Entre 1450 et 1600  $\text{cm}^{-1}$  nous observons les vibrations de valence des liaisons C-C du noyau aromatique. Théoriquement à ce mode de vibration, appelé mode de respiration du cycle, sont associées quatre raies, mais ici nous voyons surtout la raie située vers 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

- Entre 1225 et 950  $\text{cm}^{-1}$ , plusieurs raies caractérisant les vibrations de déformation dans le plan, des liaisons CH avec le cycle ( $\delta_{dp}$  CH) peuvent apparaître. Ici nous observons deux raies fines et intenses situées vers 1000  $\text{cm}^{-1}$  et une raie plus faible, située vers 1025  $\text{cm}^{-1}$ , qui caractérisent Phé et Trp.

- Entre 900 et 650  $\text{cm}^{-1}$ , apparaissent les raies des vibrations de déformation hors du plan, des liaisons CH avec le cycle ( $\delta_{hp}$  CH). Ces raies sont généralement peu intenses dans les spectres Raman des protéines.

La comparaison des spectres de l' $\alpha$ -La. native et de l' $\alpha$ -La. traitée à 90°C aux 3 pH ne fait pas ressortir de différences importantes. Nous constatons essentiellement les évolutions suivantes qui sont vraies aux 3 pH :

- intensification de la bande amide II et de la raie  $\delta_{dp}$  CH de Phé et Trp.

- légère diminution de la bande amide I caractéristique de la structure en hélice  $\alpha$  et disparition de la raie  $\nu_s$  (C-C-N) située à 930  $\text{cm}^{-1}$  et caractérisant également l'hélice  $\alpha$ .

Ces observations suggèrent que par chauffage à 90°C, la structure secondaire en hélice  $\alpha$  de l' $\alpha$ -La. est perdue partiellement, probablement au

profit d'une structure plus déployée, ce qui est en accord avec les observations faites par plusieurs auteurs sur l'évolution de la structure secondaire des protéines par dénaturation (31,32).

Au chapitre I, nous avons vu que cette dénaturation est réversible en deçà de 100°C mais irréversible au delà du fait de la rupture des ponts di-sulfures. Ainsi au delà de 100°C, la structure secondaire est essentiellement désordonnée. Ici, nous constatons effectivement que le chauffage à 90°C ne détruit pas les ponts di-sulfures puisque la raie caractérisant la vibration  $\nu$  (S-S) est similaire sur les différents spectres ( $\alpha$ -La. native et traitée à 90°C). Ainsi, la dénaturation reste limitée à une perte partielle d'ordre (ce que nous observons par l'évolution des bandes AI et AIII) due probablement à une rupture des ponts hydrogène intramoléculaires. Cela est justifié par l'intensification de la raie AII ( $\delta$ HNC). En effet, la liaison NH de la fonction amide est souvent impliquée dans ces liaisons hydrogène intramoléculaires, ce qui a pour effet de gêner ses vibrations de déformation (Fig. III.29.).

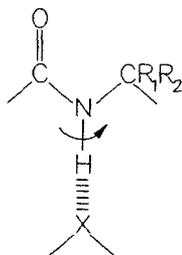


Figure III.29. : Schéma d'une liaison N-H (fonction amide) impliquée dans une liaison hydrogène avec un atome X, et de sa vibration  $\delta$ HNC (AII).

L'existence d'une liaison entre l'hydrogène de la liaison NH et un atome X quelconque gêne la vibration de déformation car celle-ci correspond à un "balancement" de la liaison N-H par rapport au squelette de la protéine, N étant fixe. Cette déformation, symbolisée par une flèche sur le schéma, se fait hors de l'axe N-H-X et c'est pourquoi l'existence d'une liaison H-X gêne ce mouvement.

L'intensification de la raie AII s'accorde donc avec une diminution du nombre de liaisons hydrogène intramoléculaires et donc avec l'hypothèse d'une transition partielle hélice  $\alpha$  ---> structure désordonnée.

L'intensification des raies caractérisant  $\delta_{ap}$  CH de Phé et Trp pourrait aussi être due à cette transition vers une structure plus déployée. En effet, dans ces conditions, l'encombrement stérique pour les noyaux aromatiques situés sur les chaînes latérales est moins important. On peut alors supposer que les vibrations de déformation sont plus faciles, d'où l'intensification de la raie  $\delta_{ap}$  CH.

Le traitement de l' $\alpha$ -La. à 90°C semble donc avoir un effet similaire sur une large gamme de pH (3,5-6,2) et consiste essentiellement en une transition partielle d'une structure ordonnée (hélice  $\alpha$  essentiellement) vers une structure désordonnée, cette transition s'accompagnant de la rupture de liaisons hydrogène intramoléculaires alors que les ponts di-sulfures ne sont pas affectés.

### 3 Etude de l' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée à 55°C et à 90°C

Les résultats que nous présentons ici concernent l' $\alpha$ -La. adsorbée sur Pyrex. L'étude de l' $\alpha$ -La. adsorbée sur Vision déco est très difficile car les raies Raman de la protéine sont peu intenses alors que le substrat est cause d'un important bruit de fond. En outre, il est impossible d'opérer à forte puissance laser car alors les protéines se détériorent. Le rapport signal( $\alpha$ -La.)/bruit est donc beaucoup trop faible pour un substrat tel que Vision déco.

L'analyse sur Vision est également difficile pour des raisons analogues à celles évoquées ci-dessus. Dans certains cas, nous avons néanmoins obtenu un spectre faiblement résolu (dépôts fins et épais à pH = 6,2, à 90°C et 55°C) qui est similaire à celui obtenu pour l' $\alpha$ -La. adsorbée sur Pyrex dans les mêmes conditions. Cette similitude déjà observée dans le cas de l'adsorption d'octylamine suggère que les mécanismes d'adhésion de l' $\alpha$ -La. sont identiques sur ces deux substrats ce qui selon la théorie des liaisons chimiques est correct car ces deux surfaces sont acides (cf. Ch. III-B-II-1) et ont un pH voisin, et car la composition de surface de ces deux substrats n'est pas fondamentalement différente : ils sont essentiellement composés de silice (ch. II), qui par hydrolyse se transforme en groupements silanols (SiOH).

### a Observation des dépôts au microscope

L'observation des échantillons au microscope dont est muni le spectromètre fait ressortir les points suivants :

- le dépôt est irrégulier et apparaît sous forme de grains circulaires qui constituent le dépôt que l'on nomme épais (épaisseur variant de 1 à 3  $\mu\text{m}$ ) et de couches fines localisées d'épaisseur inférieure à 0,5  $\mu\text{m}$ . Les grains circulaires (schématisés Fig. III.30.) ont la forme d'un cratère composé de plusieurs couches fines superposées.

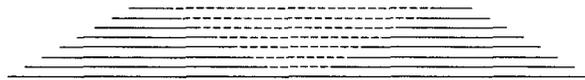


Figure III.30. : Vue en coupe d'un dépôt épais d' $\alpha$ -La. sur Pyrex.

Ces grains sont gris mais la périphérie extérieure, beaucoup plus fine et opaque, a le même aspect que les dépôts fins, ce qui suggère que ces derniers sont précurseurs dans la formation des dépôts.

- A 55°C, le dépôt est quantitativement le plus important à pH voisin de pI, et est plus important à pH inférieur à pI qu'à pH supérieur à pI. Cette variation dans la quantité de dépôt formé concerne le nombre de grains épais, leur diamètre (0,1 à 0,3 mm) et leur épaisseur, qui sont d'autant plus grands que le dépôt est important. Pour les dépôts fins, on observe surtout une augmentation du nombre de sites. Cette évolution quantitative de l'adsorption a déjà été observée comme nous l'avons vu au chapitre I et semble être due à l'évolution de la solubilité de la protéine (6,35,38,76,77).

- A 90°C, nous observons la même évolution dans la quantité de dépôts formés, en fonction du pH. Mais par rapport à 55°C, le nombre de grains épais a augmenté aux dépens de celui des dépôts fins, ce qui peut là encore s'expliquer par une diminution de la solubilité de la protéine quand la température augmente (21). Nous constatons également que le diamètre des grains est plus important (0,2 à 0,6 mm) alors que l'épaisseur n'a pas varié.

L'accroissement du diamètre suggère que le taux de recouvrement du verre, par la couche fine initiatrice de l'adsorption, est plus important à 90°C qu'à 55°C, ce qui peut indiquer une activation thermique pour la formation de cette couche. Mais cela peut aussi être lié à la diminution de solubilité de la protéine.

### b Analyse de dépôts épais

Sur les figures III.31-32.(annexe 1) et III.33., nous présentons les spectres Raman obtenus pour des dépôts épais réalisés au 3 pH, en figurant dans chaque cas le spectre de l' $\alpha$ -La. traitée à 90°C au même pH, le spectre du dépôt analysé à 90°C et celui du dépôt analysé à 55°C. Les tableaux III.13. à III.15. regroupent les raies observées sur ces spectres.

#### . Analyse de dépôts épais préparés à pH = 3,5 (Fig. III.31. - tableau III.13)

La comparaison des spectres présentés figure III.31.(annexe 1) nous permet d'observer les modifications suivantes dues à l'adsorption:

- la composante de la bande AI située à 1654  $\text{cm}^{-1}$  diminue d'intensité alors que celle située à 1666  $\text{cm}^{-1}$  est plus forte, ce qui suggère une transition hélice  $\alpha$  ---> courbure  $\beta$ .
- la raie AII (1550  $\text{cm}^{-1}$ ) diminue en intensité.
- le massif situé vers 1330  $\text{cm}^{-1}$ , caractérisant les vibrations de déformation de CH (carbone tertiaire) et des vibrations  $\nu_w$  et  $\nu_t$  ( $\text{CH}_2$ ) diminue en intensité.
- la raie AIII (1240-1280 $\text{cm}^{-1}$ ) est légèrement plus intense et dans le cas de l'adsorption à 90°C, il y a prédominance de la composante caractérisant le feuillet  $\beta$ , ce qui n'était pas le cas dans l' $\alpha$ -La. non adsorbée.
- la raie à 750  $\text{cm}^{-1}$ , attribuée au Tryptophane, est intensifiée.

Ces observations semblent indiquer une transition hélice  $\alpha$  ---> feuillet  $\beta$  et courbure  $\beta$  due à l'adsorption. En fait une courbure  $\beta$  correspond à un repliement de la chaîne sur elle-même, qui ainsi présente deux parties placées parallèlement, comme dans la structure en feuillet  $\beta$ .

Non adsorbée (90 °c)		Adsorbée à 55 °c		Adsorbée à 90 °c		Attributions
3059	m - large	3054	f NP	3054	m NP	∨ NH (amide secondaire, NH lié)
2960	m - sh	2966	m NP	2960	m sh NP	∨ <sub>o</sub> CH <sub>3</sub>
2935	F	2937	F P			∨ <sub>o</sub> CH <sub>2</sub>
2928	F	2920	m NP	2923	F P	∨ <sub>o</sub> CH <sub>2</sub>
2875	m - sh	2873	m P	2875	m P	∨ <sub>o</sub> CH <sub>3</sub> (+∨ <sub>o</sub> CH <sub>2</sub> )
1670	f - sh	1666	F P	1663	F NP	AI courbure β
1654	F	1650	m - sh P	1645	m - sh NP	hélice α
1620	f - large	1613	m NP	1616	m NP	Tyr
1605				1602	f NP	Phé
1554	F	1550	m P	1546	m NP	A II
				1465	f - sh P	δ (CH <sub>2</sub> )
1450	F	1450	F P			
1440	F	1445	F NP	1442	F NP	δ (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )
		1433	m - sh P	1431	f - sh P	δ (CH <sub>3</sub> )
1417	f - sh	1409	f NP	1409	f NP	∨ <sub>o</sub> CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
1330	msf - F - m			1330	msf - m NP	δ CH, ∨ <sub>o</sub> (CH <sub>2</sub> ), ∨ <sub>i</sub> (CH <sub>2</sub> )
1297	f	1292	f NP	1297	f NP	Pyrex
1250	f - large	1277	f P	1280	f NP	Hélice α
		1260	f NP			A III - Hélice α
		1250	f - sh NP	1252	f NP	désordonné
				1238	m P	feuillet β
		1165	tf NP			Tyr
				1027	m P	Phé
1009	F	1003	F P	999	F P	Phé + Trp
1002	F					
		840	m NP	836	F NP	Pyrex
		817	msf NP			Pyrex
		759	m - sh NP	751	m P	Trp - δ <sub>ap</sub> (CH)
		554,1	f - sh P			
510	tf - large					∨ (S-S)
		470	msf - F P	470	msf - F P	Pyrex

Tableau III.13. : Raies Raman d' $\alpha$ -La. chauffée à 90°C (en poudre), et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 3,5)- Dépôts épais.

Ces structures ordonnées impliquent l'existence de liaisons hydrogène intramoléculaires dans lesquelles sont notamment impliquées, les liaisons N-H de la fonction amide, ce qui comme on l'a vu précédemment a pour effet de gêner la vibration  $\delta\text{HNC}$ . La diminution d'intensité de la bande AIII pourrait donc résulter de cette transition vers une structure en feuillet  $\beta$ . D'autre part, dans une configuration en feuillet  $\beta$ , la chaîne peptidique est peu mobile, car l'encombrement stérique est important et les liaisons hydrogène intra et intermoléculaires sont nombreuses (Fig. I.5.). De ce fait, les vibrations  $\delta\text{CH}$ ,  $\nu_w(\text{CH}_2)$  et  $\nu_t(\text{CH}_2)$  sont moins faciles que lorsque la chaîne est libre, car ces vibrations ne se font pas suivant l'axe des liaisons. Cela pourrait expliquer la diminution d'intensité des raies Raman correspondantes.

. Analyse de dépôts épais préparés à pH = 4,85 (Fig. III.32. - tableau III.14)

Les spectres présentés sur la figure III.32.(annexe 1) font ressortir les évolutions suivantes dues à l'adsorption.

- intensification de la raie AI située vers  $1664\text{ cm}^{-1}$  et diminution d'intensité de la raie située vers  $1655\text{ cm}^{-1}$ .
- diminution d'intensité de la bande AII ( $1550\text{ cm}^{-1}$ ).
- la composante située aux plus hautes fréquences de la bande AIII (vers  $1270\text{ cm}^{-1}$ ) diminue d'intensité alors que les composantes situées vers  $1250\text{ cm}^{-1}$  et  $1240\text{ cm}^{-1}$  sont intensifiées.
- les raies caractérisant Phé et Trp vers  $1000\text{ cm}^{-1}$  sont intensifiées.

L'évolution des composantes des bandes AI et AIII indique ici une transition hélice  $\alpha$  ---> courbure  $\beta$  et feuillet  $\beta$  de la structure secondaire de la protéine, alors que l'affaiblissement de la bande AII suggère la formation de liaisons hydrogène dans lesquelles sont impliqués les groupements NH de la fonction amide.

L'évolution de l' $\alpha$ -La. absorbée à pH = 4,85 dans les couches supérieures des dépôts est donc similaire à celle observée à pH = 3,5, et consiste essentiellement en un arrangement de la protéine en une structure en courbure  $\beta$  et feuillet  $\beta$ .

Non adsorbée (90 °C)		Adsorbée à 55 °C		Adsorbée à 90 °C		Attributions
3057	m - large	3056	m NP	3058	m NP	$\nu$ NH <sub>2</sub>
2962	m - sh	2965	m - sh NP	2962	m - sh NP	$\nu$ CH <sub>3</sub>
2929	F	2930	F P	2925	F P	$\nu$ CH <sub>2</sub>
2873	f - sh	2881	m P	2872	m P	$\nu$ CH <sub>2</sub> + $\nu$ CH <sub>3</sub>
1680	m - sh			1673	f - sh NP	désordonnée Feuillet $\beta$
1666	F	1662	F NP	1664	F P	AI - Courbure $\beta$
1655	F	1651	m - sh NP	1645	m P	Hélice $\alpha$ désordonnée
1613	f - large	1618,7	m P	1616	f	Tyr
1577	m	1581	f			Phé?
1551	F	1550	m P	1550	m P	AI I
1450	F	1448	F NP	1447	F NP	$\delta$ (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )
1442	F			1438	m NP	$\delta$ (CH <sub>3</sub> )
1421	f - sh	1420	f NP			$\nu$ , CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
1342 -1310	F - large	1340	msf - m	1330	msf - m NP	$\delta$ CH, $\nu_w$ (CH <sub>2</sub> ), $\nu_t$ (CH <sub>2</sub> )
		1294	f NP	1297	f NP	Pyrex
1266	f - large	1244	m - large P	1275	m P	Hélice $\alpha$
1238	tf - large			1255	F - large P	AIII - désordonnée
				1238	F - sh P	Feuillet $\beta$
				1165	f - large P	Tyr
		1157	f NP	1156	f NP	$\nu$ C-N (amide)
		1127	f NP			
1009	m - F			1025	m P	Phé
1001	m - F	1002	F P	999	F P	Phé + Trp
				947	msf - m P	Pyrex
				914	f NP	Pyrex
		837	m - f NP	838	f NP	Pyrex
758	f			751	tf	Trp - $\delta_{AP}$ (CH)
		476	msf - F P	450	msf - F P...	Pyrex

Tableau III.14. : Raies Raman d' $\alpha$ -La. chauffée à 90°C (en poudre), et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 4,85)- Dépôts épais.

Ceci correspond en outre à la structure des dépôts que l'on observe au microscope, puisque ceux-ci ont l'aspect d'une superposition de couches fines et planes.

. Analyse des dépôts préparés à pH = 6,2 (Fig. III.33. - tableau III.15.)

La conformation de la protéine adsorbée à ce pH semble différente de celle observée aux deux autres pH (3,5 et 4,85). Nous constatons en effet une disparition des raies AI (1664-1675  $\text{cm}^{-1}$ ) et AIII (1240  $\text{cm}^{-1}$ ) caractérisant les structures en feuillet  $\beta$  et courbure  $\beta$ . Il semble qu'ici la protéine adopte essentiellement les structures désordonnée et hélice  $\alpha$ . D'autre part, à ce pH, la bande AII (1550  $\text{cm}^{-1}$ ) est très affaiblie, surtout lors de l'adsorption à 90°C. La présence de la raie de la vibration  $\nu\text{NH}$  à 3050  $\text{cm}^{-1}$ , montre que le groupement NH est toujours présent et ainsi l'affaiblissement de la raie AII indique que la vibration de déformation de HNC est ici empêchée. Ceci pourrait être dû à la formation d'une liaison entre NH et un troisième élément mais alors nous aurions une modification de la force de la liaison N-H et donc un déplacement en fréquence de la raie de  $\nu\text{NH}$ , ce qui ici n'est pas le cas. Il semblerait donc que  $\delta\text{HNC}$  (AII) soit empêchée à cause de problèmes d'encombrement stérique.

Non adsorbée (90 °c)		Adsorbée à 55 °c		Adsorbée à 90 °c		Attributions
3050	m - large	3050	f NP	3054	f NP	$\nu\text{NH}$ (amide secondaire NH lié)
2959	m - sh	2960	m - sh NP	2964	f - sh NP	$\nu_s\text{CH}_3$
		2943	m - sh P	2930	F P	$\nu_s\text{CH}_2$
2928	F	2923	F P	2918	F P	$\nu_s\text{CH}_2$
2869	m - sh	2880	m P	2879	m - sh P	$\nu_s\text{CH}_2 + \nu_s\text{CH}_3$
				1722	tf NP	$\nu\text{COOH}$
1669	m - F			1654	F P	Courbure $\beta$
1657	m - F			1646	F P	AI - Hélice $\alpha$
1649	m - F	1647	F P			désordonnée
1619	m - f	1610	f	1610	m - sh NP	Tyr
1604	f					Phé

Tableau III.15a. : Raies Raman d' $\alpha$ -La. chauffée à 90°C (en poudre), et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 6,2) - Dépôts épais. Gamme de fréquences : 3100  $\text{cm}^{-1}$  - 1600  $\text{cm}^{-1}$

Non adsorbée (90 °c)		Adsorbée à 55 °c		Adsorbée à 90 °c		Attributions
		1580	m P	1576	f NP	Trp
1552	m	1559	f P(?)			AlI
				1454	m - sh P	$\delta$ (CH <sub>2</sub> )
1444	F - large	1448	m - large NP	1443	F NP	$\delta$ (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )
1408	tf - sh	1413	f NP	1416	f NP	$\nu$ , CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
1320	msf - m	1330	msf - m NP	1330	msf - m NP	$\delta$ CH, $\nu_w$ (CH <sub>2</sub> ), $\nu$ , (CH <sub>2</sub> )
		1320	f P			
		1299,7	F NP	1300,6	m NP	Pyrex
1273	f	1260	f - sh NP	1281	m - sh NP	Hélice $\alpha$
1263	f					AIII - Hélice $\alpha$ + désordonnée
1240	f					Feuillet $\beta$
		1203,8	f P	1213	m - f NP	Tyr + Phé
				1195	m NP	
				1168	f - sh NP	Tyr
1128	m - f			1132	f NP	$\nu$ (C-N) fonction amide
				1124	f NP	
				1067	f NP	
		1025,7	m P	1026	f NP	Phé
1009	m - F	999	m P	998	m P	Phé + Tyr
1004	m - F					
		940	msf - m NP	937,5	m	Pyrex
		923				
		897				
851	f	849,8	m - sh P			Tyr ?
		837	m NP			Pyrex
761	f					Trp - $\delta_{sp}$ (CH)
		727,3	tf NP			$\delta$ NH ?
510	f					
		470,4	msf - F P	450	msf - F P	Pyrex

Tableau III.15b. : Raies Raman d' $\alpha$ -La. chauffée à 90°C (en poudre), et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 6,2)- Dépôts épais. Gamme de fréquences : 1600 cm<sup>-1</sup> - 350 cm<sup>-1</sup>

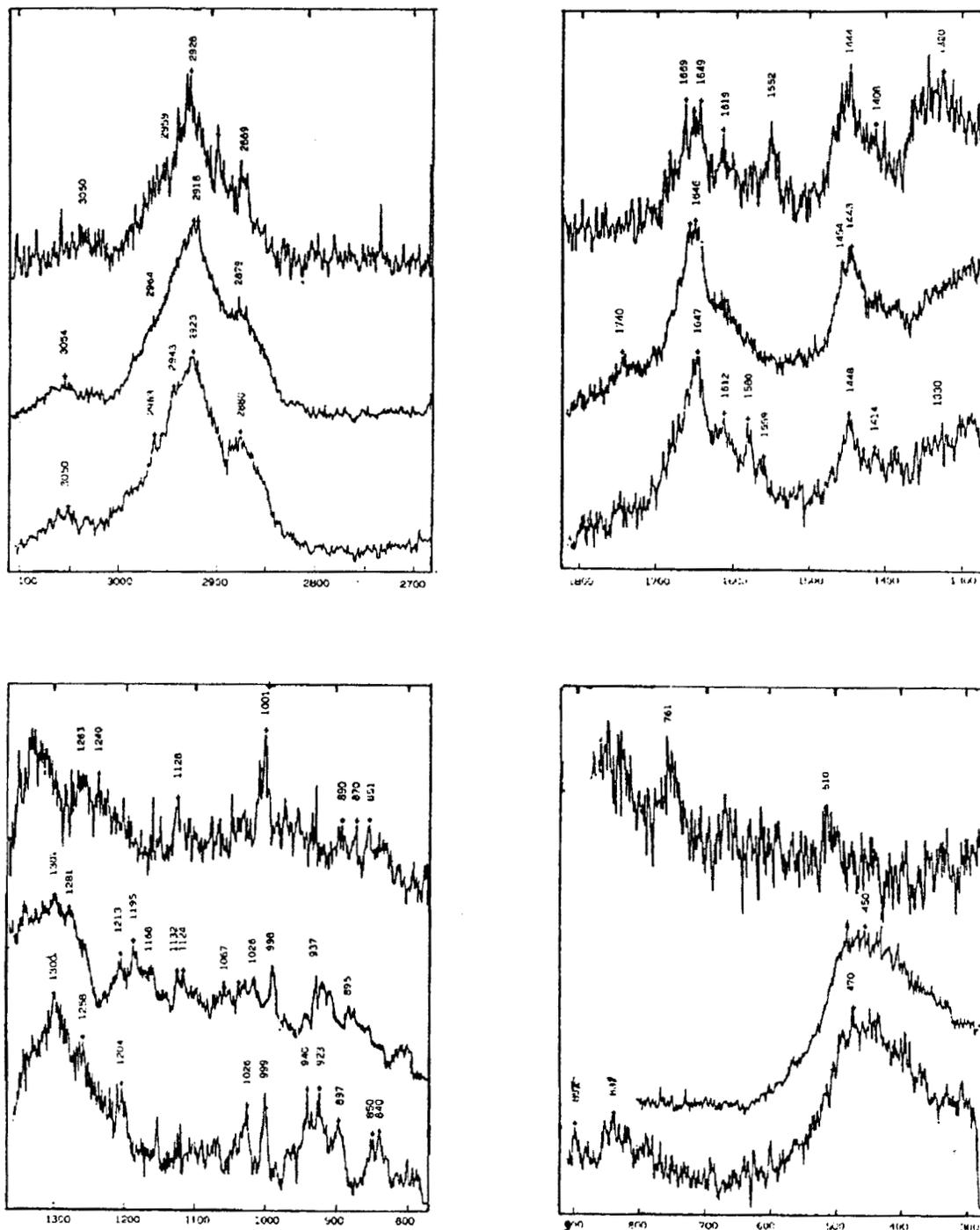


Figure III.33. : Spectres Ramans d' $\alpha$ -Lactalbumine, traitée à pH = 6,2.  
 (1) : chauffée à 90°C (en poudre - non adsorbée)  
 (2) : adsorbée sur Pyrex à 90°C - dépôt épais  
 (3) : adsorbée sur Pyrex à 55°C - dépôt épais

L'analyse de dépôts épais préparés à 90°C et 55°C, à pH = 3,5, 4,85 et 6,2 montre donc que l' $\alpha$ -La. située dans les couches supérieures ne diffère de l' $\alpha$ -La. non adsorbée, essentiellement, que de par sa structure secondaire: ainsi, il semble qu'à pH 3,5 et 4,85, la protéine s'adsorbe sur les premières couches déposées, en adoptant une structure en feuillet  $\beta$  et courbure  $\beta$  alors qu'à pH = 6,2 elle est essentiellement sous forme d'hélice  $\alpha$  et désordonnée.

Mais surtout, nous n'observons pas de déplacements en fréquence des raies caractéristiques de l' $\alpha$ -La. ce qui indique que les forces de liaison ne sont pas modifiées par rapport au cas où la protéine est non adsorbée, ce qui peut s'expliquer par le fait que la protéine n'interagit qu'avec d'autres molécules d' $\alpha$ -La. qui constituent probablement les premières couches adsorbées.

Ainsi, nous pensons que la formation des dépôts épais résulte de l'adhésion d' $\alpha$ -La. sur les premières couches ayant adhérees au verre, et que cette adhésion sur les premières couches est probablement régie par les forces intramoléculaires qui existent entre protéines en solution, à savoir essentiellement des ponts hydrogène.

### c Analyses de dépôts fins

Nous présentons sur la figure III.34. et dans le tableau III.16., les résultats de l'analyse Raman de dépôts fins préparés à pH = 6,2, à 90°C et 55°C, ainsi que le spectre et les raies Raman de l' $\alpha$ -La. non adsorbée traitée à pH = 6,2 et à 90°C. D'autre part, nous reportons figure III.35.(annexe 1) et tableau III.17., les résultats de l'analyse Raman des dépôts fins préparés à 55°C aux trois différents pH, et figure III.36.(annexe 1), les spectres Raman de l' $\alpha$ -La. adsorbée à 90°C (pH = 6,2), et obtenus selon les deux directions de polarisation (annexe 3).

*Remarque* : Sur les échantillons préparés à 90°C à pH = 3,5 et 4,85, nous n'avons pas obtenu de spectres correctement résolus de dépôts fins. Les spectres obtenus sont toujours similaires à ceux des dépôts épais ce qui est en accord avec les observations faites au paragraphe a) sur l'évolution quantitative du dépôt en fonction du pH et de la température.

Non adsorbée 90 °C, pH = 6,2		Adsorbée à 90 °C, pH = 6,2		Adsorbée à 55 °C, pH = 6,2		Attributions
2959	m - sh	2955	m - sh NP	2955	m - sh NP	$\nu$ , CH <sub>3</sub>
2928	F	2922 2904	tF P tF P	2920 2895	tF P tF P	$\nu$ , CH <sub>2</sub> $\nu$ , CH <sub>2</sub>
2869	m - sh	2880	tF NP	2877	tF NP	$\nu$ , CH <sub>3</sub>
		2851	tF P	2846	tF P	$\nu$ , CH <sub>2</sub>
		1743	f P	1740	m	$\nu$ C=O (COOH)
1669 1657 1649	m - F	1660	msf - f	1667	P msf - m	AI
1619 1604	m - f f	1600		1615		Tyr Phé
1444	F - large	1441,4	F NP			$\delta$ CH (CH <sub>2</sub> + CH <sub>3</sub> )
				1437	F NP	$\delta$ CH (CH <sub>3</sub> )
1408	tf - sh					$\nu$ , CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
1320	msf - m					$\delta$ CH
		1295,4	F NP	1292	F NP	$\delta$ CH, $\nu$ , CH <sub>2</sub> , $\nu$ , CH <sub>2</sub>
1273 1263 1240	f f f	1250	f - sh	1258 1237	m P f P	Hélice $\alpha$ AIII - désordonnée Feuillet $\beta$
1128	m - f	1158,5 1127 1060	tf - sh m P m NP	1155 1125 1095 1058	f - sh m P f m NP	$\nu$ C-N
1009 1001	m - F m - F	1004 984	f f			Phé Phé ?
		917	m NP	917	m - f NP	Pyrex
		896	f NP	889	m - f NP	
851	f	849	f - sh NP			Tyr $\delta_{\alpha p}$ (CH)
		840	m NP	835	m	Pyrex
761	f					Tyr $\delta_{\alpha p}$ (CH)
		680	msf - tf NP			$\delta$ NH ?
510	f					$\nu$ S-S
		470	msf - F P	448	msf - F P	Pyrex

Tableau III.16. : Raies Raman d' $\alpha$ -La. chauffée à 90°C (en poudre) et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 6,2) - Dépôts fins.

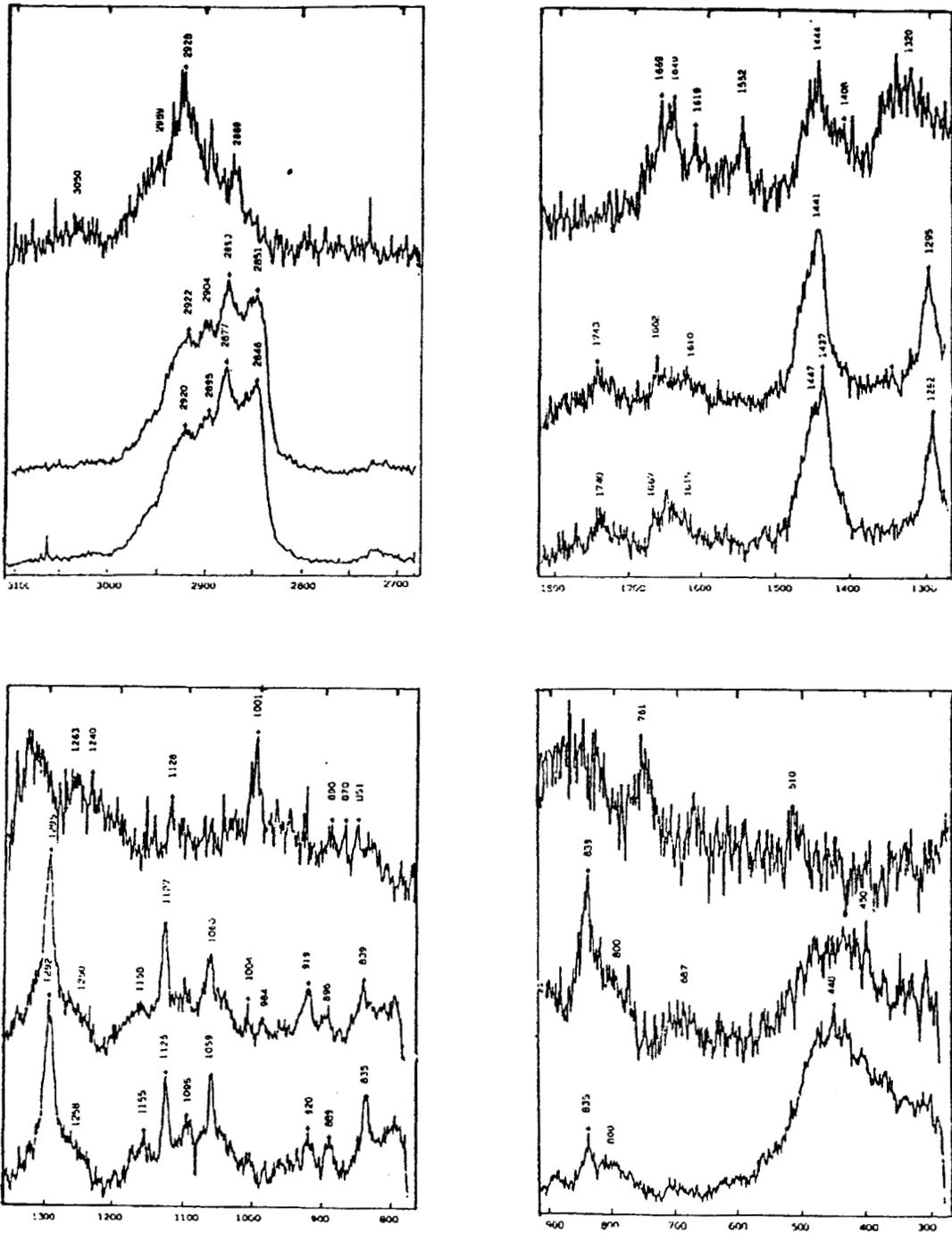


Figure III.34. : Spectres Ramans d' $\alpha$ -Lactalbumine, traitée à pH = 6,2.

- (1) : chauffée à 90°C (en poudre, non adsorbée)
- (2) : adsorbée sur Pyrex à 90°C - dépôt fin
- (3) : adsorbée sur Pyrex à 55°C - dépôt fin

La comparaison des différents spectres obtenus pour les dépôts fins aux différents pH, à 55°C et 90°C, montre qu'ils sont similaires, ce qui indique que le dépôt initial est identique dans tous les cas. On peut donc supposer que le mécanisme d'interaction responsable de l'adhésion de l' $\alpha$ -Lactalbumine sur le Pyrex est indépendant du pH et de la température.

Comparés aux spectres de l' $\alpha$ -La. non adsorbée, nous constatons les principales modifications suivantes :

- apparition d'une raie polarisée à 2850  $\text{cm}^{-1}$  qui pourrait caractériser une vibration  $\nu_s \text{CH}_2$  déplacée vers les basses fréquences d'environ 25  $\text{cm}^{-1}$ .

- intensification d'une raie située à 2895  $\text{cm}^{-1}$  environ attribuable à une vibration  $\nu_{\text{CH}}$  d'un groupement CH tertiaire ou une vibration  $\nu_a \text{CH}_2$  déplacée vers les basses fréquences d'environ 25  $\text{cm}^{-1}$ . Cette intensification, associée au fait que cette raie est polarisée, suggère une orientation spécifique de la liaison CH par rapport au vecteur de polarisation et donc à la surface du verre.

- apparition d'une raie non polarisée à 1435  $\text{cm}^{-1}$  attribuable à une vibration de déformation d'un groupement  $\text{CH}_2$  ou  $\text{CH}_3$ . Là encore, il est probable que cette raie ait été déplacée vers les basses fréquences, car cette vibration est active dans la protéine non adsorbée mais apparaît à plus haute fréquence (vers 1445  $\text{cm}^{-1}$  - 1460  $\text{cm}^{-1}$ ). Il est donc vraisemblable que cette raie caractérise un groupement  $\text{CH}_2$  ou  $\text{CH}_3$  dans lequel la liaison C-H a été affaiblie du fait de l'adsorption, phénomène qui peut aussi expliquer l'apparition de la raie à 2850  $\text{cm}^{-1}$  et éventuellement celle de la raie à 2895  $\text{cm}^{-1}$ .

- disparition ou affaiblissement des raies caractérisant les diverses vibrations des liaisons de la fonction amide :

- .  $\nu_{\text{NH}}$  vers 3050  $\text{cm}^{-1}$
- .  $\nu_{\text{C=O}}$  (amide I) vers 1660 - 1640  $\text{cm}^{-1}$
- .  $\delta_{\text{HNC}}$  (amide II) vers 1550  $\text{cm}^{-1}$
- .  $\delta_{\text{HNC}}$  et  $\nu_{\text{CN}}$  (amide III) vers 1280 - 1230  $\text{cm}^{-1}$ .

De ces diverses raies, c'est celle caractérisant  $\nu_{C=O}$  qui a le plus diminué d'intensité.

Adsorbée à pH = 3,5, 55 °C		Adsorbée à pH = 4,85, 55 °C		Adsorbée à pH = 6,2, 55 °C		Attributions
2955	m - sh P	2950	m - sh NP	2955	m - sh NP	$\nu_a$ CH <sub>3</sub>
2920	tF P	2920	tF P	2920	tF P	$\nu_a$ CH <sub>2</sub>
2895	tF NP	2896	tF NP	2895	tF P	$\nu_a$ CH <sub>2</sub>
2881	tF NP	2881	tF NP	2877	tF NP	$\nu_i$ CH <sub>3</sub>
2851	tF P	2847	tF P	2846	tF P	$\nu_i$ CH <sub>2</sub>
1746	f - m P	1730	tf	1740,5	m	$\nu$ C=O (COOH)
1654,5	m - large P	1664 1650	f P f P	1667	msf - m P	AI - courbure hélice $\alpha$
1627	tf NP	1623	f NP	1615		
1447	F NP	1445	F - sh NP	1447	F - sh NP	$\delta$ CH (CH <sub>2</sub> )
1435	F NP	1436	F NP	1437	F NP	$\delta$ CH (CH <sub>3</sub> )
1324	f NP	1340	tf			$\delta$ CH, $\nu_w$ CH <sub>2</sub> , $\nu_i$ CH <sub>2</sub>
1295	F NP	1297	m NP	1292	F NP	Pyrex (B-OH?) ou $\delta$ CH
1265	f P	1287	tf - sh NP			Hélice $\alpha$ AIII - désordonnée Feuillet $\beta$
1253	f P	1259	f NP	1258	m P	
1239	f P	1240	tf - sh	1237	f P	
1150	f - large P	1150	f - Large NP	1155	f - sh	
1110	f NP	1080		1125	m P	$\nu$ CN
1056	msf - m NP		f - large NP	1095	f	
				1058	m NP	
1006	f P	1010				Phé + Tyr
914	m - f NP	914	m - f NP	917	m - f NP	Pyrex (Si-O-B)
892	m - f P	892	m - f NP	889	m - f NP	Pyrex
837	F NP	835	m NP	835	m	
814	m - f P					
795	m - f P	793	f - sh NP	800	tf - sh	Pyrex (O-Si-O)?
450	msf - F P	460	msf - F P	448	msf - F P	Pyrex (Si-O-Si)

Tableau III.17. : Raies Raman d' $\alpha$ -La. adsorbée à 55°C sur Pyrex (pH = 3,5, 4,85 et 6,2) - Dépôts fins.

*Remarque* : Dans chaque cas, la polarisation a pour effet de faire varier l'intensité des raies polarisées dans le même sens.

- intensification de la raie située vers  $1295\text{ cm}^{-1}$ , raie non polarisée. Cette raie, on l'a vu, peut être associée en partie aux liaisons B-O présentes dans le verre Pyrex, mais non totalement, car nous l'observons également lors de l'analyse de dépôts fins réalisées sur la vitrocéramique Vision, qui elle ne contient pas de bore. Elle pourrait aussi être attribuée à une vibration  $\delta$  (CH),  $\gamma_w$  (CH<sub>2</sub>) ou  $\gamma_t$  (CH<sub>2</sub>), dont la raie serait déplacée vers les basses fréquences, intensifiée et affinée ce qui indiquerait un affaiblissement de la liaison C-H correspondante, et l'orientation de cette liaison dans une direction spécifique due par exemple à l'apparition d'une structure ordonnée.

- intensification de la raie située vers  $1740\text{ cm}^{-1}$  et caractérisant la vibration de valence de la double liaison C=O des groupements carboxyliques présents sur certaines chaînes latérales de la protéine (ramification des di-acides aminés).

Il semble donc que du fait de l'adsorption, il y ait :

- Orientation spécifique d'une liaison C-H d'un C tertiaire ou secondaire par rapport à la surface du verre.
- Affaiblissement des forces des liaisons C-H de certains groupements CH<sub>2</sub>.
- Modifications ou orientations des liaisons amides qui ont pour effet de rendre les vibrations des liaisons N-H et surtout C=O inactives en Raman.
- Orientation des groupements carboxyliques terminaux par rapport à la surface du substrat.

Ces observations semblent indiquer que la fonction amide et surtout la liaison C=O sont fortement impliquées dans l'interaction avec le verre. Sachant que la densité électronique de cette liaison est forte (liaisons  $\pi$  et doublets d'électrons libres sur l'oxygène), alors que la surface du verre présente des hydrogènes plutôt acides, une interaction entre ces deux sites apparaît tout à fait possible.

Plus précisément, le fort affaiblissement de la bande AI peut signifier deux choses : soit qu'il y a disparition de la double liaison C=O, soit que la raie AI est inactive du fait d'une orientation spécifique.

Le premier cas de figure est peu probable car il implique au minimum un transfert des électrons  $\pi$  de la double liaison C=O vers un élément très électro-attracteur qui ici ne peut être que le verre. Or nous avons vu que la surface de celui-ci est peu acide (pH  $\approx$  6). Un transfert électronique partiel des électrons  $\pi$  vers le verre est plus probable mais il en résulterait un affaiblissement de la liaison C=O et donc un déplacement en fréquence de la bande AI, déplacement que nous n'observons pas.

Nous pensons donc que la double liaison C=O n'intervient pas directement dans l'adsorption mais qu'elle adopte une orientation spécifique par rapport à la surface, orientation dans laquelle  $\nu$  C=O est inactive. Cette vibration se faisant dans l'axe de la liaison, elle est inactive si C=O est toujours perpendiculaire au vecteur  $\vec{E}$ , qui lui, est dans le plan de la surface du substrat. Il faut donc que C=O soit perpendiculaire au plan du substrat.

Enfin, l'oxygène étant basique au sens de LEWIS et le verre acide, nous pensons que la liaison C=O est orientée comme sur le schéma de la figure III.37. car cette orientation est plus favorable d'un point de vue électronique et encombrement stérique que celle où le carbone C' serait le plus proche de la surface.

Ainsi, nous proposons le mécanisme d'interaction suivant, qui correspond à la formation d'une liaison hydrogène par transfert électronique des doublets d'électrons libres de l'oxygène de la fonction amide vers la fonction hydroxyle des groupements silanols (Fig. III.37.):

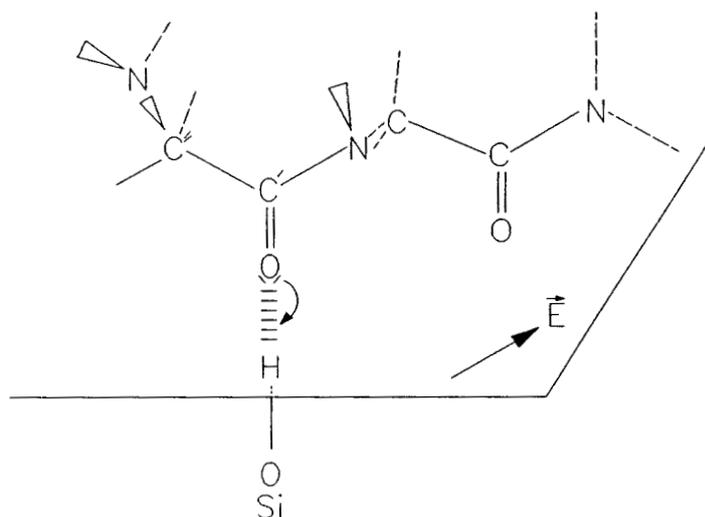


Figure III.37. : Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction, entre l' $\alpha$ -La. et le verre Pyrex.

Selon ce mécanisme, la densité électronique autour de l'oxygène va diminuer, ce qui doit entraîner une délocalisation des électrons  $\pi$  vers O, et ainsi appauvrir C' en électrons. Pour compenser cela, C' va alors attirer les électrons des liaisons avoisinantes et surtout des liaisons C-H (N est plus électronégatif que C). Ainsi, la densité électronique de la double liaison C=O sera peu modifiée et c'est ce que nous observons expérimentalement, puisque la bande AI ( $\nu_{C=O}$ ) n'est pas décalée en fréquence. Par contre, la force des liaisons CH avoisinantes (C''-H) devrait être affaiblie.

Expérimentalement, trois raies apparaissent, à  $2895\text{ cm}^{-1}$ ,  $2850\text{ cm}^{-1}$  et  $1435\text{ cm}^{-1}$ , qui pourraient être attribuées respectivement aux vibrations  $\nu_a$  CH,  $\nu_s$  CH et  $\delta$  d'un groupement  $\text{CH}_2$ , pour lequel les liaisons C-H seraient affaiblies (déplacement des raies de  $25\text{ cm}^{-1}$  vers les basses fréquences) et orientées de façon spécifique par rapport à la surface (intensification et polarisation).

Nous observons également une raie fine et intense vers  $1295\text{ cm}^{-1}$  qui pourrait aussi caractériser une liaison C-H affaiblie et qui correspondrait à une vibration  $\delta$  CH (carbone tertiaire),  $\nu_t$  ( $\text{CH}_2$ ) ou  $\nu_w$  ( $\text{CH}_2$ ).

Ces observations corroborent les hypothèses faites ci-dessus sur le mécanisme d'interaction, dont l'une des conséquences serait d'affaiblir certaines liaisons C-H (liaisons C''H situées en  $\alpha$  du groupement carboxyle). En outre, puisque nous n'observons pas d'évolution des raies caractérisant les vibrations  $\nu_a$  CH<sub>3</sub> et  $\nu_s$  CH<sub>3</sub>, nous pouvons supposer que le carbone C'' est un carbone secondaire ou tertiaire mais non primaire, et donc que les sites d'adsorption ne se situent pas à l'extrémité de la chaîne peptidique.

D'autre part, l'évolution des vibrations  $\nu_a$  CH<sub>2</sub>,  $\nu_s$  CH<sub>2</sub>,  $\delta$  CH<sub>2</sub> et peut être aussi  $\gamma_w$  CH<sub>2</sub> et  $\gamma_t$  CH<sub>2</sub> pour certains groupements CH<sub>2</sub>, nous permet de supposer que les groupements C=O situés en  $\alpha$  de carbones C'' secondaires, sont probablement des sites d'adsorption très importants, et donc que la protéine s'adsorbe sur les surfaces de verres au niveau notamment des résidus "glycine" de la chaîne peptidique (l'adsorption pourrait avoir lieu également au niveau des liaisons C=O situées en  $\alpha$  de carbone tertiaire, mais malheureusement les vibrations des liaisons C-H donnent dans ce cas des raies de très faibles intensités (129,) que nous pouvons difficilement observer).

D'autres observations expérimentales viennent renforcer l'hypothèse émise sur le mécanisme d'adsorption :

- La polarisation des vibrations  $\nu_a$  CH<sub>2</sub> et  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> (Fig. III.36.) décalées en fréquence correspond à ce que l'on doit observer selon l'orientation de la chaîne carbonée présentée figure III.37. Les schémas des figures III.38a-b. illustrent la polarisation de  $\nu_a$  CH<sub>2</sub> et  $\nu_s$  CH<sub>2</sub> pour cette orientation.

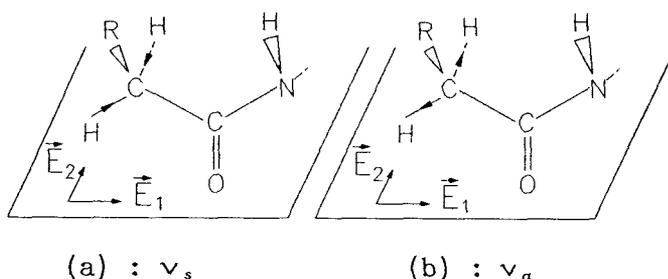


Figure III.38. : Schématisation de la polarisation des vibrations  $\nu_a$  (CH<sub>2</sub>) et  $\nu_s$  (CH<sub>2</sub>) des liaisons C''-H, lorsque la molécule est orientée suivant le schéma présenté Fig.III.37.

Suivant  $\vec{E}_1$  :  $\nu_s$  (CH<sub>2</sub>) et  $\nu_a$  (CH<sub>2</sub>) sont actives,  $\nu_a$  (CH<sub>2</sub>) étant plus forte que  $\nu_s$  (CH<sub>2</sub>).

Suivant  $\vec{E}_2$  :  $\nu_s$  (CH<sub>2</sub>) et  $\nu_a$  (CH<sub>2</sub>) sont faibles, d'intensités équivalentes.

Expérimentalement nous observons cette évolution d'intensité pour les raies situées à 2850 et 2900 cm<sup>-1</sup> et attribuées à  $\nu_s$  (CH<sub>2</sub>) et  $\nu_a$  (CH<sub>2</sub>), lorsque l'on change de polarisation.

- Suivant le schéma de la figure III.37., la liaison NH de la fonction amide est essentiellement perpendiculaire à la surface et donc la vibration  $\nu$  NH (située vers 3050 cm<sup>-1</sup>) est faible, car perpendiculaire au vecteur  $\vec{E}$ .

Enfin, nous observons également une intensification de la raie de vibration  $\nu$ C=O (1740 cm<sup>-1</sup>) des groupements carboxyliques, qui sont ici présents sur les chaînes latérales des di-acides aminés. Cette intensification indique une orientation particulière de ces groupements par rapport à la surface ce qui est probablement dû à une interaction avec le substrat. Plus précisément, puisque  $\nu$ C=O est ici active, nous pouvons dire que la liaison C=O des groupements carboxyliques, n'est pas perpendiculaire à la surface, mais il n'est pas possible de mieux préciser l'orientation du groupement CO<sub>2</sub>H, car la bande  $\nu$ C=O est trop faible pour pouvoir correctement observer son évolution avec la polarisation.

On peut cependant penser que son interaction avec le verre est du même type que celle évoquée précédemment (liaison hydrogène entre C=O et HO-Si) car le pH n'influe pas sur l'intensité de la raie  $\nu$ C=O. Si la partie hydrophyle de COOH intervenait, l'interaction avec le verre et donc l'orientation de C=O, serait différente à pH supérieur et inférieur au pK<sub>a</sub> du di-acide aminé, ce qui ici n'est pas vérifié (nous avons travaillé de part et d'autre des pK<sub>a</sub> des deux di-acides aminés présents dans l' $\alpha$ -La. pK<sub>a</sub> qui valent 3,8 et 4,1).

Le mécanisme proposé figure III.37. pourrait donc s'étendre au cas où la liaison C=O fait partie d'un groupement carboxylique mais en modifiant l'orientation de cette liaison.

Enfin suivant ce mécanisme, la température et le pH de la solution ne jouent pas un rôle prépondérant, d'un point de vue qualitatif tout au moins. Le pH influe en effet essentiellement sur la charge des groupements terminaux non neutres, qui ici n'interviennent pas directement dans le mécanisme d'adhésion. Expérimentalement, c'est ce que nous observons puisque le mécanisme semble identique aux 3 pH et aux 2 températures d'étude.

Par contre, ils peuvent avoir une influence sur la quantité de dépôts formés pour deux raisons essentiellement :

- Dans une gamme de température inférieure à 100°C, la solubilité diminue avec la température. Elle est également minimale au voisinage de pI, ce qui semble être dû au fait qu'en ce point la charge nette étant nulle, il n'y a plus de répulsions intermoléculaires entre les protéines qui forment alors des agrégats qui précipitent (21).

La solubilité diminuant, les protéines se déposent plus facilement sur les surfaces et ainsi la première étape du phénomène d'adhésion est facilitée (1), ce qui peut expliquer l'évolution quantitative de l'adhésion, que nous avons observée (Ch.III,C,II,3,a), en fonction de la température et en fonction du pH.

- La température et le pH influent également sur la structure tertiaire de la protéine : un accroissement de température et un passage à un pH supérieur ou inférieur au pI, a pour effet de déployer la chaîne peptidique. Ainsi la protéine passe d'une structure ordonnée à une structure désordonnée. Ce déploiement rend les liaisons amides plus accessibles et ainsi on pourrait penser que l'interaction avec les surfaces, est alors plus facile. Mais ce déploiement a également pour conséquence d'améliorer la solvation de la protéine par l'eau (30), et donc sa solubilité, ce qui gêne l'accès de la protéine à la surface (1re étape du phénomène d'adsorption). Expérimentalement, nous constatons que le dépôt est moins important à faible température et en s'écartant du pI, ce qui nous permet de supposer que l'interaction de la protéine avec l'eau, l'emporte sur l'interaction avec la surface de verre.

### III CONCLUSION SUR L'ADSORPTION D' $\alpha$ -LACTALBUMINE SUR SURFACES DE VERRES

L'étude en micro-Raman de dépôts fins et épais d' $\alpha$ -La., préparés sur verre Pyrex à pH = 3,5, 4,85 et 6,2 et à 55°C et 90°C, a donc montré que les dépôts épais sont formés par adsorption d' $\alpha$ -La. sur dépôts fins. Cette adsorption semble contrôlée par des forces intermoléculaires de type liaisons hydrogène, semblables à celles qui existent entre protéines en solution. Ainsi, dans les dépôts épais, la protéine est dans un état proche de celui dans lequel elle est en solution. Seule sa structure secondaire est partiellement modifiée. Plus précisément à pH  $\leq$  pI, l' $\alpha$ -La. adopte majoritairement les structures en feuillet  $\beta$  et courbure  $\beta$ , alors qu'à pH  $>$  pI, elle est en hélice  $\alpha$  et désordonnée.

La formation des dépôts fins est due semble-t-il également à l'existence de liaisons hydrogène, mais ici entre la protéine et la surface du verre. Ces liaisons semblent résulter plus précisément d'un transfert électronique entre les paires d'électrons libres des oxygènes des doubles liaisons C=O de la protéine, et les hydrogènes acides des groupements silanols présents à la surface du verre. Les sites d'adhésion de la protéine semblent donc être les groupements carboxyles des di-acides aminés et surtout les liaisons C=O des liaisons peptidiques, notamment celles portées par les résidus "glycine" de la chaîne.

Le pH et la température de la solution protéique n'ont pas d'influence qualitative sur la formation du dépôt initial, mais par contre ils ont une influence quantitative qui semble liée essentiellement à la solubilité de la protéine : en effet, celle-ci diminue lorsque l'on se rapproche du pI, ou lorsque la température augmente tout en restant inférieure à 100°C. Cette diminution de solubilité favorise le transport des protéines vers la surface, ce qui se traduit par un accroissement du dépôt (taille des dépôts épais et nombre de sites), qui est observé expérimentalement.

**CONCLUSION**

D'après cette étude, il semble donc que l'adsorption sur surfaces minérales, de molécules complexes telles que l' $\alpha$ -Lactalbumine, ainsi que l'adsorption de molécules simples (acides ou bases), soient contrôlées par des interactions de type acide-base. En modifiant le caractère acido-basique des surfaces ou en utilisant un tiers corps qui interagirait plus fortement que la surface, avec les molécules adsorbantes, on peut donc espérer modifier et surtout réduire l'adhésion.

SYNTHESE ET

CONCLUSION

## SYNTHESE ET CONCLUSION

Le but de notre étude était d'analyser les interactions entre molécules organiques et surfaces minérales et plus particulièrement entre protéines du lactosérum et surfaces de verres et vitrocéramiques (PYREX, VISION et VISION DECO). Nous nous sommes plus spécialement attachés à déterminer la nature de l'adhésion entre une protéine du lactosérum, (l' $\alpha$ -Lactalbumine), et ces substrats, dans le but d'en comprendre les mécanismes et de proposer éventuellement des solutions pour réduire cette adhésion.

Pour expliquer l'adhésion en général, nous avons rappelé au Chapitre I, qu'il existe plusieurs théories. Parmi celles-ci, la théorie thermodynamique et la théorie des liaisons chimiques ont souvent été appliquées aux cas d'adsorptions de composés biologiques sur des surfaces de polymères et de molécules diverses sur matériaux vitreux. C'est pourquoi nous avons décidé d'aborder notre étude de l'adhésion de protéines sur verres par ces deux théories. Ceci impliquait tout d'abord de caractériser énergétiquement et chimiquement les surfaces des substrats, et ensuite de déterminer la nature des liaisons protéines-verres.

Le tableau IV.1. reprend les résultats les plus importants obtenus dans chaque partie du travail. Les flèches schématisent les relations existant entre ces différents résultats, résultats qui permettent de proposer un mécanisme cohérent sur la nature et le type des interactions.

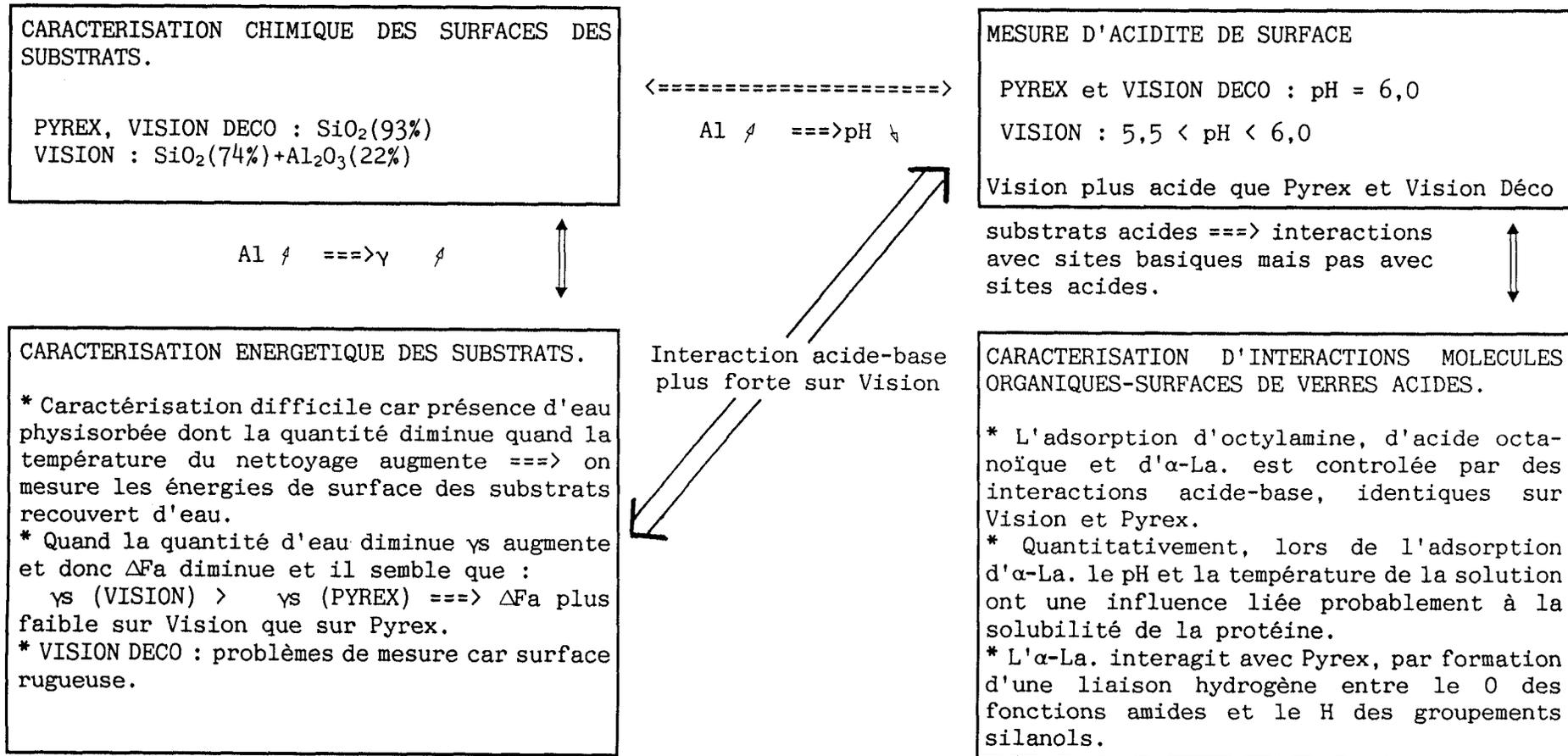


Tableau IV.1. : Tableau de synthèse des résultats obtenus lors de l'étude d'interactions molécules organiques-surfaces de verres.

La caractérisation de la composition chimique des substrats par analyses XPS et SEM-EDXA nous a permis de montrer que le PYREX est composé majoritairement de  $\text{SiO}_2$  et minoritairement de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  et  $\text{Al}_2\text{O}_3$  et que la répartition de ces oxydes est hétérogène : Na, B et Al sont plus concentrés au coeur du matériau alors que K est surconcentré en surface.

Le VISION est composé essentiellement de  $\text{SiO}_2$  et  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (3 atomes de Si pour un atome de Al) et minoritairement de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ , BaO,  $\text{ZrO}_2$ , MgO,  $\text{TiO}_2$  et ZnO et sa composition est relativement homogène. Seul K et Ba semblent légèrement surconcentrés en surface.

Le VISION DECO a, au coeur, la même composition que le VISION, mais en surface il présente des différences de composition dues à des mouvements de migration, intervenus probablement lors du recuit donnant cette vitrocéramique. En particulier, la surface et les couches peu profondes du VISION Déco sont appauvries en Na, K, Ba, Mg et probablement Zn, mais surtout Al, puisqu'en surface le rapport Si/Al en nombre d'atomes est de 17 environ au lieu de 3 au coeur.

La caractérisation énergétique des substrats (Ch. II, 2e partie) nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

La détermination des énergies de surface de solides de haute énergie et hydrophiles est très difficile, car ceux-ci sont généralement recouverts d'une couche d'eau physisorbée. Ainsi, on ne mesure pas l'énergie du substrat parfaitement propre, mais celle du substrat recouvert partiellement d'eau. Sans précautions particulières sur le type de nettoyage que l'on effectue lors de la préparation des surfaces, l'énergie de surface de la vitrocéramique VISION ( $\gamma_s$ ) apparaît du même ordre de grandeur que celle du verre PYREX. Il est néanmoins possible de faire varier la quantité d'eau physisorbée en utilisant un nettoyage adapté. Dans notre cas, les échantillons ont été nettoyés à l'aide d'un tensio-actif (RBS 35), d'un solvant polaire (éthanol à chaud) et d'un solvant apolaire (alcane à chaud), le rôle de ce dernier étant justement d'éliminer l'eau physisorbée en surface. L'utilisation de divers solvants apolaires, de températures d'ébullition différentes, permet ainsi d'éliminer cette eau à plus ou moins haute température et donc d'obtenir une couche d'eau résiduelle plus ou moins importante. Expérimentalement, nous

avons constaté qu'à la suite de nettoyages par des alcanes de températures d'ébullition croissantes, l'énergie de surface des substrats augmente : plus précisément leur composante dispersive augmente alors que leur composante polaire diminue, ces deux valeurs s'éloignant respectivement de  $\gamma_s^d$  (eau) et  $\gamma_s^p$  (eau). Pour le nettoyage le plus performant d'un point de vue réduction de la couche d'eau physisorbée (l'alcane utilisé est le décane), nous obtenons ainsi :

$$\begin{aligned} \gamma_s^d (\text{PYREX}) &\approx 207 \text{ mJ.m}^{-2} & \gamma_s^p (\text{PYREX}) &\approx 12 \text{ mJ.m}^{-2} \\ \gamma_s^d (\text{VISION}) &\approx 227 \text{ mJ.m}^{-2} & \gamma_s^p (\text{VISION}) &\approx 13 \text{ mJ.m}^{-2} \end{aligned}$$

alors que dans le cas où la quantité d'eau physisorbée est maximale, nous obtenons :

$$\begin{aligned} \gamma_s^d (\text{PYREX}) &\approx 23 \text{ mJ.m}^{-2} & \gamma_s^p (\text{PYREX}) &\approx 33 \text{ mJ.m}^{-2} \\ \gamma_s^d (\text{VISION}) &\approx 16 \text{ mJ.m}^{-2} & \gamma_s^p (\text{VISION}) &\approx 32 \text{ mJ.m}^{-2} \end{aligned}$$

Si l'on se réfère aux résultats relatifs au nettoyage au décane qui caractérisent le mieux le matériau "vrai",  $\gamma_s$  (VISION) apparaît légèrement supérieur à  $\gamma_s$  (PYREX). Or selon la théorie thermodynamique de l'adhésion, l'énergie libre d'adhésion d'un corps quelconque sur un solide ( $\Delta F_a$ ) est proportionnelle à  $(-\gamma_s^d)$  et à  $(-\gamma_s^p)$ . Il semblerait donc, d'une part, que  $\Delta F_a$  diminue quand la quantité d'eau physisorbée diminue, mais surtout, que  $\Delta F_a$  soit plus faible pour l'adhésion sur VISION que sur PYREX, et donc que l'adhésion soit plus facile sur VISION que sur PYREX.

La détermination du caractère acido-basique des substrats s'applique directement à la théorie de l'adhésion par liaisons chimiques et plus particulièrement par interactions acide-base.

Diverses études ont en outre montré que l'adsorption sur surfaces de verres est souvent contrôlée par ce type d'interaction. C'est pourquoi nous avons décidé de déterminer d'une part, le caractère acide ou basique des substrats et d'autre part de les classer suivant une échelle d'acidité. L'utilisation d'indicateurs colorés nous a apporté les résultats suivants :

- PYREX et VISION DECO : pH  $\approx$  6,0
- VISION : pH  $\approx$  5,5 - 6,0
- NiO : pH  $\approx$  7,0
- CaCO<sub>3</sub> (calcite) : pH  $>$  7,6

NiO et CaCO<sub>3</sub> sont des surfaces, respectivement neutre et basique, d'oxydes, qu'il nous a paru intéressant de comparer aux matériaux vitreux, lors de l'interaction avec des molécules simples acides ou basiques pour tester la validité de cette théorie.

En effet, l'adhésion des molécules organiques sur les surfaces de verres semble être très souvent contrôlée par des interactions de type acide-base, comme nous l'avons rappelé au chapitre I. De plus, les substrats que nous étudions étant acides et les protéines possédant de nombreux sites basiques, nous avons pensé que cette théorie pourrait expliquer l'adhésion des protéines sur les verres.

Pour vérifier son application à nos propres substrats, nous avons donc, dans un premier temps, étudié l'adhésion d'un acide organique simple, l'acide octanoïque, et d'une base simple, l'octylamine, avant d'étudier l'adsorption d' $\alpha$ -Lactalbumine sur verre PYREX et vitrocéramique VISION, à différents pH et températures.

L'analyse en micro-Raman des dépôts nous a permis de caractériser in-situ les interactions de ces diverses molécules avec les substrats PYREX, VISION, NiO et CaCO<sub>3</sub> et les résultats obtenus nous permettent d'émettre les hypothèses suivantes, qui sont bien en accord avec la théorie des liaisons acide-base :

- L'adsorption d'acide octanoïque sur surfaces basiques (NiO et CaCO<sub>3</sub>) est probablement due à la formation d'une liaison ionique entre l'ion carboxylate et le cation minéral (Ni<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>) alors qu'elle est ineffective sur les surfaces acides de PYREX et VISION.
- L'octylamine ne s'adsorbe pas sur CaCO<sub>3</sub>, adhère sur NiO par formation, semble-t-il, d'une liaison hydrogène entre l'hydrogène de la fonction amine et l'oxygène de NiO. D'autre part, elle interagit avec les surfaces acides

de PYREX et VISION, par formation d'une liaison hydrogène due à un transfert électronique entre le doublet de l'azote, et les hydrogènes des groupements silanols (SiOH) présents en surface des verres.

- L'adsorption d' $\alpha$ -Lactalbumine sur PYREX et VISION semble être due à la formation de liaisons hydrogène, par transfert électronique des doublets d'électrons libres de l'oxygène des groupements carbonyles (C=O) de la protéine (principalement présents dans les liaisons peptidiques et également sur les chaînes latérales des di-acides aminés), vers les hydrogènes acides des groupements silanols des verres. En outre, il semble que les résidus glycine de la chaîne peptidique, soient des sites d'adhésion particulièrement favorisés, ce qui peut s'expliquer par leur faible encombrement stérique.

Nous avons également constaté que le pH de la solution protéique et la température de la surface, n'influent pas qualitativement sur le mécanisme d'adhésion, mais modifient la quantité des dépôts formés : celui-ci augmente avec la température (pour des températures inférieures à 100°C) et lorsque l'on se rapproche du point isoélectrique de la protéine. Cela se traduit par un accroissement du nombre de sites d'adhésion et de la taille (épaisseur et diamètre) des grains qui constituent le dépôt. Il est probable que cette influence soit reliée à la solubilité de la protéine, qui diminue quand la température augmente et que l'on se rapproche de pI, diminution qui facilite l'accès de la protéine à la surface.

Enfin, nos analyses ont montré que les grains formant le dépôt épais, sont constitués de protéines adsorbées sur une couche fine initiatrice de l'adsorption, cette couche fine étant composée de protéines adhérant au verre suivant le mécanisme énoncé ci-dessus. L'adhésion ultérieure de protéines sur la première couche est due semble-t-il à la formation de liaisons hydrogène entre protéines, du type de celles observées dans les solutions protéiques. Mais dans ces dépôts, les protéines ont une conformation différente : il semble qu'à pH inférieur à pI, elles adoptent majoritairement une conformation en feuillet  $\beta$  et courbure  $\beta$  alors qu'à pH supérieur à pI, elles sont désordonnées ou en hélice  $\alpha$

Ces divers résultats que nous avons obtenu montrent une certaine cohérence :

Ainsi l'acidité des surfaces de verres dépend de la composition superficielle. Divers articles ont montré que les verres de  $\text{SiO}_2 - \text{Al}_2\text{O}_3$  sont plus acides que les verres de silice pure (56, 59, 146, 147). Expérimentalement, nous avons effectivement constaté que la surface du VISION était plus riche en  $\text{Al}_2\text{O}_3$  et plus acide que les surfaces de PYREX et VISION Déco.

La composition chimique superficielle semble avoir également une influence sur les énergies de surface. SCHOLZE (148) décrit l'influence de la composition sur l'énergie de surface des verres. Il indique que le remplacement de  $\text{SiO}_2$  par  $\text{Al}_2\text{O}_3$  a pour effet d'accroître l'énergie de surface. Ceci est en accord avec nos observations expérimentales, puisque le VISION apparaît un peu plus énergétique que le PYREX qui contient moins d' $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Les résultats des mesures de pH de surface sont également cohérents avec les résultats des études d'interactions, puisque celles-ci montrent que les molécules organiques interagissent sur les surfaces de PYREX et VISION par l'intermédiaire de sites ou fonctions basiques, alors que les fonctions acides n'interagissent pas avec ces surfaces acides.

En outre, le fait que VISION soit plus acide que PYREX suggère que l'interaction avec une fonction basique sera plus facile et plus forte sur la vitrocéramique. Cela suggère que  $\Delta F_a$  sera plus faible sur VISION que sur PYREX, ce qui semble confirmé par les mesures d'énergies de surface, puisque  $\gamma_s$  (VISION) est légèrement supérieure à  $\gamma_s$  (PYREX), ce qui implique, selon la théorie thermodynamique de l'adhésion,  $\Delta F_a$  (VISION) <  $\Delta F_a$  (PYREX).

Notre étude permet donc de montrer que l'adsorption d' $\alpha$ -Lactalbumine sur surfaces de verres acides (PYREX, VISION), est due probablement, à une interaction de type acide-base entre les oxygènes des groupements carbonyles de la protéine et les hydrogènes acides de la surface des verres. En supposant que le mécanisme d'adhésion proposé ci-dessus soit plausible, on peut envisager

en ce qui concerne l'application pratique de ces recherches, de réduire l'encrassement en empêchant ces interactions acide-base de se produire, et cela par modification des substrats. Une modification de la composition superficielle des verres tendant à les rendre hydrophobes, en éliminant les hydrogènes acides, semble actuellement irréalisable. Mais on pourrait éventuellement envisager de rendre les surfaces neutres.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) BURTON H. "Fouling of heat exchangers.", Dans "Ultra High Temperature Processing of Milk and Milk Products.", Elsevier Appl.Sci.(London - New York), 292-309, (1985).
- (2) LYSTER R.L.J. "The composition of milk deposits in an ultra-high-temperature plant.", J. Dairy Res., 32, 203-208, (1965).
- (3) LALANDE M., TISSIER J.P. et CORRIEU G. "Fouling of a plate heat exchanger used in ultra-high-temperature sterilization of milk.", J. Of Dairy Research , 51, 557-568, (1984).
- (4) TISSIER J.P. et LALANDE M. "Experimental device and methods for studying milk deposit formation on heat exchange surfaces.", Biotechnology Progress, 4(2), 218-229, (1986).
- (5) DELSING B.M.A. et HIDDINK J. "Fouling of heat transfer surfaces by dairy liquids.", Neth.Milk Dairy J., 37, 139-148, (1982).
- (6) BURTON H. "Reviews of the progress of dairy science. Section g. deposits from whole milk in heat treatment plant: a review and discussion.", J. Dairy Res., 35, 317-330, (1968).
- (7) SHERE L. "How to prevent and remove milk deposits." FOOD IND., 14 (7), 63-66, (1942)
- (8) GORDON K.P., HANKINSON D.J. et CARVER C.E. "Deposition of milk solids on heated surfaces.", J. Dairy Sci., 51, 520-526, (1968).
- (9) BELL R.W. et SANDERS C.F. "Prevention of milkstone formation in high-temperature-short-time heater by preheating milk, skim milk and whey.", J. Dairy Sci., 27, 499-504, (1944).
- (10) LUNDSTROM I. et SALANECK W.R. "Categories of amino acid adsorption on surfaces.", J.Coll.Interf.Sci., 108(1), 288-291, (1985).
- (11) BAIER R.E., LOEB G.I. et WALLACE G.T. "Role of an artificial boundary in modifying blood proteins.", Federation Proceed., 30(5), 1523-1538, (1971).
- (12) BAIER R.E. "Modification of surfaces to reduce fouling and/or improve cleaning.", dans "Fundamentals And Applications Of Surface Phenomena Associated With Fouling And Cleaning In Food Processing", HALLSTROM B., LUND D.B. ET TRAGARDH C. (EDS), LUND UNIVERSITY, 168-189, (1981).
- (13) GENDREAU R.M., LEININGER R.I., WINTERS S. et JAKOBSEN R.J. "Fourier transform infrared spectroscopy for protein-surface studies" Biomaterials: Interfacial Phenomena And Applications, Eds: S.L.COOPER & N.A.PEPPAS, 371-394, (1982).
- (14) GENDREAU R.M., WINTERS S., LEININGER R.I., FINK D., HASSLER C.R. et JAKOBSEN R.J. "Fourier transform infrared spectroscopy of protein adsorption from whole blood: ex vivo dog studies.", Appl.Spectrosc., 35(4), 353-357, (1981).

- (15) WINTERS S., GENDREAU R.M., LEININGER R.I. et JAKOBSEN R.J. "Fourier transform infrared spectroscopy of protein adsorption from whole blood: II. ex vivo sheep studies.", *Appl.Spectrosc.*, 36(4), 404-409, (1982).
- (16) MATSUI T., TANAKA S., AKAIKE T., SAKURAI Y., NITADORI Y. et TAKAOKA K. "Study of plasma proteins adsorbed on polymer surfaces by Fourier transform infrared spectrometry.", *J.Bioeng.*, 2, 539-541, (1978).
- (17) GENDREAU R.M. "Breaking the one second barrier: fast kinetics of protein adsorption by FT-IR.", *Appl.Spectrosc.*, 36(1), 47-49, (1982).
- (18) GENDREAU R.M. et JAKOBSEN R.J. "Blood-surface interactions: Fourier transform infrared studies of protein surface adsorption from flowing blood plasma and serum", *J.Biomed.Mater.Res.*, 13, 893-906, (1979).
- (19) VROMAN L. et ADAMS A.L. "Identification of adsorbed protein films by exposure to Antisera and water vapor.", *J.Biomed.Mater.Res.*, 3, 669-671, (1969).
- (20) VROMAN L. et ADAMS A.L. "Identification of rapid changes at plasma-solid interfaces.", *J.Biomed.Mater.Res.*, 3, 43-67, (1969).
- (21) ALAIS C. "Sciences du lait. Principes des techniques laitières.", 3<sup>e</sup> édition, Ed : S.E.P. (Paris), (1974).
- (22) CHEFTEL J.C., CUQ J.L. et LORIENT D. "Protéines alimentaires.", Ed : Techniques et documentations - Lavoisier (Paris), (1985).
- (23) DECKMYN H. et PREAUX G. "Chain folding prediction of the bovine  $\beta$ -Lactoglobulin.", *Arch.Int.Physiol.Biochim.*, 86, 938-939, (1978).
- (24) PAPIZ M.Z., SAWYER L., ELIOPOULOS E.E., NORTH A.C.T., FINDLAY J.B.C. et SIVAPRASADARAO R. "The structure of  $\beta$ -Lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein.", *Nature*, 324, 383-385, (1986).
- (25) HILLIER R.M. et LYSTER R.L.J. "Whey protein denaturation in heated milk and cheese whey.", *J.Dairy Res.*, 46, 95-102, (1979).
- (26) DALGLEISH D.G. "Milk proteins - chemistry and physics.", dans "Food Proteins" EDS P.F. FOX, J.J. LONDON. APPL. SCI. PUB., NEW-YORK - LONDON, 8, 155-178, (1988).
- (27) HIRAOKA Y., SEGAWA T., KUWAJIMA K., SUGAI S. et MURAI N. " $\alpha$ -Lactalbumin: a Calcium metalloprotein.", *Biochem.Biophys.Res.Communic.*, 3(95), 1098-1104, (1980).
- (28) RUEGG M., MOOR U., LUKESCH A. et BLANC B. "2.1. Hydration and thermal stability of  $\alpha$ -Lactalbumin. A calorimetric study.", dans "Application of calorimetry in life science", DE GRUYTER W. (BERLIN-NEW YORK), 59-73, (1977).
- (29) CHAPLIN L.C et LYSTER R.L.J "Irreversible heat denaturation of bovine  $\alpha$ -Lactalbumin.", *J.Dairy Res.*, 53, 249-258, (1986).
- (30) YU N.T. "Comparison of protein structure in crystals, in lyophilised state, and in solution by laser Raman scattering. III.  $\alpha$ -Lactalbumin.", *J.Amer.Chem.Soc.*, 96(14), 4664-4668, (1974).
- (31) LIN V.J.C. et KOENIG J.L. "Raman studies of Bovine Serum Albumin.", *Biopolymers*, 15, 203-218, (1976).

- (32) FRUSHOUR B.G. et KOENIG J.L. "Raman studies of the crystalline, solution, and alkaline-denatured states of  $\beta$ -Lactoglobulin.", *Biopolymers*, 14, 649-662, (1975).
- (33) PEZOLET M., PIGEON-GOSSELIN M. et COULOMBE L. "Laser Raman investigation of the conformation of human Immunoglobulin g.", *Biochim.Biophys.Acta*, 453, 502-512, (1976).
- (34) FRUSHOUR B.G. et KOENIG J.L. "Raman spectroscopic study of Tropomyosin denaturation.", *Biopolymers*, 13, 1809-1819, (1974).
- (35) BURTON H. "A method for studying the factors in milk which influence the deposition of milk solids on a heated surface.", *J.Dairy Res.*, 32, 65-78, (1965).
- (36) SKUDDER P.J., BROOKER B.E., BONSEY A.D. et ALVAREZ-GUERRERO N.R. "Effect of pH on the formation of deposit from milk on heated surfaces during ultra high temperature processing.", *J.Dairy Res.*, 53, 75-87, (1986).
- (37) HIDDINK J., LALANDE M., MAAS A.J.R. et STREUPER A. "Heat treatment of whipping cream. I.Fouling of the pasteurization equipment.", *Milchwissenschaft*, 41(9), 542-546, (1986).
- (38) LIEDBERG B., IVARSSON B., HEGG P.O. et LUNDSTROM I. "On the adsorption of  $\beta$ -Lactoglobulin on hydrophilic gold surfaces: studies by infrared reflection-absorption spectroscopy and ellipsometry.", *J.Coll.Interface.Sci.*, 114, 2, 386-397, (1986).
- (39) LUND D. et SANDU C. "Chemical reaction fouling due to foodstuffs.", dans *Fouling Of Heat Transfer Equipment.*, Ed: SOMERSCALES E.F.C. et KNUDSEN J.G. Hemisphere Publishing Corporation, 436-476, (1981).
- (40) FOWKES F.M. "Attractive forces at interfaces.", *Industrial And Engineering Chemistry*, 56(12), 40-52, (1964).
- (41) FOWKES F.M. "Intermolecular and interatomic forces at interfaces.", *Surfaces And Interfaces*, I, 197-224, (1967).
- (42) FOWKES F.M. et MOSTAFA M.A. "Acid-base interactions in polymer adsorption.", *Ind.Eng.Chem.Prod.Res.Dev.*, 17(1), 3-7, (1978).
- (43) IKADA Y., SUZUKI M. et TAMADA Y. "Polymer surfaces possessing minimal interaction with blood components.", *Polym.Preprints (Am.Chem.Soc.Div.Polym.Chem.)*, 24(1), 19-20, (1983).
- (44) FOWKES F.M. "Donor-acceptor interactions at interfaces.", *Org.Coat.Plast.Chem.*, 40, 13-18, (1979).
- (45) FOWKES F.M. "Acid-base interactions in polymer adhesion.", *Physicochemical Aspects Of Polymer Surfaces.* Ed: K.L. MITTAL. PLENUM PRESS, 2, 583-603, (1983).
- (46) ALLEN K.W. "A review of contemporary views of theories of adhesion.", *J.Adhesion*, 21, 261-277, (1987).
- (47) DRAGO R.S., VOGEL G.C. et NEEDHAM T.E. "A four-parameter equation for predicting enthalpies of adduct formation.", *J.Amer.Chem.Soc*, 93 23, 6014-6026, (1971).
- (48) BUSSCHER H. "Surface free energies and the adhesion of oral bacteria.", *Thèse D'Etat*, Groningen, Netherlands, (1985).

- (49) ABSOLOM D.R., LAMBERTI F.V., POLICOVA Z., ZINGG W., VAN OSS C.J. et NEUMANN A.W. "Surface thermodynamics of bacterial adhesion.", *Appl.Env.Microbiol.*, 46, 90-97, (1983).
- (50) VAN PELT A.W.J., BUSSCHER H.J., UYEN H.M.W.J.C., WEERKAMP A.H., DE JONG H.P. et ARENDS J. "Adhesion of *S.sanguis* to polymers over a broad range of surface free energies - an in vitro study.", dans "Bacterial adhesion and preventive dentistry" Eds: Ten cate, Leach et Arends (IRL Press Ltd, London), 167-177, (1984)
- (51) NORDE W. "The behaviour of biological materials at solid/liquid surfaces. Physicochemical aspects.", dans "Fundamentals And Applications Of Surface Phenomena Associated With Fouling And Cleaning In Food Processing", Eds: HALLSTRÖM B., LUND D.B. et TRÄGARDH Ch. (Division Of Food Engineering, Lund Univ. - Suède), 148-165, (1981).
- (52) NASSAUER J. et KESSLER H.G. "Problems of particle adhesion to surfaces.", dans "Fouling And Cleaning In Food Processing", Eds: LUND D.B., PLETT E., SANDU C., (Madison, Wisconsin University, Usa), 346-357, (1986).
- (53) SCHUBERT H. "Particle adhesion to solid surfaces.", dans "Fundamentals And Applications Of Surface Phenomena Associated With Fouling And Cleaning In Food Processing", Eds: HALLSTRÖM B., LUND D.B. et TRÄGARDH Ch. (Division Of Food Engineering, Lund Univ. - Suède), 57-75, (1981).
- (54) DRAGO R.S., PARR L.B. et CHAMBERLAIN C.S. "Solvent effects and their relationship to the E and C equation.", *J.Amer.Chem.Soc.*, 99(10), 3203-3209, (1977).
- (55) FOWKES F.M. "Characterisation of solid surfaces by wet chemical techniques.", American Chemical Society, Symposium Series, 199, 69-88, (1982).
- (56) WALLING C. "The acid strength of surfaces.", *J.Am.Chem.Soc.*, 72, 1164-1168, (1950).
- (57) JOHNSON O. "Acidity and polymerization activity of solid acid catalysts.", *J.Phys.Chem.*, 59, 827-831, (1955).
- (58) BENESI H.A. "Acidity of catalyst surfaces. II. Amine titration using Hammett indicators.", *J.Phys.Chem.*, 61, 970-973, (1957).
- (59) BENESI H.A. "Acidity of catalyst surfaces. I. Acid strength from colors of adsorbed indicators.", *J.Am.Chem.Soc.*, 78, 5400-5494, (1956).
- (60) BOLGER J.C. "Acid base interactions between oxide surfaces and polar organic compounds.", *Adhesion Aspects Of Polymeric Coatings. Proceedings Of A Symposium, Minneapolis.* Ed: MITTAL K.L., 3-18, (1981).
- (61) ARSLANOV V.V., FUNKE W. "The effect of water on the adhesion of organic coatings on aluminium.", *Progress In Organic Coatings*, 15, 355-363, (1988).
- (62) MAC RITCHIE F. "Proteins at interfaces.", *Adv.Protein Chem.*, 32, 283-326, (1978).
- (63) MORRISSEY B.W. et STROMBERG R.R. "The conformation of adsorbed blood proteins by infrared bound fraction measurements.", *J.Coll.Interf.Sci.*, 46(1), 152-164, (1974).

- (64) MESSING R.A. "Adsorption of proteins on glass surfaces and pertinent parameters for the immobilization of enzymes in the pores of inorganic carriers.", *J.Non-Crystalline Solids*, 19, 277-283, (1975).
- (65) MESSING R.A. "Molecular inclusions. adsorption of macromolecules on porous glass membranes.", *J.Amer.Chem.Soc.*, 91(9), 2370-2371, (1969).
- (66) LIEDBERG B., CARLSSON C. et LUNDSTROM I. "An infrared reflection-absorption study of amino acids adsorbed on metal surfaces: l-Histidine and l-Phenylalanine on gold and copper.", *J.Coll.Interf.Sci.*, 120(1), 64-75, (1987).
- (67) KISELEV A.V. et LYGIN V.I. "Infrared spectroscopy of solid surfaces and adsorbed molecules.", *Surf.Sci.*, 2, 236-244, (1964).
- (68) GALKIN G.A., KISELEV A.V. et LYGIN V.I. "Infra-red spectra of benzene adsorbed on silica.", *Russ.J.Phys.Chem.*, 36(8), 951-954, (1962).
- (69) MATTHEWS D.B. "Electrochemical studies on the adsorption of amino acids in relation to the compatibility of prosthetic materials and the human body.", *J.Biomed.Mater.Res.*, 3, 475-496, (1969).
- (70) FERRIS K.F. et PEDERSON L.R. "In situ characterisation by Fourier transform infrared spectroscopy of the reactions between glass and water.", *Phys.Chem.Glasses*, 29(1), 9-12, (1988).
- (71) KISELEV A.V. "Molecular interactions at short distances.", *Russ.J.Phys.Chem.*, 38(12), 1501-1513, (1964).
- (72) BORISOVA M.S., DZIS'KO V.A., IGNAT'EVA L.A. et TIMOFEEVA L.N. "An investigation of the acidity of the hydroxyl groups on the surface of oxide catalysts by mean of infrared spectroscopy.", *Kinet.Katal.*, 4, 401-406, (1963).
- (73) DAVYDOV V.Y., KISELEV A.V. et KUZNETSOV B.V. "Spectroscopic and energetic aspects of the interaction of a hydroxyl group with molecules of various electronic structures.", *Russ.J.Phys.Chem.*, 39(8), 1096-1101, (1965).
- (74) BASILA M.R. "Hydrogen bonding interaction between adsorbate molecules and surface hydroxyl groups on silica.", *J.Chem.Phys.*, 35(4), 1151-1158, (1961).
- (75) HAIR M.L. "Silica surfaces.", dans "Infrared Spectroscopy In Surface Chemistry", Ed DEKKER, NEW YORK, 79-266, (1967).
- (76) BULL H.B. "Adsorption of bovine serum albumine on glass.", *Biochim. Biophys.Acta*, 19, 464-471, (1956).
- (77) BULL H.B. "Adsorbed monolayers of egg albumin.", *Arch.Biochem.Biophys.*, 68, 102-111, (1957).
- (78) SIMON H. "Propriétés interfaciales dans les composites: énergie de surface et adhésion fibre de verre/matrice macromoléculaire.", Thèse Docteur D'Etat, Université De Haute-Alsace, (1984).
- (79) BERTOTI I., MOHAI M., REVESZ M. et ALEXANDER G. "Surface composition of glasses: modifications induced by chemical and thermal treatments.", *Vacuum*, 37, 1-2, 129-131, (1987).

- (80) RINCON J.M. et CALLEJAS P. "Microanalysis of the surface in glass-ceramics obtained from muscovite-amblygonite.", *J.Mater.Sci.*, 23, 1042-1049, (1988).
- (81) HENCH L.L. et CLARK D.E. "Surface analysis of glasses.", *Amer.Chem. Soc., Industrial Applications Of Surface Analysis, Acs.Symp.Ser.* 199, 203-225, (1982).
- (82) LEE C.T. et CLARK D.E. "Characterisation of glass surfaces.", *Applications Of Surface Science*, 20, 397-412, (1985).
- (83) XUE G., LIU S., JIN Y. et JIANG S. "Infrared spectroscopic studies of the surface molecular orientation layer of glass fibers.", *Appl.Spectrosc.* 41(2), 264-267, (1987).
- (84) PANTANO C.G. et BROW R.K. "Hydrolysis reactions at the surface of fluorozirconate glass.", *J.Amer.Ceram.Soc.*, 71(7), 577-581, (1988).
- (85) WANG Y., OSAKA A., MIURA Y. et TSUGARU T. "X-ray photoelectron spectroscopic study of lead fluoroborate glasses.", *J.Mater.Sci.Lett.*, 8, 421-423, (1989).
- (86) BACH H., GROSSKOPF K., MARCH P., RAUCH F. "In-depth analysis of elements and properties of hydrated subsurface layers on optical surfaces of a  $\text{SiO}_2\text{-BaO-B}_2\text{O}_3$  glass with SIMS, IBSCA, RBS and NRA.", *Glastech.Ber.*, 60, 21-46, (1987).
- (87) SCHREINER M. "Deterioration of stained medieval glass by atmospheric attack. Part 2. secondary ion mass spectrometry analysis of the naturally weathered glass surfaces.", *Glastech.Ber.*, 61(8), 223-230, (1988).
- (88) BIZOUARD H. "Echantillons géologiques, verres et céramiques: préparation et analyse.", dans "Microanalyse Et Microscopie Electronique A Balayage", Eds: MAURICE F., MENY L. ET TIXIER R. , Editions De Physique, Partie II, Chap 2, 381-395, (1984).
- (89) WALKER T.M. et HOWITT D.G. "Field-induced migration of sodium in soda silicate glasses during scanning electron microscopy.", *Scanning*, 11, 5-11, (1988).
- (90) MARTENSSON N. "ESCA.", *Treatise On Materials Science And Technology*, 27, 65-109, (1988).
- (91) SCOFIELD J.H. "Hartree-Slater subshell photoionization cross-sections at 1254 and 1487 eV.", *J.Electron Spectros.*, 8, 129-137, (1976).
- (92) *Handbook Of Chemistry And Physics*. 57<sup>e</sup> éd., Ed : WEAST R.C. (C.R.C. Press, Cleveland, (1976-1977)
- (93) MAURICE F. "Emission X.", dans "Microanalyse et microscopie électronique à balayage.", Ed: les éditions de Physique (Les Ulis), 171-218, (1978).
- (94) ROOMANS G.M. "Introduction to X-ray microanalysis in biology.", *J. Electron Microscopy Tech.*, 9(1), 3-18, (1988).
- (95) ROOMANS G.M. "Quantitative X-ray microanalysis of biological specimen.", *J. Electron Microscopy Tech.*, 9(1), 19-45, (1988).

- (96) GOLDSTEIN J.I., NEWBURY D.E., ECHLIN P., JOY D.C., FIORI C. et LIFSHIN E. "Scanning electron microscopy & X-ray microanalysis: preparation of biological samples for scanning electron microscopy.", ED. Plenum Pub. Corporation, New-York, Ch 11, 494-539, (1979).
- (97) REED S.J.B. "Characteristic fluorescence corrections in electron-probe microanalysis.", Brit.J.Appl.Phys., 16, 913-926, (1965).
- (98) KANAYA K. et OKAYAMA S. "Penetration and energy-loss theory of electrons in solid targets" J.Phys.D.Appl.Phys., 5, 43-58, (1972).
- (99) "Manuel d'instructions du microscope électronique à balayage - JSM 35 CF.", Société JEOL (92500 RUEIL-MALAMISON FRANCE).
- (100) RUSTE J. "Spectrométrie de rayons X", dans "Microanalyse et microscopie électronique à balayage.", Ed : les éditions de Physique (Les Ulis) , 219-271, (1978).
- (101) "Technical Manual Link LZ5.", LINK SYSTEM - High Wycombe, Bucks, England HP12 3SE.
- (102) CARRE A. "Caractérisation d'un solide de haute énergie superficielle (aluminium). Relations propriétés de surface/adhésion.", Thèse De Docteur D'Etat Es Science Physique, Univ. De Haute Alsace, (1980).
- (103) OWENS D.K. et WENDT R.C. "Estimation of the surface free energy of polymers.", J. Of Appl.Polym.Sci., 13, 1741-1747, (1969).
- (104) BELLON-FONTAINE M.N. "Caractérisation physico-chimique des surfaces solides et adhésion des bactéries aux surfaces.", Thèse De Docteur De 3 Ieme Cycle, Université Pierre Et Marie Curie, Paris 6, (1986).
- (105) ADAMSON A.W. "Physical Chemistry of Surfaces.", 4<sup>o</sup>éd., Ed : John Wiley and sons (New York, 1982)
- (106) ZISMAN W.A. "Relation of the equilibrium contact angle to liquid and solid constitution.", Advances In Chemistry Series, 1-51, (1963).
- (107) WARD C.A. et NEUMANN A.W. "On the surface thermodynamics of a two-component liquid-vapor-ideal solid system.", Journal Of Colloid And Interface Science, 49(2), 286-290, (1974).
- (108) BUSSCHER H.J., VAN PELT A.W.J., DE JONG H.P. et ARENDS J. "Effect of spreading pressure on surface free energy determinations by means of contact angle measurements.", J.Coll.Interf.Sci., 95(1), 23-27, (1983).
- (109) TAMAI Y., MAKUUCHI K. et SUZUKI M. "Experimental analysis of interfacial forces at the plane surface of solids.", J.Phys.Chem., 71(13), 4176-4179, (1967).
- (110) SHANAHAN M., CAZENEUVE C., CARRE A. et SCHULTZ J. "Wetting criteria in three phase solid/liquid/liquid systems.", Journal De Chimie Physique, 79(3), 241-245, (1982).
- (111) SHANAHAN M.E.R., J.Chem.Sci.Faraday Trans.1, 78, 2701-, (1982).
- (112) HUH C. et MASON S.G., "Effects of surface roughness on wetting (theoretical).", J.Coll.Interf.Sci., 60, 11-, (1977)
- (113) BUSSCHER H.J., VAN PELT A.W.J., DE BOER P., DE JONG H.P. et ARENDS J. "The effects of surface roughening of polymers on measured contact angles of liquids.", Colloids And Surfaces, 9, 319-331, (1984).

- (114) SALANECK W.R., LUNDSTRÖM I. et LIEDBERG B. "Photoelectron spectroscopy of amino acids adsorbed upon surfaces: glycine on graphite.", *Progr. Coll. Polym. Sci.*, 70, 83-88, (1985).
- (115) WU C.R., NILSSON J.O. et SALANECK W.R. "Photoelectron spectroscopy of the adsorption of amino acids on surfaces : glycine on Si(O<sub>2</sub>)<sup>\*</sup>.", *Physica Scripta*, 35, 586-589, (1987).
- (116) LIEDBERG B., LUNDSTROM I., WU C.R. et SALANECK W.R. "Adsorption of glycine on hydrophilic gold.", *J. Coll. Interf. Sci.*, 108(1), 123-132, (1985).
- (117) RATNER B.D. et HORBETT T.A. "Analysis of the organization of protein films on solid surfaces by ESCA.", *J. Coll. Interf. Sci.*, 83, 630-642, (1981).
- (118) PAYNTER R.W., RATNER B.D., HORBETT T.A. et THOMAS H.R. "XPS studies on the organization of adsorbed protein films on fluoropolymers.", *J. Coll. Interf. Sci.*, 101(1), 233-245, (1984).
- (119) GÖLANDER C.G., JÖNSSON S., VLADKOVA T., STENIUS P. et ERIKSSON J.C. "Preparation and protein adsorption properties of photopolymerized hydrophilic films containing N-Vinylpyrrolidone (NVP), Acrylic acid (AA) or Ethylene oxide (EO) units as studied by ESCA.", *Coll. Surf.*, 21, 149-165, (1986).
- (120) GÖLANDER C.G. et KISS E. "Protein adsorption on functionalized and ESCA-characterized polymer films studied by ellipsometry.", *J. Coll. Interf. Sci.*, 121(1), 240-253, (1988).
- (121) RATNER B.D., JOHNSTON A.B. et LENK T.J. "Biomaterial surfaces.", *J. Biomed. Mater. Res.: Appl. Biomater.*, 21(A1), 59-90, (1987).
- (122) HIRSCHFELD T. "Subsurface layer studies by attenuated total reflection Fourier transform spectroscopy.", *Appl. Spectr.*, 31(4), 289-292, (1977).
- (123) SUNG C.S.P. et HOBBS J.P. "Development of FT-IR attenuated total internal reflection dichroism techniques for structural characterization of polymer surfaces." *Chem. Eng. Commun.*, 30, 229-250, (1984).
- (124) OHTA K. et IWAMOTO R. "Experimental proof of the relation between thickness of the probed surface layer and absorbance in FTIR-ATR spectroscopy.", *Appl. Spectrosc.*, 39, 418-425, (1985).
- (125) TENNEY A.S. et WONG J. "Vibrational spectra of vapor-deposited binary borosilicate glasses.", *J. Chem. Phys.*, 56(11), 5516-5523, (1972).
- (126) VILLEGAS M.A. et NAVARRO J.M.F. "Characterization of B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> glasses prepared via sol-gel.", *J. Mater. Sci.*, 23, 2464-2478, (1988).
- (127) BERTOLUZZA A., FAGNANO C., MORELLI M.A., GOTTARDI V. et GUGLIELMI M., "Raman and infrared spectra on silica gel evolving toward glass.", *J. Non Cryst. Solids*, 48, (1982).
- (128) LONG D.A. "Raman spectroscopy.", Ed: Mc Graw Hill - International book company, 204-209, (1977).
- (129) BELLAMY L.J. "The infrared spectra of complex molecules.", 3<sup>o</sup> éd. Ed: Chapman et Hall, Vol 1., (1975).



- (130) DELHAYE M. et MERLIN J.C. "Introduction à la spectrométrie Raman.", *Biochimie*, 57, 401-415, (1975).
- (131) LALANDE M., TISSIER J.P., CERF O., RENARD L. et MOREAU M. "Chap 43. use of decominol as a new sterilizing agent in the UHT processing of milk.", dans "Food Engineering And Process Applications , Vol 2 Unit Operations", Eds: LE MAGUER M. ET JELEN P., Elsevier Appl. Sci. Pub. (London and New York), (1986).
- (132) KAIDEN K., MATSUI T. et TANAKA S. "A study of the amide III band by FT-IR spectrometry of the secondary structure of albumin, myoglobin, &  $\gamma$ -globulin.", *Appl.Spectrosc.*, 41(2), 180-184, (1987).
- (133) KATO K., MATSUI T. et TANAKA S. "Quantitative estimation of  $\alpha$ -helix coil content in Bovine Serum Albumin by Fourier transform-infrared spectroscopy.", *Appl.Spectrosc.*, 41(5), 861-865, (1987).
- (134) CHEN M.C., LORD R.C. et MENDELSON R. "Laser-excited raman spectroscopy of biomolecules. V.Conformational changes associated with the chemical denaturation of Lysozyme.", *J.Amer.Chem.Soc.*, 96(10), 3038-3042, (1974).
- (135) JAKOBSEN R.J. et CORNELL D.G. "FT-IR studies of Langmuir-Blodgett thin protein films: albumin.", *Appl.Spectrosc.*, 40(3), 318-322, (1986).
- (136) SUSI H. et BYLER D.M. "Fourier deconvolution of the amide I Raman band of proteins as related to conformation.", *Appl.Spectrosc.*, 42(5), 819-826, (1988).
- (137) BYLER D.M., FARRELL H.M. et SUSI H. "Raman spectroscopic study of casein structure.", *J.Dairy Sci.*, 71, 2622-2629, (1988).
- (138) MARX J., HUDRY-CLERGEON G, CAPET-ANTONINI F et BERNARD L. "Laser Raman spectroscopy study of bovine fibrinogen and fibrin.", *Biochem.Biophys.Acta*, 578, 107-115, (1979).
- (139) LORD R.C. et YU N.T. "Laser-excited Raman spectroscopy of biomolecules. II. Native Ribonuclease and  $\alpha$ -Chymotrypsin.", *J.Mol.Biol.*, 51, 203-213, (1970).
- (140) KIRSCH J.L. et KOENIG J.L. "The variable-temperature FT-IR study of the secondary structure of  $\gamma$ -Globulin, Chymotrypsin, Serum Albumin, and  $\beta$ -Lactoglobulin in aqueous solution.", *Appl.Spectrosc.*, 43(3), 445-451, (1989).
- (141) BYLER D.M., SUSI H. et FARRELL H.M. "Laser-Raman spectra, sulfhydryl groups, and conformation of the Cystine linkages of  $\beta$ -Lactoglobulin.", *Biopolym.*, 22, 2507-2511, (1983).
- (142) BYLER D.M. et SUSI S. "Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FT-IR spectra.", *Biopolym.*, 25, 469-487, (1986).
- (143) CASAL H.L., KOHLER U. et MANTSCH H.H. "Structural and conformation changes of  $\beta$ -Lactoglobulin B: an infrared spectroscopic study of the effect of pH and temperature.", *Biochim.Biophys.Acta*, 957, 11-20, (1988).
- (144) BYLER D.M., BROUILLETTE J.N. et SUSI H. "Quantitative studies of protein structure by FT-IR spectral deconvolution and curve fitting.", *Spectroscopy*, 1(3), 29-32, (1986).

- (145) HAALAND D.M. et BRINKER C.J. "In situ FT-IR studies of oxide and oxynitride sol-gel-derived thin films.", Mater.Res.Soc. Symposium Proceeding, 32, 267-273, (1984).
- (146) SCOKART P.O., DECLERCK F.D., SEMPELS R.E. et ROUXHET P.G. "Evolution of the acidic properties of silica-alumina gels as a function of chemical composition : infrared approach.", J.Chem.Soc. Faraday Trans., 73, 359-371, (1977).
- (147) TRET'YAKOV N.E. et FILIMONOV V.N. "An IR spectroscopic comparison of the electron-acceptor capacity of aprotic acid centers on metal oxides.", Kinet.Catal., 14, 803-805, (1973).
- (148) SCHOLZE H. "Le Verre. Nature, structure et propriétés", 2° éd. Ed: Institut du verre, Paris, 1980.
- (149) DELHAYE M. et DHAMELINCOURT P. "Raman microprobe and microscope with laser excitation.", J.Raman.spectrosc., 3, 33-43, (1975).
- (150) DHAMELINCOURT P., WALLART F., LECLERCQ M., N'GUYEN A.T. et LANDON D.O. "Laser Raman molecular microprobe (MOLE).", Analytical Chem., 51, p 414A, (1979).
- (151) DELHAYE M, DHAMELINCOURT P., DA SILVA E. et MOSCHETTO Y. Brevets ANVAR: "Dispositif d'étude non destructives de surfaces hétérogènes - 7342945 - 03 Déc 1973." et "Microsonde optique à laser - 7621539 - 02 Juil.1976."
- (152) DHAMELINCOURT P. "Etude et réalisation d'une microsonde moléculaire à effet Raman. Quelques domaines d'applications. Thèse . USTL - Lille I. 12 Janv. 1979.
- (153) DHAMELINCOURT M.C. et DHAMELINCOURT P. "The Raman microprobe : a new analytical tool for studying solid phase reactions.", Appl.Spectrosc., 37(6), 512-514, (1983).

- ANNEXE 1 -

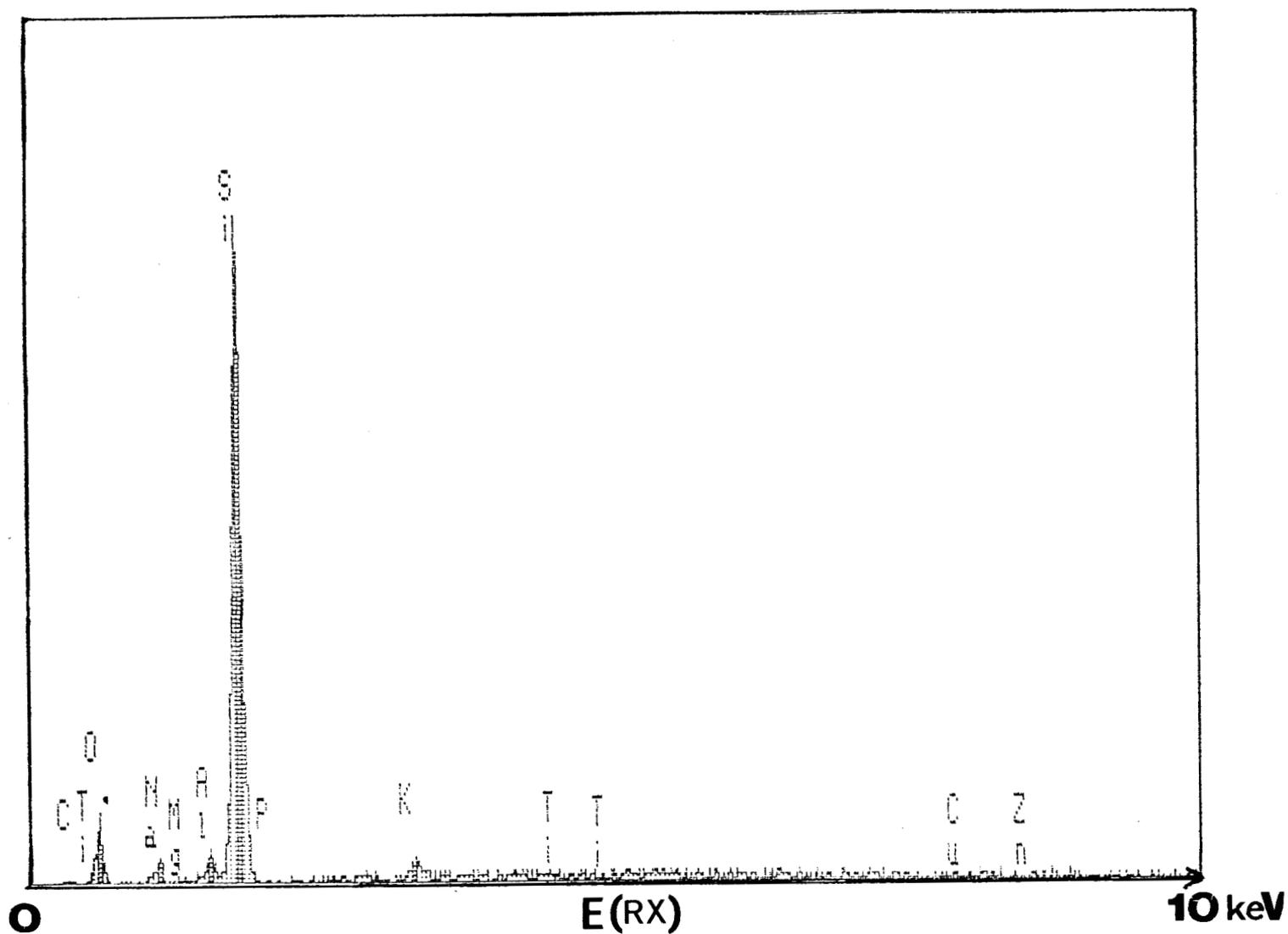


Fig. II.1.16a : Spectre E.D.X.A. du verre PYREX analysé en surface à 39 keV (Energie excitatrice).

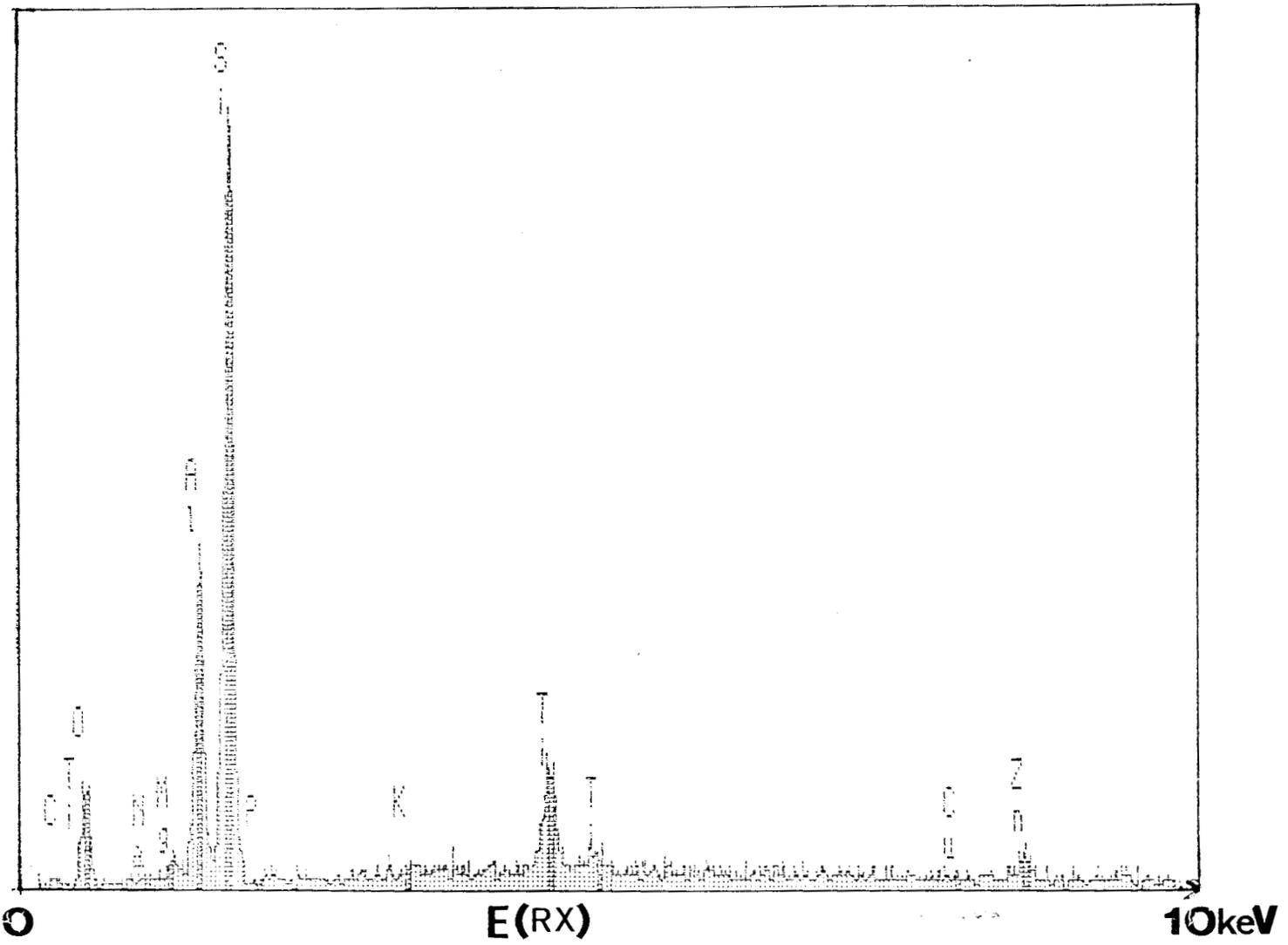


Fig.II.1.16b : Spectre E.D.X.A. de la vitrocéramique VISION analysée en surface à 39 keV (Energie excitatrice).

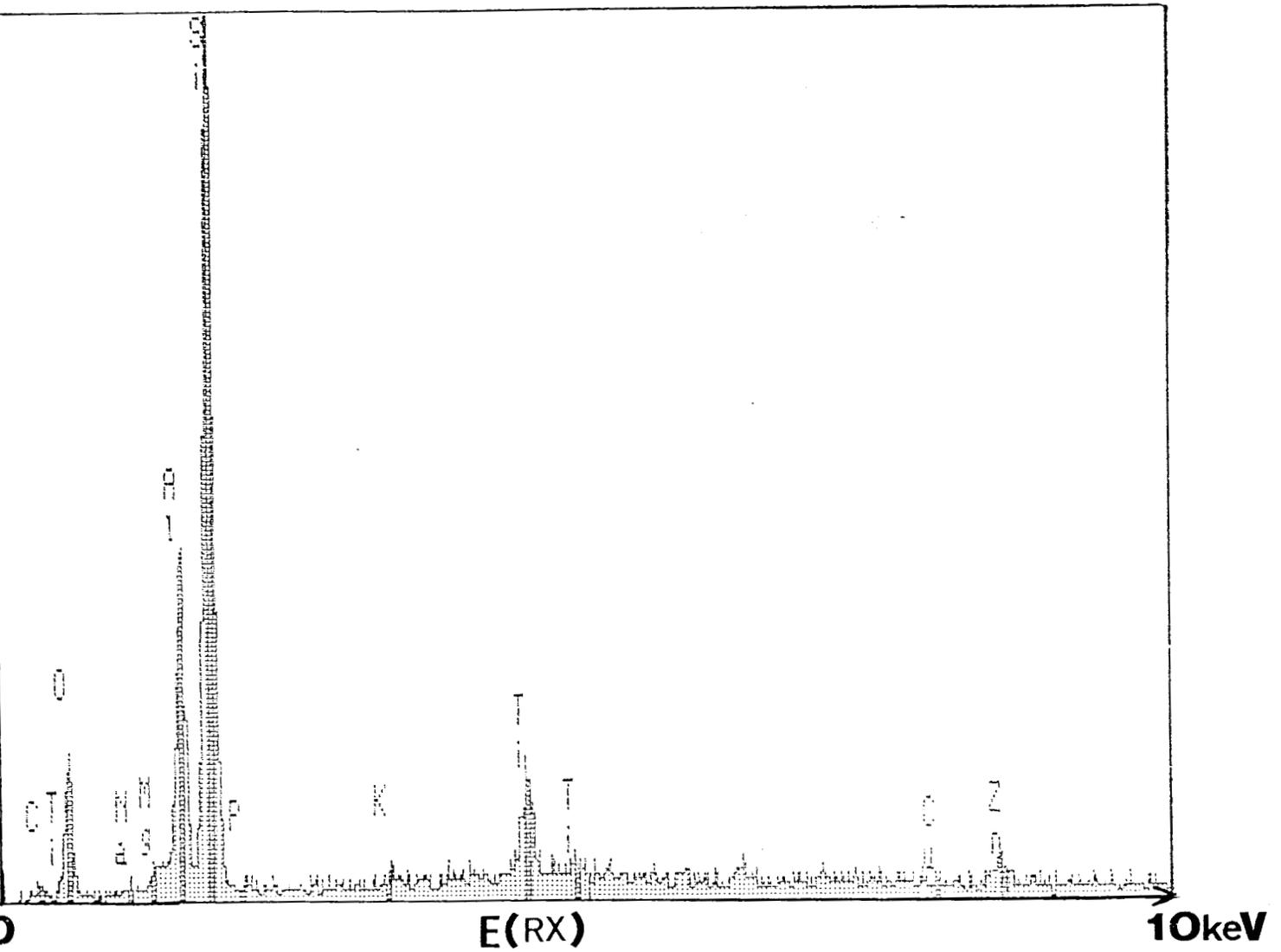
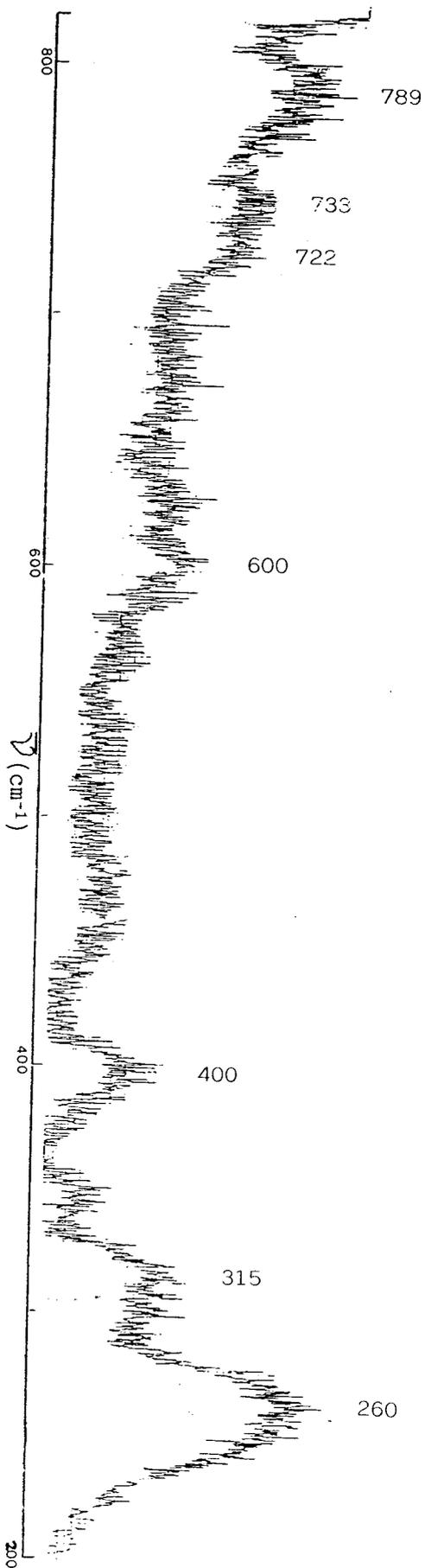
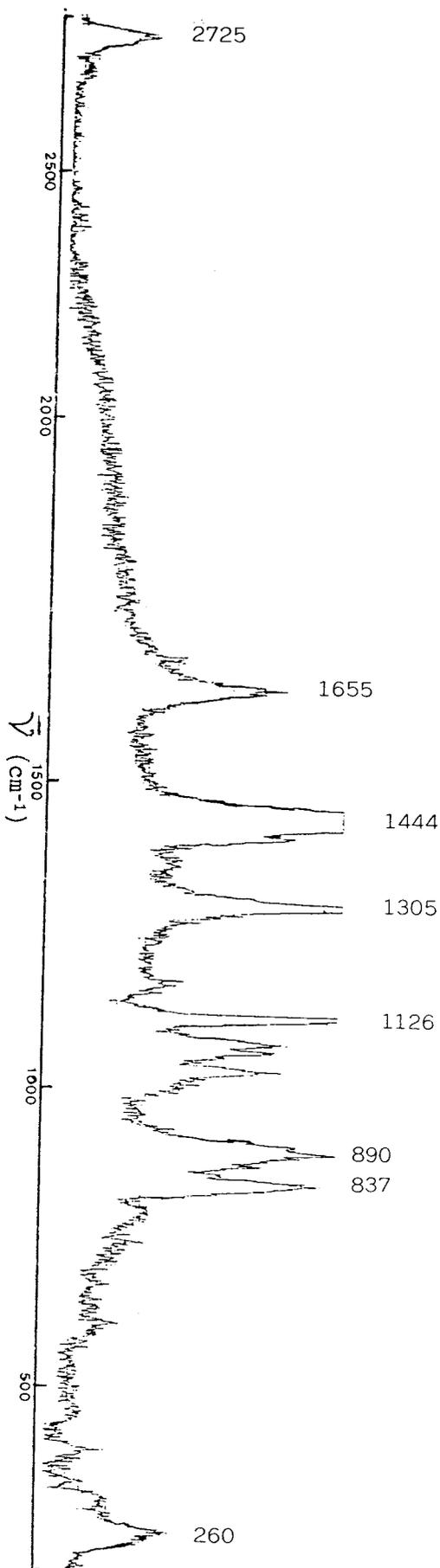
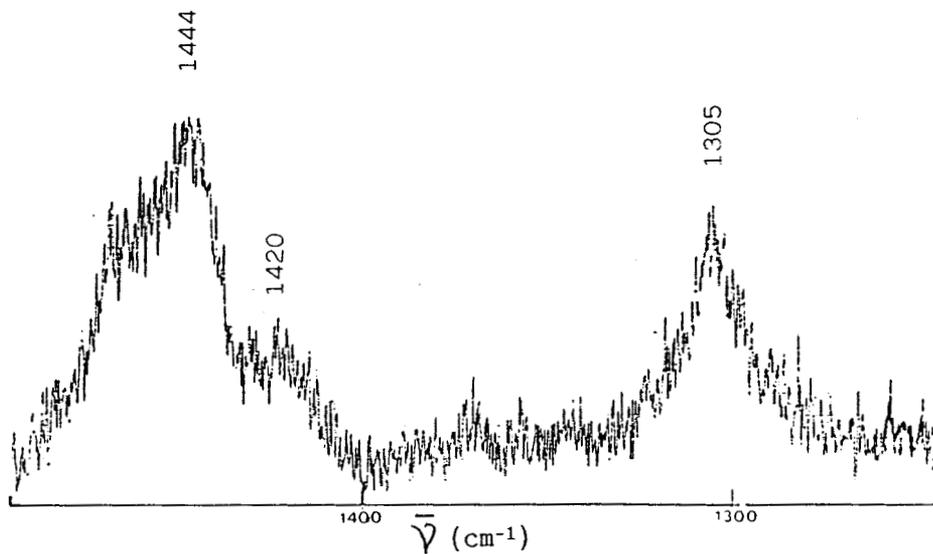
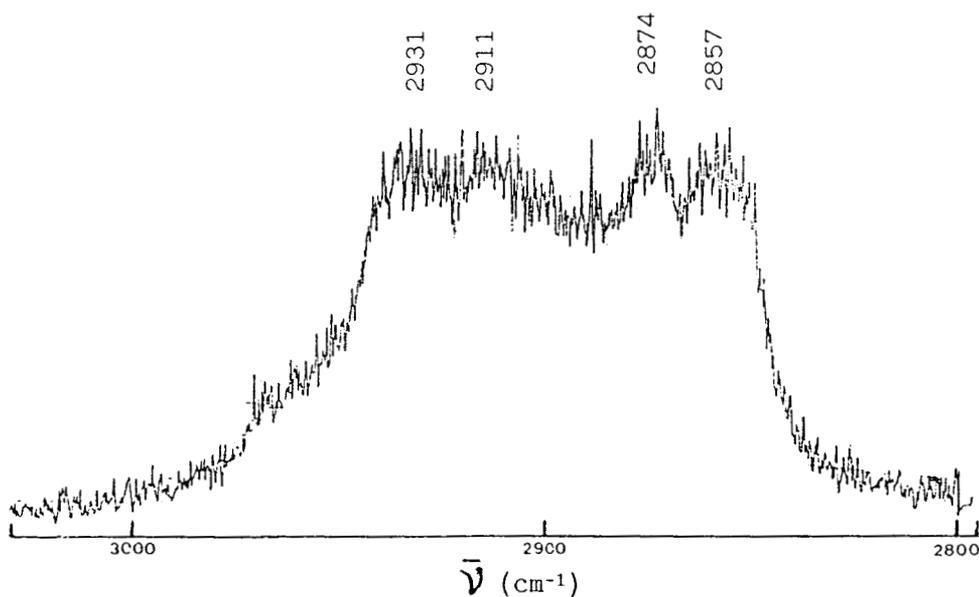


Fig.II.1.16c : Spectre E.D.X.A. de la vitrocéramique VISION DECO analysée en surface à 39 keV (Energie excitatrice).





**Fig. III.10** : Spectre Raman de l'acide octanoïque liquide (pureté de 99 %) réalisé sur T800 (DILOR) entre 1250 cm<sup>-1</sup> et 1495 cm<sup>-1</sup>. Fentes : 250  $\mu$ m - Puissance laser : 200 mW.



**Fig. III.11** : Spectre Raman de l'acide octanoïque liquide (pureté de 99 %) réalisé sur T800 (DILOR) entre 2800 cm<sup>-1</sup> et 3030 cm<sup>-1</sup>. Fentes : 250  $\mu$ m - Puissance laser : 200 mW.

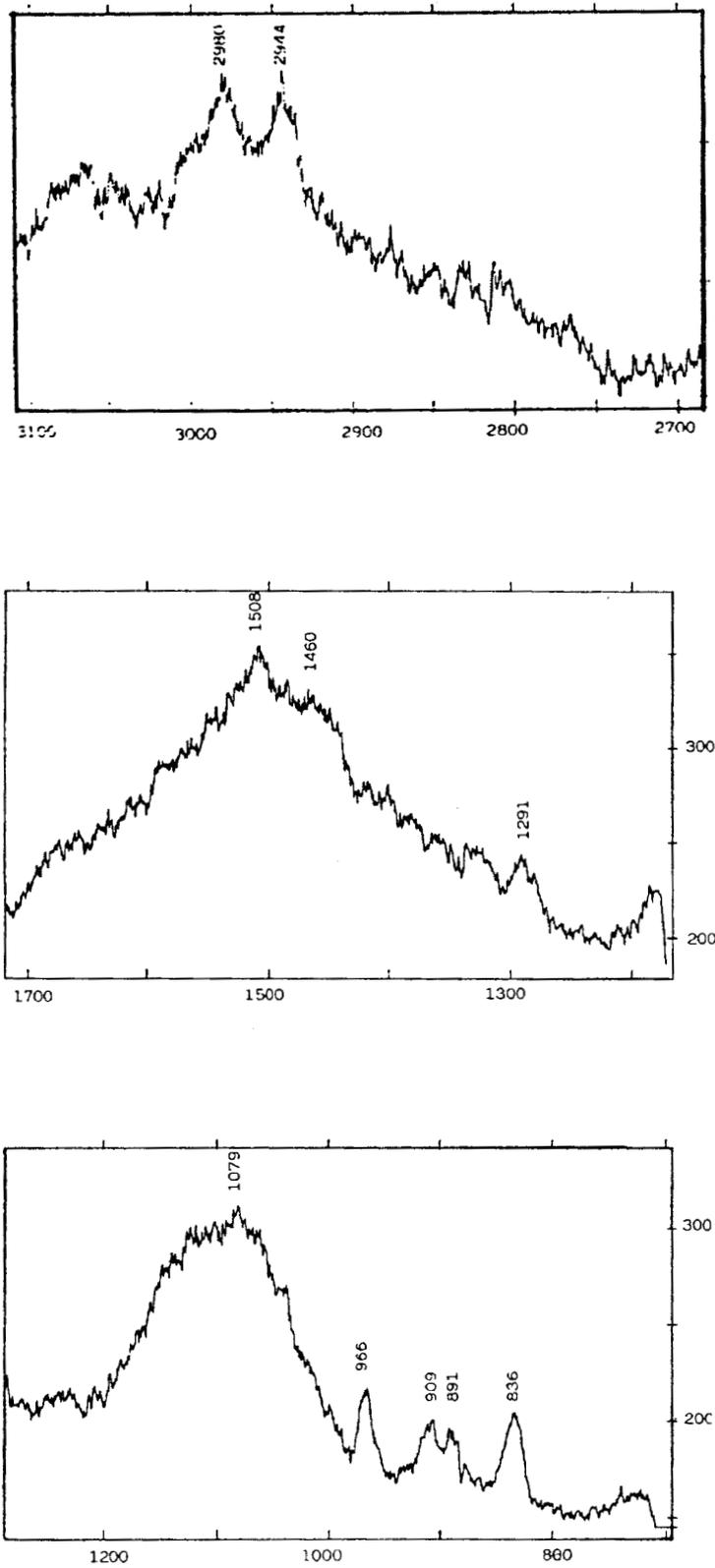
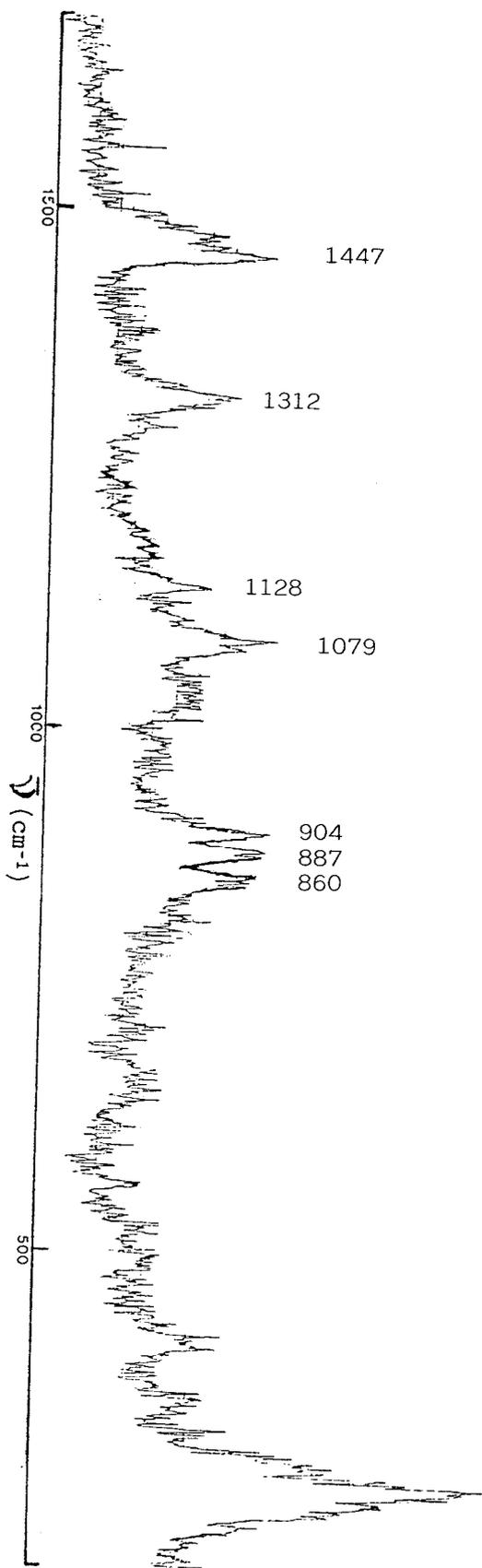
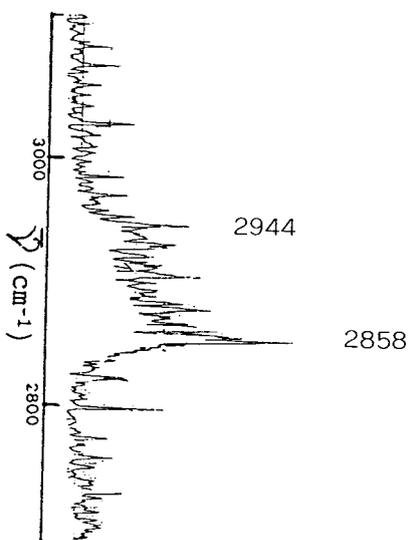


Figure III.12. : Spectre Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur NiO.



**Fig. III.16a :** Spectre Raman de l'octylamine liquide (pureté de 98 %) réalisé sur le T 800 (DILOR), entre 200 cm<sup>-1</sup> et 1690 cm<sup>-1</sup>.  
Fentes : 300  $\mu$ m - Puissance laser : 225 mW.



**Fig. III.16b :** Spectre Raman de l'octylamine liquide (pureté de 98 %) réalisé sur le T 800 (DILOR), entre 2700 cm<sup>-1</sup> et 3115 cm<sup>-1</sup>.  
Fentes : 300  $\mu$ m - Puissance laser : 225 mW.

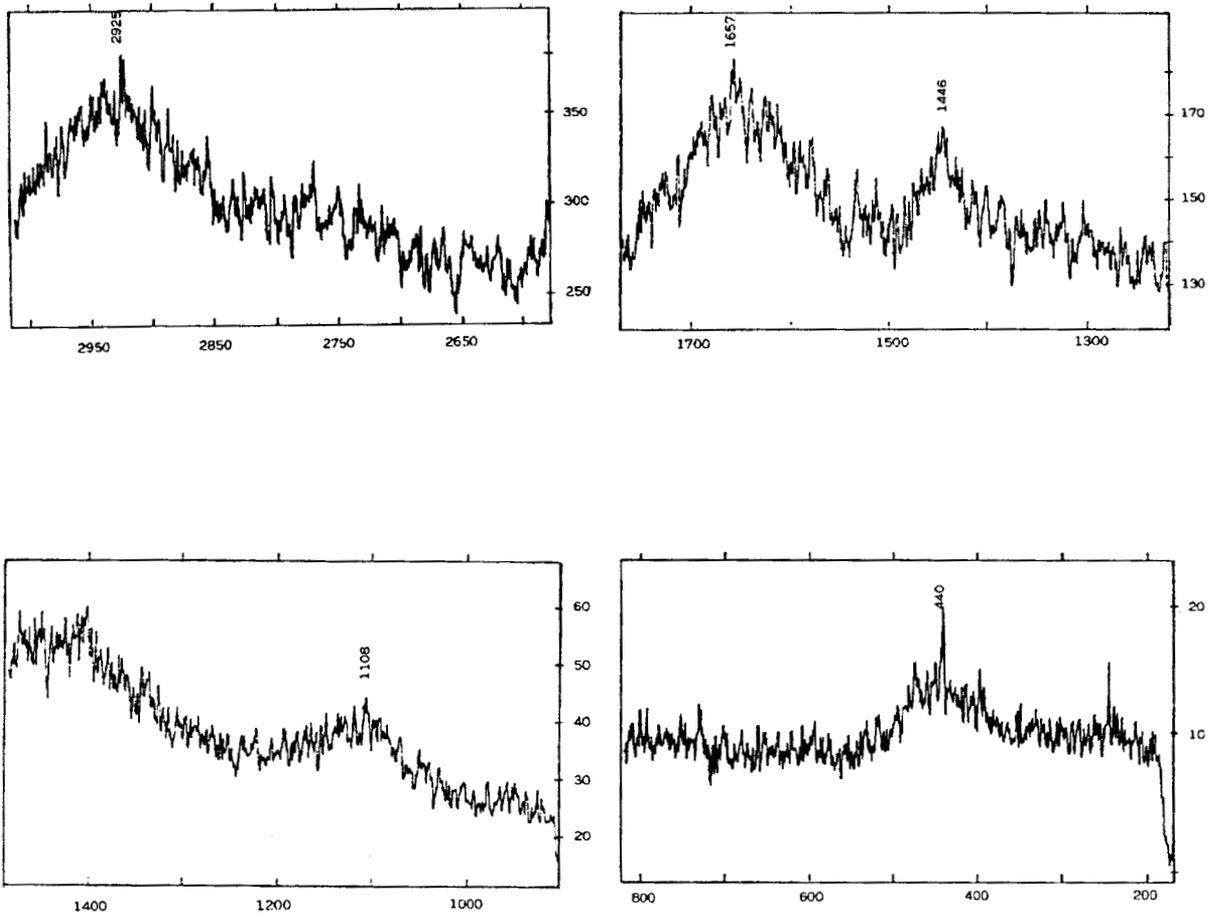


Figure III.17. : Spectre Raman de l'octylamine adsorbée sur VISION

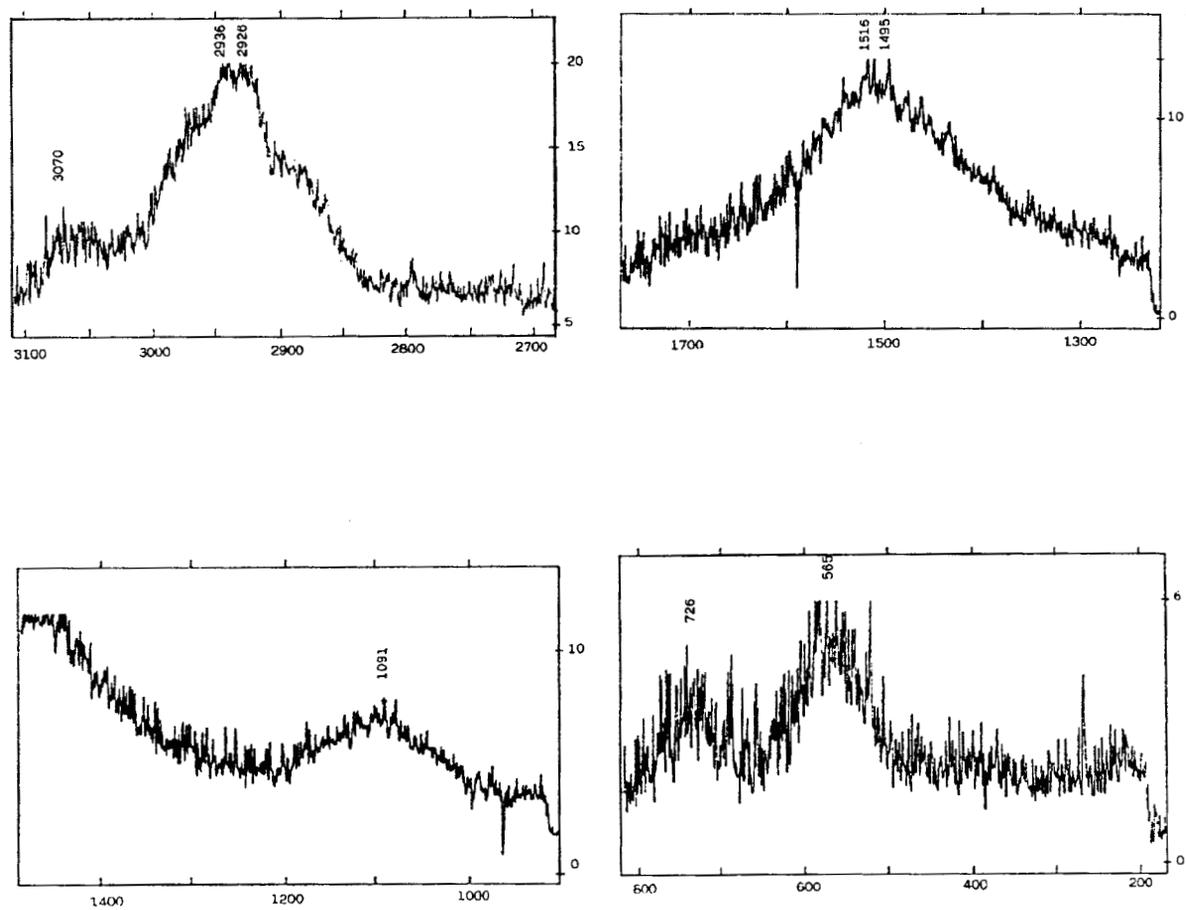


Figure III.19. : Spectre Raman de l'octylamine adsorbée sur NiO.

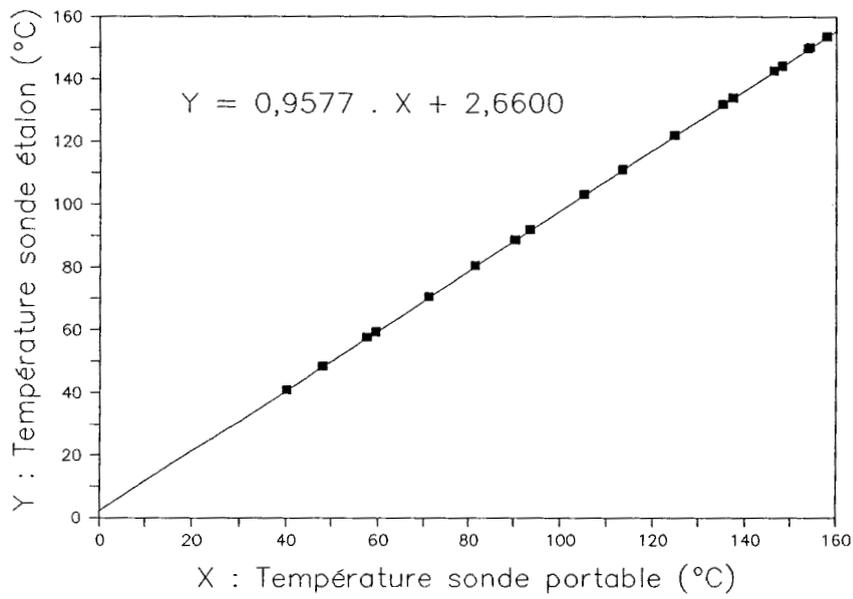


Figure III.24 : Courbe d'étalonnage de la sonde de température portable

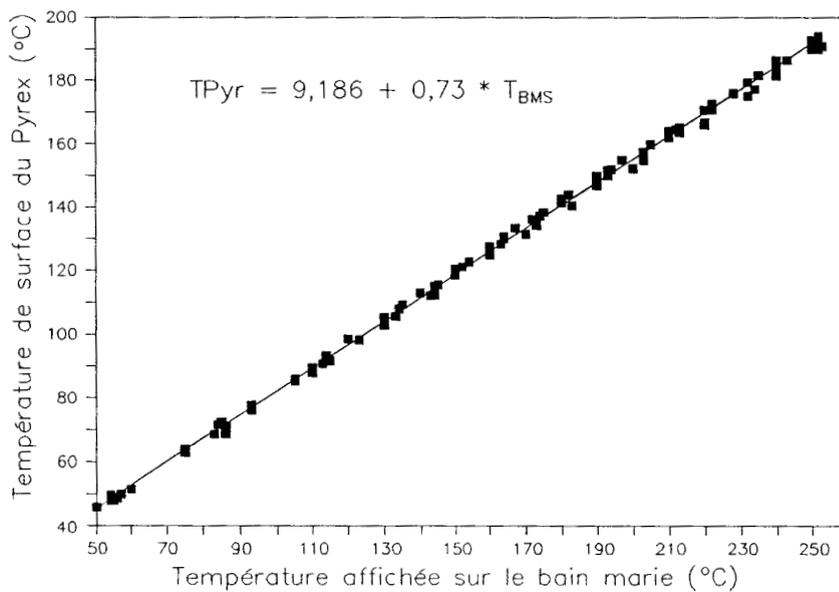


Figure III.25 : Courbe d'étalonnage du verre PYREX (épaisseur 2 mm), réalisée sur le bain-marie à sec.

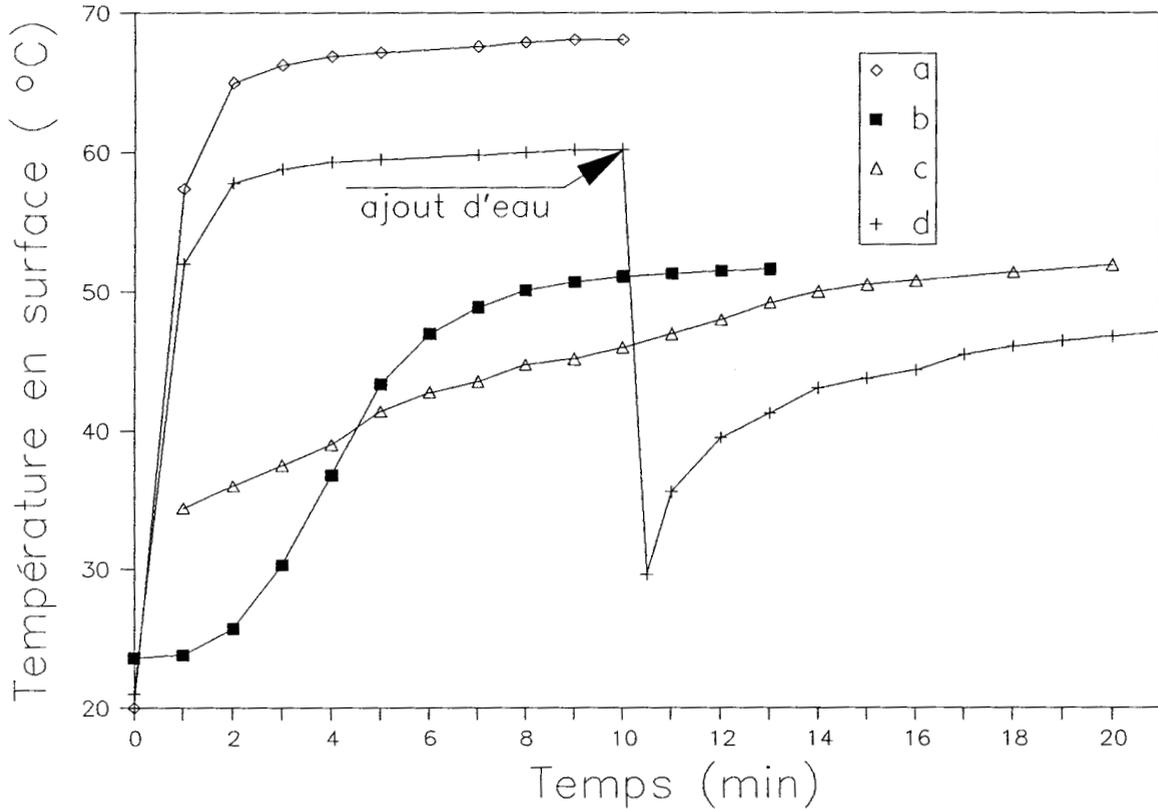


Figure III.26. : Etude des cinétiques de chauffage du bain-marie à sec et d'un substrat d'adsorption (VISION) -  $T_{BMS}$  (température affichée sur le bain-marie) =  $70^{\circ}\text{C}$ .  
 (a) : température de surface du bain-marie (BMS) non préchauffé.  
 (b) : température de surface du VISION ( $T_{Vis}$ ) non préchauffé et recouvert d'eau - BMS non préchauffé.  
 (c) : comme (b) avec BMS préchauffé pendant 20 min.  
 (d) : mesure de  $T_{Vis}$  - BMS préchauffé (20min). Jusqu'à  $t = 10$  min, Vision non recouvert d'eau; à  $t = 10$  min ajout d'eau; de 10,5 à 21 min, Vision recouvert d'eau.

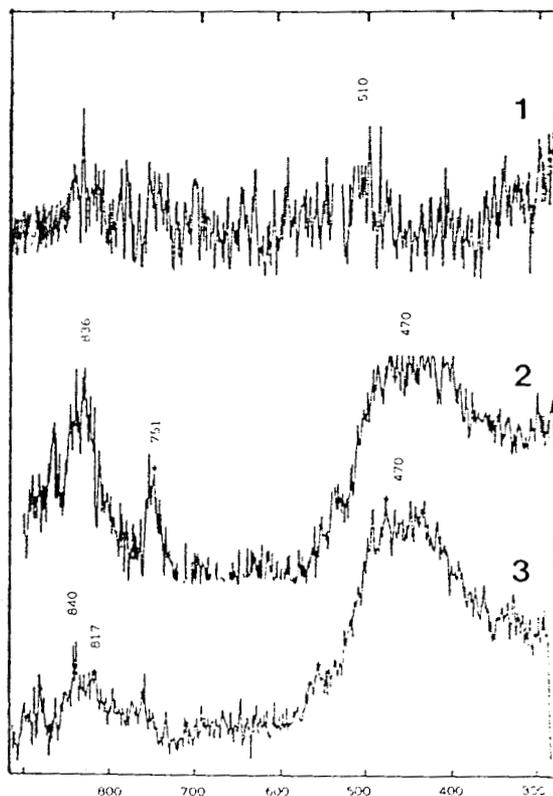
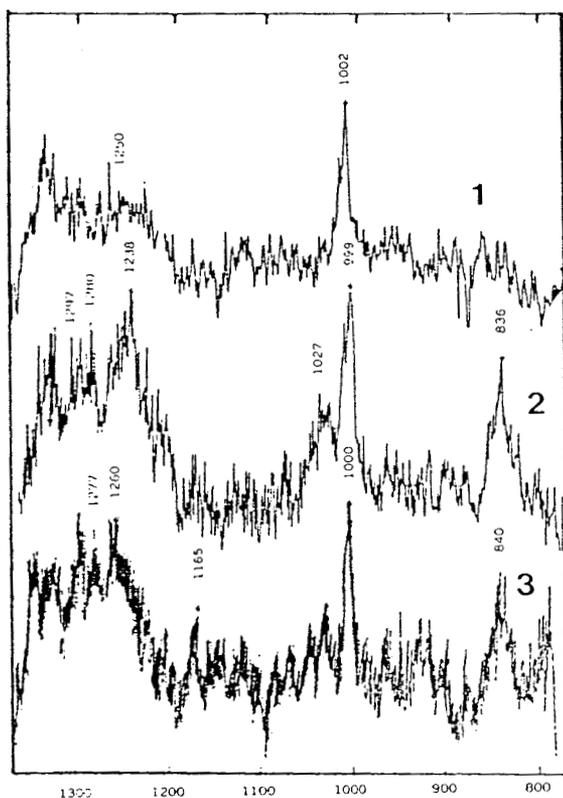
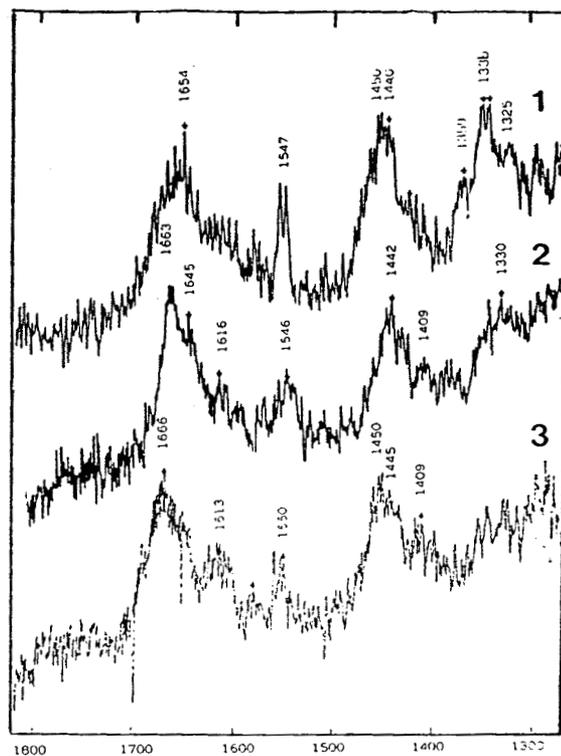
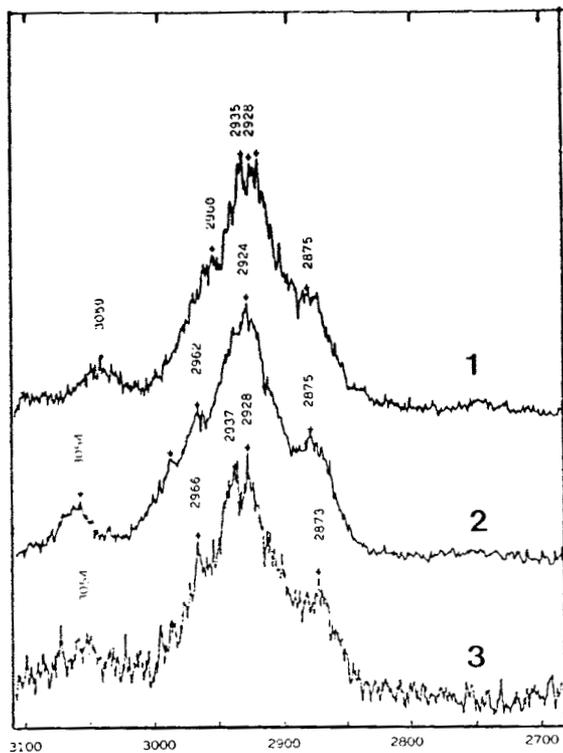


Figure III.31.: Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine

- (1) : chauffée à 90°C, pH = 3,5 (en poudre - non adsorbée)
- (2) : adsorbée sur Pyrex à 90°C, pH = 3,5 (dépôt épais)
- (3) : adsorbée sur Pyrex à 55°C, pH = 3,5 (dépôt épais)

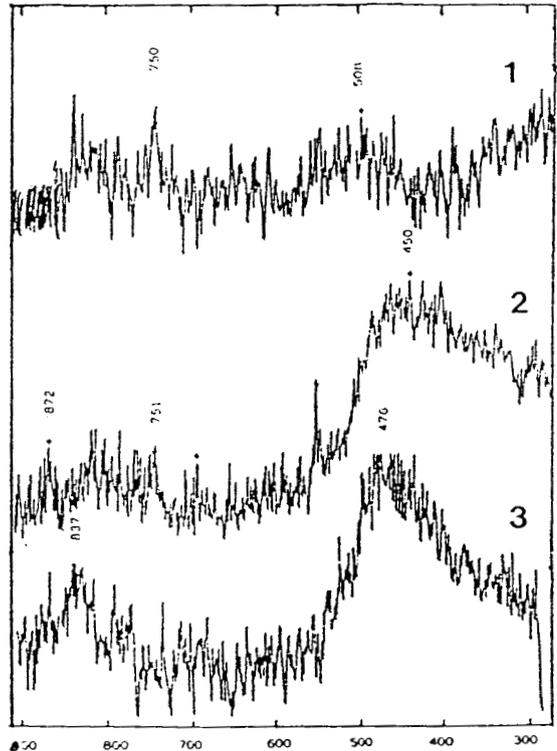
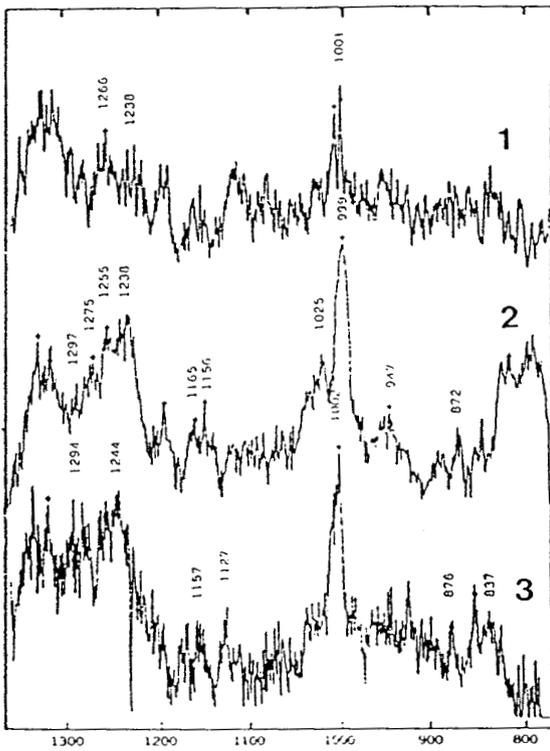
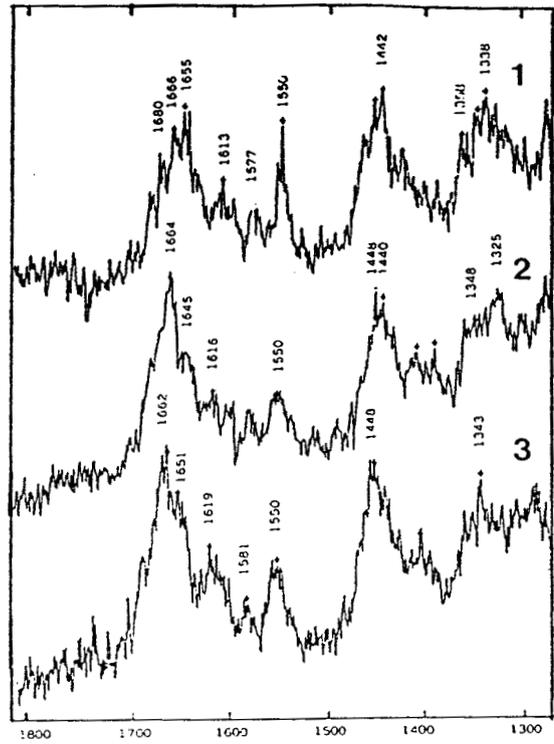
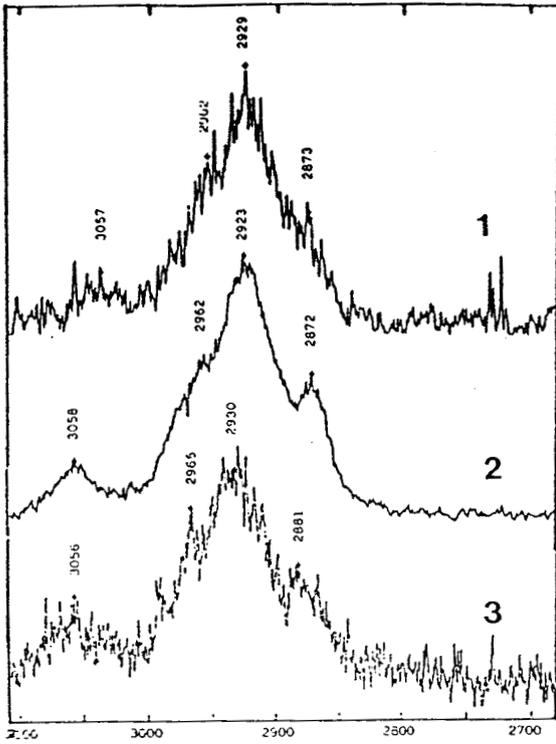


Figure III.32.: Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine

- (1) : chauffée à  $90^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 4,85$  (en poudre - non adsorbée)
- (2) : adsorbée sur Pyrex à  $90^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 4,85$  (dépôt épais)
- (3) : adsorbée sur Pyrex à  $55^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 4,85$  (dépôt épais)

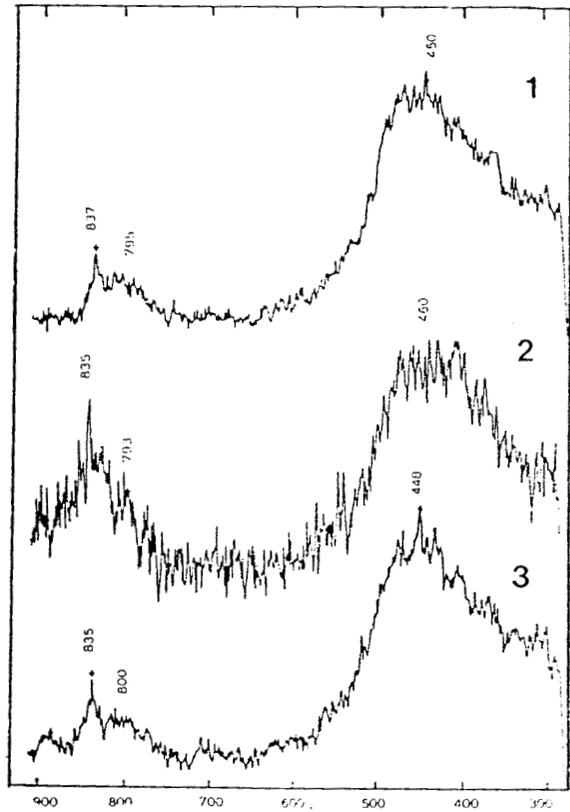
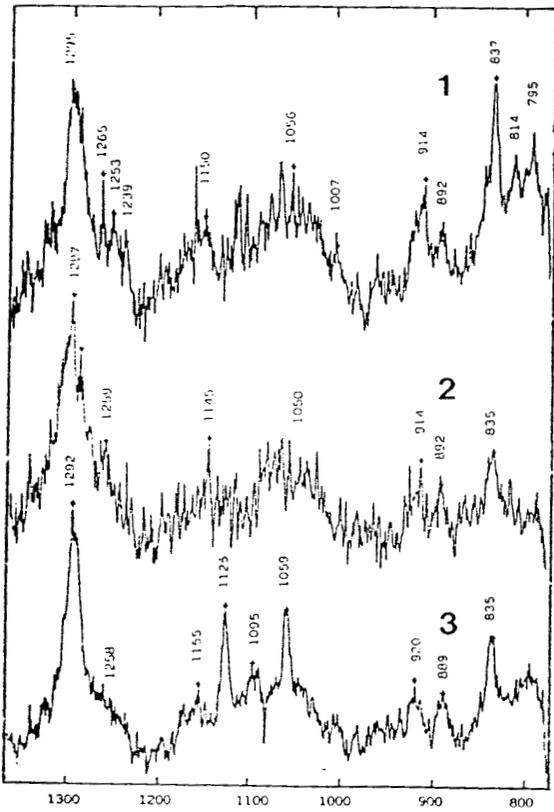
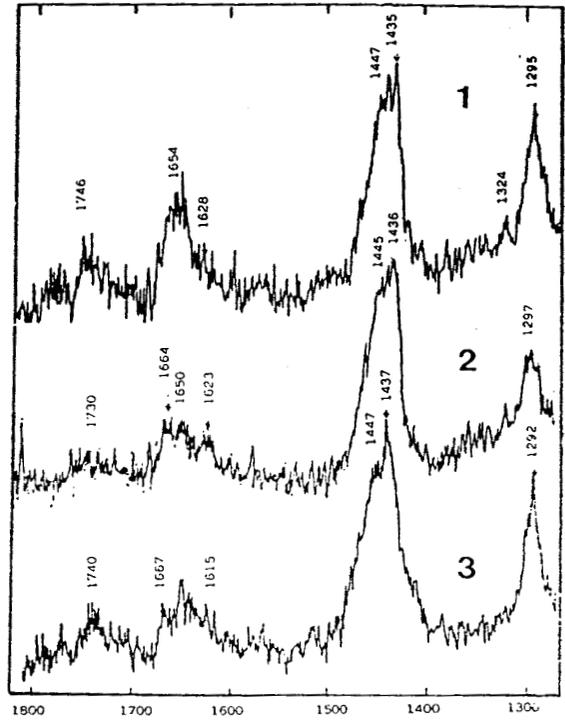
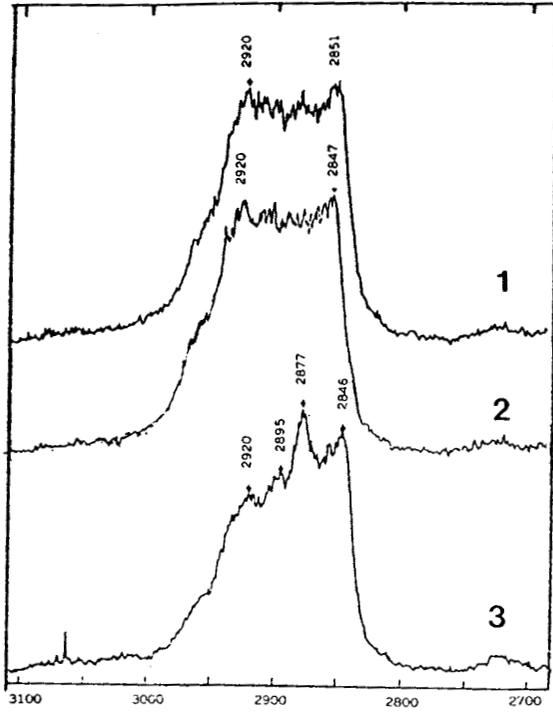


Figure III.35.: Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée sur Pyrex à 55°C - dépôts fins.

- (1) : pH = 3,5  
 (2) : pH = 4,85  
 (3) : pH = 6,2

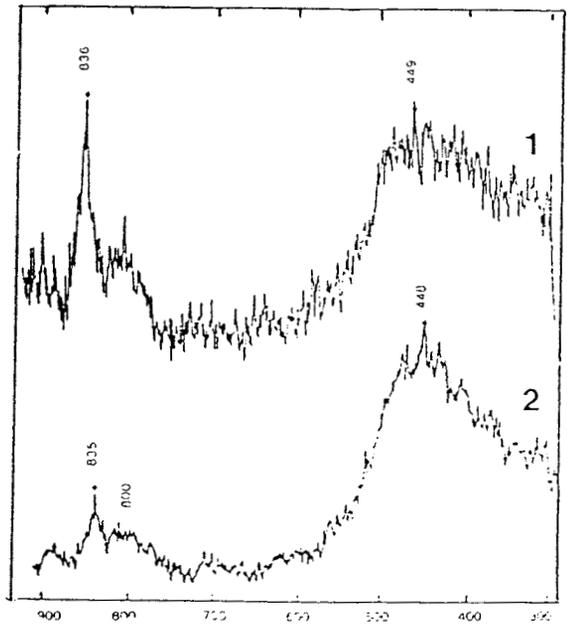
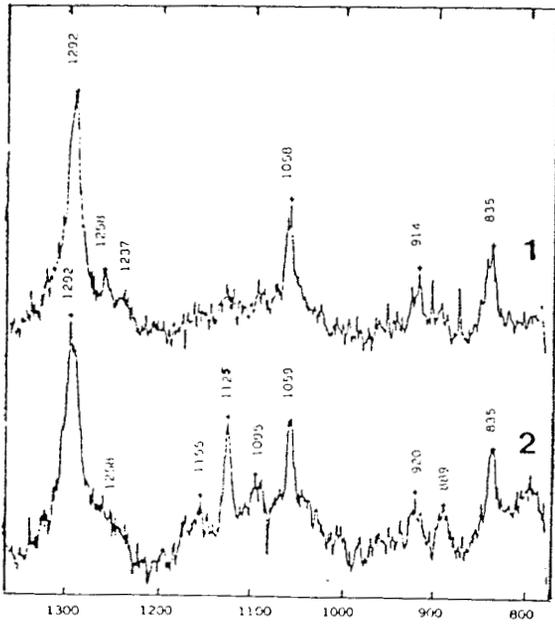
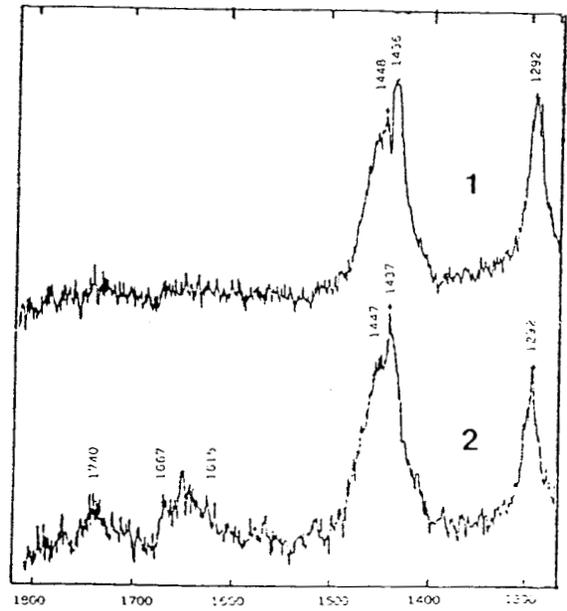
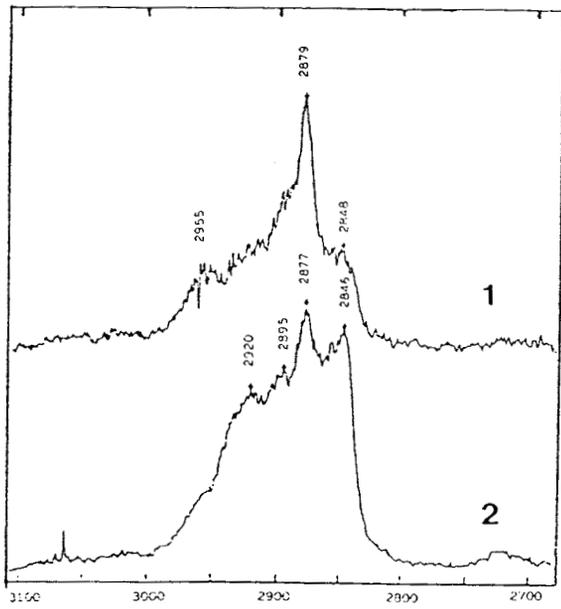


Figure III.36. : Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée sur Pyrex à 55°C, pH = 6,2 - dépôts fins.

- (1) : en polarisation  $\overline{E}_2$  (intensité minimale)  
 (2) : en polarisation  $\overline{E}_1$  (intensité maximale)

ANNEXE 2

-----

MESURES DE RUGOSITE

## MESURES DE RUGOSITE

Les mesures de rugosité des surfaces du verre PYREX et des vitrocéramiques VISION et VISION DECO, ont été réalisées afin de vérifier qu'il n'existe pas de phénomènes d'hystérésis lors de la mesure des angles de contact.

Ces mesures ont été effectuées par M.N. BELLON FONTAINE (Laboratoire de Génie de l'Hygiène et des Procédés Alimentaires - I.N.R.A. - MASSY PALAISEAU - FRANCE), par la technique du stylet, à l'aide d'un rugosimètre, le DIAVITE DT100 (société ASMETO).

Les échantillons étudiés ont subi le nettoyage suivant:

- Trempage dans du RBS 35 (4%) - t = 30 mn - T = 20°C
- Rincage à l'eau bidistillée - t = 1 h - T = 20°C
- Séchage en étuve - t ≥ 1 h - T = 56°C
- Nettoyage à l'éthanol chaud - t = 90 mn - T = 80°C

Pour chaque échantillon, un minimum de six tracés a été effectué, chaque tracé étant réalisé sur une longueur de 4 mm.

Nous présentons dans le tableau A.2.1., les valeurs moyennes de  $R_A$  obtenues pour chaque substrat, en précisant l'écart type et le nombre de mesures réalisées.

Substrats	$R_A$ ( $\mu\text{m}$ )	nombre de mesures
PYREX	$0,1 \pm 0,005$	6
VISION	$0,034 \pm 0,006$	8
VISION DECO	$0,21 \pm 0,05$	8

Tableau A.2.1. : Valeurs moyennes de rugosités du verre PYREX et des vitrocéramiques VISION et VISION DECO.

Pour le Pyrex et le Vision nous vérifions bien les conditions requises à la non-hystérèse du mouillage, à savoir  $R_A \leq 0,1 \mu\text{m}$  (113). Par contre pour le Vision Déco  $R_A$  est élevé. En fait selon BUSSCHER (113), pour des polymères l'hystérèse apparait pour des angles de contact inférieurs à  $60^\circ$  ou supérieurs à  $86^\circ$  et elle a pour conséquence de diminuer artificiellement les angles faibles et d'accroître les angles élevés.

Dans notre cas, les angles élevés sont obtenus lors des mesures dans les alcanes de haute énergie superficielle et ils correspondent aux valeurs les plus faibles de  $\gamma_L - \gamma_{L_2} + \gamma_{LL_2} \cos \theta$ , alors que les angles les plus faibles sont obtenus dans les alcanes de plus faible énergie superficielle et correspondent aux valeurs les plus fortes de  $\gamma_L - \gamma_{L_2} + \gamma_{LL_2} \cos \theta$ .

Pratiquement l'hystérèse a donc pour effet de diminuer la valeur de  $\gamma_L - \gamma_{L_2} + \gamma_{LL_2} \cos \theta$  aux fortes valeurs de  $\gamma_{L_2}$ , et de l'augmenter aux faibles valeurs de  $\gamma_{L_2}$ . Ainsi lorsque l'on représente graphiquement  $\gamma_L - \gamma_{L_2} + \gamma_{LL_2} \cos \theta = f(2 \cdot ((\gamma_L^d)^{1/2} - (\gamma_{L_2})^{1/2}))$ , la pente et donc la valeur de  $\gamma_s^d$  doit apparaitre plus forte que prévue.

L'hystérèse doit par contre avoir peu d'effet sur la mesure de  $I_{S,L}^p$ . En effet  $I_{S,L}^p$  est essentiellement déterminée par les mesures effectuées dans les alcanes dont l'énergie de surface est proche de la composante dispersive de l'énergie de surface de l'eau. Dans notre cas il s'agit de l'octane, dans lequel les angles mesurés se situent entre  $60$  et  $86^\circ\text{C}$ . Dans ce liquide, le phénomène d'hystérèse doit donc être faible et on pourra considérer que la valeur de  $I_{S,L}^p$  obtenue expérimentalement est correcte alors que celle de  $\gamma_s^d$  doit être surévaluée.

ANNEXE 3

-----

PRINCIPE DE LA  
MICROSONDE RAMAN  
ET APPAREILLAGE

## PRINCIPE DE LA MICROSONDE RAMAN ET APPAREILLAGE

Le principe de base de la microsonde Raman OMARS (Optical Multichannel Analyzer Raman Spectrometer) que nous utilisons, est d'associer un microscope optique et un double monochromateur à dispersion nulle (prémonochromateur), à un spectrographe. Le schéma simplifié d'un appareil de micro-Raman, le Microdil 28, est présenté figure A.3.1. alors que figure A.3.2., nous présentons le schéma de l'OMARS. Le principe de construction est identique pour les deux appareils, mais l'OMARS est plus perfectionné et ainsi plus performant.

L'échantillon, placé sur la platine du microscope, est éclairé par le faisceau laser grâce au système optique  $C_4$ . La lumière diffusée après excitation est ensuite collectée par un objectif de microscope à très grande ouverture, puis récupérée par les optiques de couplage  $C_3-C_1$ . Le monochromateur analyse alors la lumière diffusée. Celui-ci est constitué d'une fente d'entrée ( $S_1$ ), d'un système dispersif à réseaux chargé de dévier dans des directions différentes les diverses radiations contenues dans le spectre, et d'une fente de sortie  $S_2$  (cas du Microdil).

L'OMARS est lui équipé de deux monochromateurs en série. La fente d'entrée est  $S_1$ , la fente de sortie est  $S_3$  et la fente  $S_2$  est une fente intermédiaire qui correspond à la fente de sortie du premier monochromateur et à la fente d'entrée du second.

La qualité du monochromateur est un facteur important, car elle détermine la luminosité, qui doit être élevée, et le taux de lumière parasite qui doit être le plus faible possible.

La luminosité est définie par divers facteurs tels que les angles d'ouvertures (angle entre faisceau incident et faisceau diffracté), les surfaces des fentes et surtout les dimensions et la dispersion des réseaux.

La lumière parasite, qui est à l'origine du fond continu du spectre, est due à la diffusion de la lumière par les pièces optiques et par l'habitacle de l'appareil. Son taux doit être le plus faible possible pour améliorer le rapport signal/bruit, surtout lorsque les échantillons donnent des spectres Raman peu intenses. Ce taux est notamment proportionnel au produit des surfaces des fentes. Mais il dépend aussi de la qualité des réseaux optiques et de la

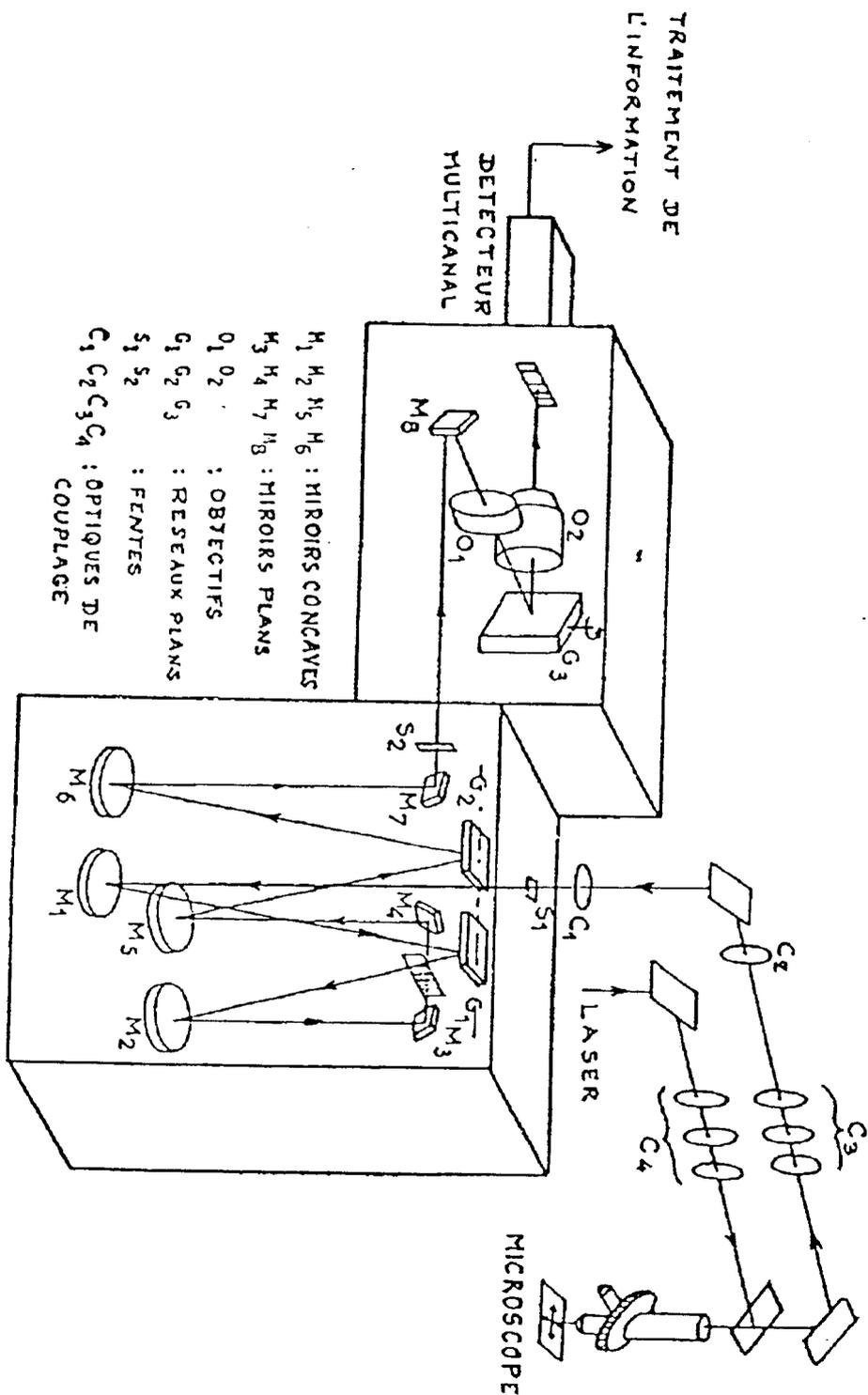


Figure A.3.1. : Schéma technique du spectromètre Raman MICRODIL 28.

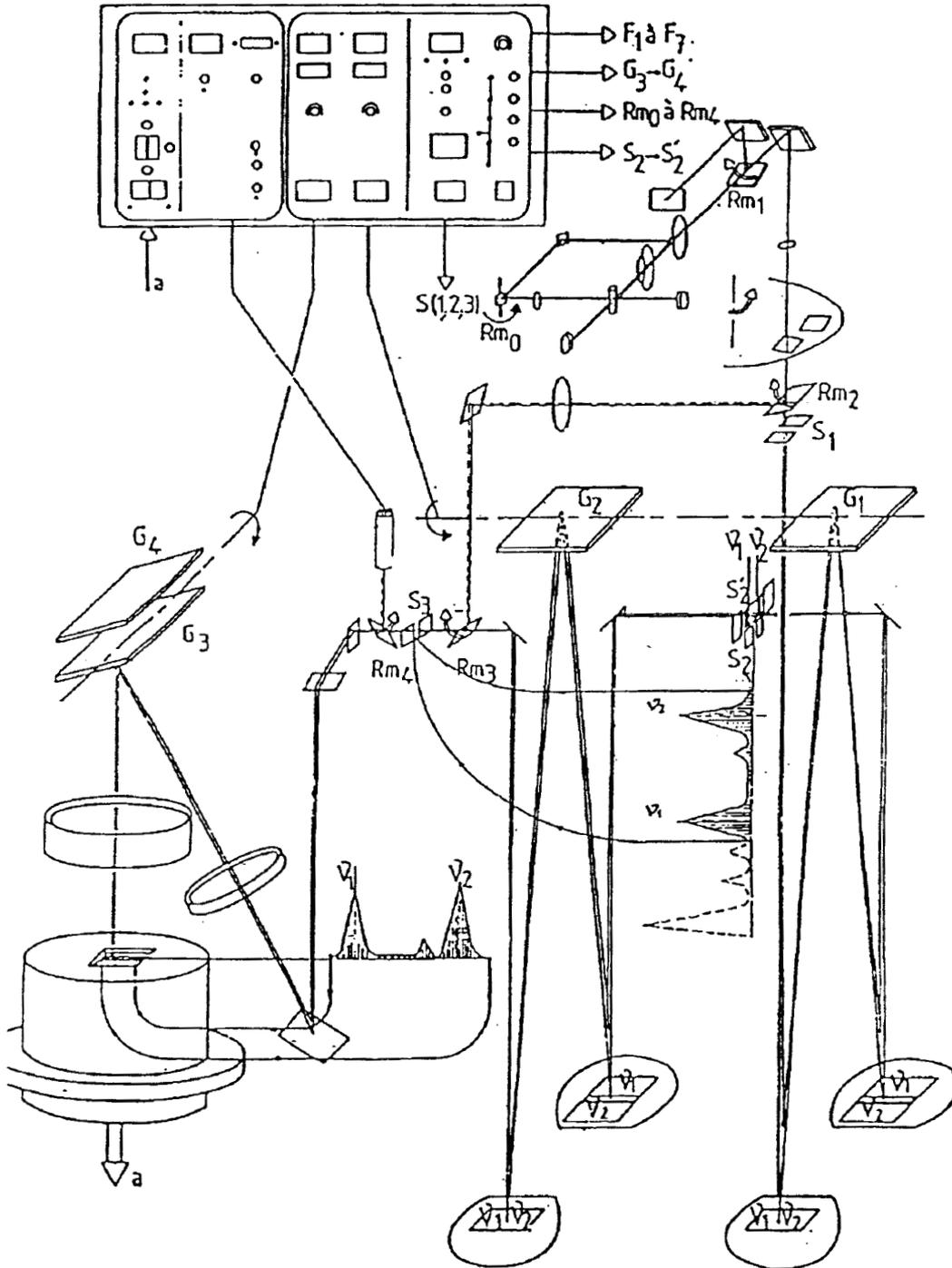


Figure A.3.2. : Schéma technique du spectromètre Raman OMARS 89.

longueur du trajet optique. Pour les spectromètres équipés d'un double monochromateur et de réseaux holographiques, ce taux est très faible, de l'ordre de  $10^{-11}$ .

L'appareil que nous utilisons est de ce type:

- Les réseaux du double monochromateur sont holographiques, plans, blazés à 5000 Å et tracés à 1800 traits.mm<sup>-1</sup> (dimension: 58 x 58 mm<sup>2</sup>).
- Les fentes S<sub>1</sub> à S<sub>3</sub> sont fines et réglables de 0 à 2000 µm. La largeur de la fente large intermédiaire S'<sub>2</sub> (largeur de 20 à 22 mm) détermine l'intervalle spectral.
- L'angle entre les faisceaux incidents et diffractés, dans le double monochromateur, est de 17,68° .

A la sortie du double monochromateur, la lumière est recombinaée sur la fente de sortie, puis redispersée par le spectrographe avant d'atteindre le détecteur. Le spectrographe, qui en fait est un monochromateur simple, est constitué de deux réseaux semblables à ceux des prémonochromateurs mais tracés à 600 et 1800 traits.mm<sup>-1</sup> et placés dos à dos. D'autre part l'angle d'ouverture est ici de 51°.

A la sortie du spectrographe est disposé un détecteur multicannal qui est schématisé sur la figure A.3.1. mais non sur la figure A.3.2.. Pour le OMARS, ce détecteur est un tube intensificateur d'images, couplé à une barette de photodiodes Reticon refroidie par effet Peltier. Ce détecteur photoélectrique traite le signal Raman sur une largeur spectrale donnée (environ 400 cm<sup>-1</sup>) en en faisant une "photographie électronique" qui est mise en mémoire et numérisée. L'appareil est en effet couplé à un système informatique ce qui permet la gestion de l'appareil lui-même (choix de l'ouverture des fentes ...) et le traitement du signal (accumulation de spectres, lissages...)

*Remarque :* Afin d'atténuer certaines raies trop intenses ou l'excitatrice (raie monochromatique du laser), il est possible d'utiliser des filtres interférentiels qui sont placés avant la fente d'entrée S<sub>1</sub>.

#### Mesures en lumière polarisée :

L'étude de la polarisation des raies Raman est très intéressante car elle permet d'obtenir des informations sur l'orientation des liaisons et sur la symétrie des modes de vibration. Cette étude est réalisée en utilisant un rotateur de polarisation qui est une lame demi-onde et qui permet d'orienter le vecteur électrique  $\vec{E}$  du faisceau laser incident. Le vecteur  $\vec{E}$  se déplace ainsi dans le plan XOY entre les deux directions  $\vec{E}_1$  et  $\vec{E}_2$  alors que le faisceau incident est dirigé suivant OZ (Fig.A.3.3.).

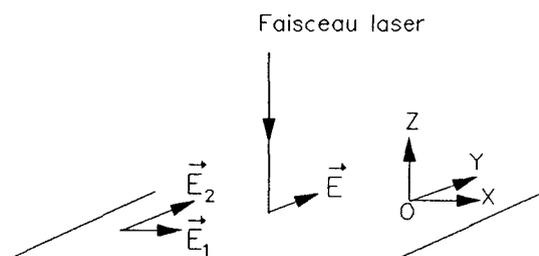


Figure A.3.3. : Schématisation du principe de polarisation du faisceau laser en spectroscopie micro-Raman.

*Remarque* : le plan XOY correspond au plan horizontal de la platine du microscope optique et en particulier à la surface des substrats massifs sur lesquels nous effectuons nos analyses.

Les directions  $\vec{E}_1$  et  $\vec{E}_2$  sont des directions arbitraires qui correspondent aux maxima et minima d'intensités des raies. Pour les raies dépolarisées, le rapport d'intensité entre ces deux positions est en théorie de 6/7 et pour les raies polarisées il est inférieur à 6/7.

Pour des informations complémentaires sur l'OMARS on pourra se reporter à la notice technique publiée par la société DILOR (notice intitulée "OMARS Multichannel Spectroscopy") et pour la spectroscopie micro-Raman en général à divers articles publiés à ce sujet et portant sur son principe et ses applications (149-153).

TABLE DES  
MATIERES

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	4
CHAPITRE I. ETAT DE L'ART	8
CHAPITRE II - 1 <sup>ère</sup> PARTIE. COMPOSITION SUPERFICIELLE DES SUBSTRATS	26
A CHOIX DES SPECTROSCOPIES POUR L'ANALYSE DES SURFACES	28
I Infra-rouge par transformée de Fourier (FTIR)	28
II Spectroscopie électronique Auger (AES)	29
III SIMS	29
IV SEM-EDXA	30
B ANALYSES PAR SPECTROSCOPIE DE PHOTOELECTRONS X (XPS)	30
I Méthodologie - appareillage	30
1 Principe	30
2 Appareillage	33
3 Conditionnement des échantillons	34
II Résultats	35
1 Traitement des spectres	35
2 Analyse XPS du Pyrex	38
3 Analyse XPS du Vision.	41
4 Analyse XPS du Vision Déco	45
C ANALYSES EN SEM ET EDXA	50
I Méthodologie - Appareillage	50

1 Principe de la microscopie électronique à balayage (SEM)	50
2 Principe de la microsonde X (EDXA)	51
3 Appareillage	54
a Microscope Electronique à balayage	54
b Microsonde X :	56
c Métalliseur	57
4 Préparation des échantillons	57
a Nettoyage	57
b Métallisation	58
II Partie expérimentale	59
1 Conditions analytiques et traitement des spectres EDXA	59
2 Visualisation des surfaces en SEM	61
3 Résultats d'analyses EDXA	61
III Discussion des résultats	64
 D SYNTHÈSE SUR LES COMPOSITIONS CHIMIQUES DU VERRE PYREX ET DES VITROCERAMIQUES VISION ET VISION DECO	 68
 CHAPITRE II - 2 <sup>ème</sup> PARTIE. DETERMINATION DE L'ENERGIE SUPERFICIELLE DES SUBSTRATS	 74
 A THEORIE DE L'ADSORPTION THERMODYNAMIQUE	 76
I Forces intermoléculaires	76
II Potentiel d'interaction global entre deux molécules	78
II Energie libre d'adhésion entre deux corps	79
IV Energie de surface	79
1 Composantes polaires et dispersives des énergies de surface	81
2 Modèle de FOWKES	82
3 Choix du modèle	83
 B METHODES EXPERIMENTALES DE MESURE DES ENERGIES DE SURFACE	 83
I Mesure d'énergie de surface des liquides	84
II Mesure d'énergie de surface des solides	85
1 Technique de la goutte posée - principe	85

2	Modèle de YOUNG	86
3	Détermination de l'énergie de surface d'un solide par mesure d'angles de contact en phase vapeur ( $M = V$ )	87
a	Approche de ZISMAN	87
b	Approche de NEUMANN et WARD par l'équation d'état	87
c	Approche par le modèle de FOWKES	88
d	Validité des méthodes de mesure en phase vapeur	90
4	Détermination de l'énergie de surface d'un solide par mesures d'angles de contact en phase liquide ( $M = L_2$ )	90
a	Application du modèle de FOWKES à la détermination de $\gamma_s$ en milieu liquide.	90
b	Principe expérimental de détermination de $\gamma_s^d$ et de $I_{s,l}^p$	92
c	Discussion de cette méthode	92
C	APPLICATION : DETERMINATION DES ENERGIES DE SURFACE DU VERRE PYREX ET DES VITROCERAMIQUES VISION ET VISION DECO	93
I	Mesure des énergies de surface des liquides	93
1	Procédé expérimental	93
a	Réglage de l'appareil	93
b	Mesure d'énergie superficielle d'un liquide	93
2	Résultats	94
II	Technique de mesure des angles de contact	95
1	Appareillage	95
2	Mesures d'angles	96
III	Détermination des énergies de surface de Pyrex, Vision et Vision Déco	98
1	Conditionnement des échantillons	98
a	Nettoyages éthanol et alcane	99
b	Nettoyage RBS, eau bidistillée, éthanol et alcane	100
2	Résultats	101
a	Vérification du critère de mouillabilité	101
b	Discussion des résultats	105

CHAPITRE III. ETUDES D'INTERACTIONS ENTRE MOLECULES ORGANIQUES ET SURFACES DE VERRES	108
A METHODES D'ETUDES DES INTERACTIONS	112
I Etude par spectroscopie XPS	112
II Etude par spectroscopie infra-rouge	113
1 Principe de la spectroscopie infra-rouge	113
2 Etudes précédemment réalisées en spectroscopie infra-rouge	116
III Etude par spectroscopie Raman	117
IV Choix d'une méthode analytique	119
B ETUDE DE L'ADHESION DE MOLECULES SIMPLES, ACIDE OU BASIQUE, SUR SURFACES MINERALES ACIDES OU BASIQUES.	121
I Appareils et méthodes	121
1 Choix et préparation des substrats	121
2 Mesures de pH des surfaces	123
3 Préparation des solutions d'adsorptions	123
4 Adsorption	124
5 Etude des interactions	124
II Résultats	125
1 pH des surfaces	125
2 Analyse Raman des substrats	126
3 Interactions acide octanoïque-surfaces minérales	128
a Analyse Raman de l'acide octanoïque	128
b Etude Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur surfaces acide (Pyrex, Vision, Vision déco)	129
c Adsorption sur NiO	130
d Adsorption sur CaCO <sub>3</sub>	131
e Discussion des résultats d'analyse Raman	133
4 Interactions octylamine-surfaces minérales	136
a Analyse Raman de l'octylamine	136
b Adsorption sur surfaces acides : Pyrex et Vision	137
c Adsorption sur NiO	140
d Adsorption sur calcite	141
e Discussion des résultats	141

III Conclusion sur les interactions acide-base	144
C ETUDE D'ADSORPTION D'ALPHA-LACTALBUMINE SUR SURFACES DE VERRES	145
I Appareils et méthodes	146
1 Système d'adsorption	146
a Appareillage	147
b Etude des cinétiques de chauffage	151
2 Préparation des substrats	151
3 Préparation des solutions	152
4 Conditions d'adsorption	152
5 Méthodes d'analyses des interactions	153
II Etude des interactions $\alpha$ -Lactalbumine-verres par spectroscopie Raman	153
1 Analyse des substrats	153
2 Analyse de l' $\alpha$ -Lactalbumine	153
3 Etude de l' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée à 55°C et à 90°C	160
a Observation des dépôts au microscope	161
b Analyse de dépôts épais	162
c Analyses de dépôts fins	169
III CONCLUSION SUR L'ADSORPTION D' $\alpha$ -LACTALBUMINE SUR SURFACES DE VERRES	180
 SYNTHESE ET CONCLUSION.	 182
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 191
 ANNEXE 1.	 202
 ANNEXE 2. MESURES DE RUGOSITE	 218
 ANNEXE 3. PRINCIPE DE LA MICROSONDE RAMAN ET APPAREILLAGE	 221
 TABLE DES MATIERES.	 227

## LISTE DES FIGURES

Figure I.1.	Schéma de la liaison peptidique.	13
Figure I.2.	Structure primaire de l' $\alpha$ -Lactalbumine bovine B.	13
Figure I.3.	Structure primaire de la $\beta$ -lactoglobuline bovine A.	13
Figure I.4.	Structure en hélice $\alpha$ d'une chaîne polypeptidique.	15
Figure I.5.	Structure en feuillets $\beta$ de chaînes polypeptidiques.	15
Figure I.6.	Schéma d'adsorption de polymère basique sur surface d'oxyde métallique.	22
Figure II.1.1.	Principe d'émission des photoélectrons X.	31
Figure II.1.2.	Principe de l'émission Auger.	32
Figure II.1.3.	Evolution de la profondeur d'analyse ESCA, en fonction de l'angle d'incidence du faisceau de rayons X.	34
Figure II.1.4.	Mesure expérimentale de $E_{c1}$ .	37
Figure II.1.5.	Profils de concentration de Si en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	38
Figure II.1.6a.	Profils de concentration de C en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	39
Figure II.1.6b.	Profils de concentration de O en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	39
Figure II.1.6c.	Profils de concentration de Na en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	40
Figure II.1.6d.	Profils de concentration de B en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	40
Figure II.1.6e.	Profils de concentration de Al en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	41
Figure II.1.6f.	Profils de concentration de K en surface et au coeur du Pyrex (analyses XPS).	41
Figure II.1.7.	Profils de concentration de Si en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	41

Figure II.1.8a.	Profils de concentration de C en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	42
Figure II.1.8b.	Profils de concentration de Na en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	42
Figure II.1.8c.	Profils de concentration de K en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	43
Figure II.1.8d.	Profils de concentration de Ca en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	43
Figure II.1.8e.	Profils de concentration de Al en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	44
Figure II.1.8f.	Profils de concentration de Ba en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	44
Figure II.1.8g.	Profils de concentration de Zr en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	44
Figure II.1.9.	Profils de concentration de Mg en surface et au coeur du Vision (analyses XPS).	44
Figure II.1.10.	Profils de concentration de Si en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	45
Figure II.1.11a.	Profils de concentration de C en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	46
Figure II.1.11b.	Profils de concentration de Na e surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	46
Figure II.1.11c.	Profils de concentration de Ca en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	47
Figure II.1.11d.	Profils de concentration de Al en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	48
Figure II.1.11e.	Profils de concentration de Ba en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	48
Figure II.1.11f.	Profils de concentration de Zr en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	49
Figure II.1.12.	Profils de concentration de Mg en surface et au coeur du Vision Déco (analyses XPS).	49
Figure II.1.13.	Principe d'émission des électrons secondaires et des rayons X en SEM-EDXA.	50

Figure II.1.14.	Principe de formation de l'image dans différent types de microscopes.	55
Figure II.1.15.	Représentation schématique des essais de métallisation.	58
Figure II.1.16a.	Spectre EDXA du Pyrex ( $E_i = 39 \text{ keV}$ ).	203
Figure II.1.16b.	Spectre EDXA du Vision ( $E_i = 39 \text{ keV}$ ).	204
Figure II.1.16c.	Spectre EDXA du Vision Déco ( $E_i = 39 \text{ keV}$ ).	205
Figure II.1.17a.	Représentation schématique de la composition du Pyrex.	68
Figure II.1.17b.	Représentation schématique de la composition du Vision.	69
Figure II.1.17c.	Représentation schématique de la composition du Vision Déco.	70
Figure II.2.1.	Phénomène de mouillabilité.	86
Figure II.2.2.	Le modèle de YOUNG.	86
Figure II.2.3.	Détermination des énergies de surface par la méthode graphique de NEUMANN et WARD.	88
Figure II.2.4.	Détermination des énergies de surface par mesure d'angles de contact en phase vapeur, selon le modèle de FOWKES.	89
Figure II.2.5.	Schéma du modèle de YOUNG en milieu liquide.	91
Figure II.2.6.	Schéma du modèle de YOUNG en milieu liquide - cas de la goutte pendante.	92
Figure II.2.7.	Schéma du montage optique utilisé pour la mesure des angles de contact.	95
Figure II.2.8.	Représentation de l'emplacement des échantillons dans la technique de la goutte pendante.	96
Figure II.2.9.	Méthode expérimentale de mesure des angles de contact.	97
Figure II.2.10.	Schématisation du concept de l'angle à l'avancée	97
Figure II.2.11.	Evolution de $\gamma_s^p$ en fonction de $\gamma_s^a$ pour Pyrex, lorsque la quantité d'eau physisorbée en surface varie.	104
Figure II.2.12.	Evolution de $\gamma_s^p$ en fonction de $\gamma_s^a$ pour Vision, lorsque la quantité d'eau physisorbée en surface varie.	104
Figure III.1.	Schéma de la glycine adsorbée sur surface de graphite.	112

Figure III.2.	Principe de la spectroscopie infra-rouge par réflexion diffuse.	114
Figure III.3.	Principe de la spectroscopie infra-rouge par réflexion interne.	115
Figure III.4.	Principe de la diffusion Raman.	117
Figure III.5.	Représentation du réseau cristallographique de la calcite.	122
Figure III.6.	Spectre Raman du verre Pyrex entre 350 $\text{cm}^{-1}$ et 1320 $\text{cm}^{-1}$ .	127
Figure III.7.	Spectre Raman de la calcite entre 100 $\text{cm}^{-1}$ et 1400 $\text{cm}^{-1}$ .	128
Figure III.8.	Spectre Raman de l'acide octanoïque entre 250 $\text{cm}^{-1}$ et 2800 $\text{cm}^{-1}$ .	206
Figure III.9.	Spectre Raman de l'acide octanoïque entre 200 $\text{cm}^{-1}$ et 820 $\text{cm}^{-1}$ .	206
Figure III.10.	Spectre Raman de l'acide octanoïque entre 1250 $\text{cm}^{-1}$ et 1495 $\text{cm}^{-1}$ .	207
Figure III.11.	Spectre Raman de l'acide octanoïque entre 2800 $\text{cm}^{-1}$ et 3030 $\text{cm}^{-1}$ .	207
Figure III.12.	Spectre Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur NiO.	208
Figure III.13.	Spectre Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur calcite.	132
Figure III.14.	Schéma du mécanisme d'interaction entre l'acide octanoïque et, $\text{CaCO}_3$ et NiO.	134
Figure III.15.	Orientations possibles de $\text{CO}_2^-$ (acide octanoïque) par rapport à la surface des substrats.	135
Figure III.16a.	Spectre Raman de l'octylamine entre 200 $\text{cm}^{-1}$ et 1690 $\text{cm}^{-1}$ .	209
Figure III.16b.	Spectre Raman de l'octylamine entre 2700 $\text{cm}^{-1}$ et 3115 $\text{cm}^{-1}$ .	209
Figure III.17.	Spectre Raman de l'octylamine adsorbée sur VISION.	210
Figure III.18.	Spectre Raman de l'octylamine adsorbée sur PYREX.	139
Figure III.19.	Spectre Raman de l'octylamine adsorbée sur NiO.	211
Figure III.20.	Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction entre l'octylamine et le verre PYREX .	142

Figure III.21.	Orientations extrêmes possibles, pour un groupement $\text{CH}_2$ , par rapport au plan de polarisation.	143
Figure III.22.	Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction entre l'octylamine et $\text{NiO}$ .	144
Figure III.23.	Schéma du module d'adsorption.	148
Figure III.24.	Courbe d'étalonnage de la sonde de température portable.	212
Figure III.25.	Courbe d'étalonnage du verre PYREX (épaisseur 2 mm), réalisée sur le bain-marie à sec.	212
Figure III.26.	Etude des cinétiques de chauffage du bain-marie à sec et d'un substrat d'adsorption (VISION) - $T_{\text{BMS}}$ (température affichée sur le bain-marie = $70^\circ\text{C}$ ).	213
Figure III.27.	Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine en poudre, native, et traitée à $90^\circ\text{C}$ (pH = 3,5, 4,85 et 6,2).	156
Figure III.28.	Représentation schématique d'une courbure $\beta$ .	157
Figure III.29.	Schéma d'une liaison N-H (fonction amide) impliquée dans une liaison hydrogène avec un atome X, et de sa vibration $\delta\text{HNC}$ (AII).	159
Figure III.30.	Vue en coupe d'un dépôt épais d' $\alpha$ -Lactalbumine sur PYREX.	161
Figure III.31.	Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine traitée à $90^\circ\text{C}$ (pH = 3,5 - en poudre) et adsorbée sur PYREX à $55^\circ\text{C}$ et $90^\circ\text{C}$ (pH = 3,5). Dépôts épais.	214
Figure III.32.	Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine traitée à $90^\circ\text{C}$ (pH = 4,85 - en poudre) et adsorbée sur PYREX à $55^\circ\text{C}$ et $90^\circ\text{C}$ (pH = 3,5). Dépôts épais.	215
Figure III.33.	Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine traitée à $90^\circ\text{C}$ (pH = 6,2 - en poudre) et adsorbée sur PYREX à $55^\circ\text{C}$ et $90^\circ\text{C}$ (pH = 3,5). Dépôts épais.	168
Figure III.34.	Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine traitée à $90^\circ\text{C}$ (pH = 6,2 - en poudre) et adsorbée sur PYREX à $55^\circ\text{C}$ et $90^\circ\text{C}$ (pH = 3,5). Dépôts fins.	171
Figure III.35.	Spectres Raman d' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée sur PYREX à $55^\circ\text{C}$ , à pH = 3,5, 4,85 et 6,2. Dépôts fins.	216

Figure III.36.	Spectres Raman obtenus dans deux polarisations différentes, pour l' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée sur PYREX à 55°C, à pH = 6,2. Dépôts fins.	217
Figure III.37	Schéma du mécanisme proposé pour l'interaction entre l' $\alpha$ -Lactalbumine et le verre Pyrex.	176
Figure III.38	Schématisation de la polarisation des vibrations $\nu_a$ ( $\text{CH}_2$ ) et $\nu_s$ ( $\text{CH}_2$ ) lorsque la molécule est orientée comme sur la Fig.III.37.	177
Figure A.3.1.	Schéma technique du spectromètre Raman MICRODIL 28.	223
Figure A.3.2.	Schéma technique du spectromètre Raman OMARS 89.	224
Figure A.3.3.	Schématisation du principe de polarisation du faisceau laser en spectroscopie micro-Raman.	226

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1.	Composition typique du lait de vache.	12
Tableau I.2.	Acides aminés présents dans les protéines du lait.	14
Tableau II.1.1.	Valeurs des sections de capture ( $\sigma$ ), de différents photoélectrons, rapportées à celle de C.1s.	36
Tableau II.1.2.	Pourcentage de photons transmis en EDXA, pour différents éléments, en présence d'une fenêtre d'Al.	56
Tableau II.1.3.	Profondeur d'analyse (da) en EDXA, en fonction de $E_i$ , pour différents éléments.	60
Tableau II.1.4a.	Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 2keV.	61
Tableau II.1.4b.	Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 4keV.	62

Tableau II.1.4c.	Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 8keV.	62
Tableau II.1.4d.	Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 15keV.	63
Tableau II.1.4e.	Valeurs moyennes de S(Y) obtenues lors de l'analyse de Pyrex, Vision et Vision Déco à 39keV.	63
Tableau II.2.1.	Techniques de mesure d'énergie de surface pour des liquides.	84
Tableau II.2.2.	Energie de surface des liquides.	95
Tableau II.2.3.	Mesures des énergies de surface du Pyrex et du Vision, (nettoyages éthanol et alcane).	102
Tableau II.2.4.	Mesures des énergies de surface du Pyrex, du Vision et du Vision Déco, (nettoyages RBS, éthanol et alcane).	103
Tableau III.1.	Mesure de pH des substrats.	126
Tableau III.2.	Raies Raman du verre Pyrex.	127
Tableau III.3.	Raies Raman de CaCO <sub>3</sub> (calcite).	128
Tableau III.4.	Raies Raman de l'acide octanoïque.	129
Tableau III.5.	Raies Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur NiO.	130
Tableau III.6.	Raies Raman de l'acide octanoïque adsorbé sur CaCO <sub>3</sub> .	132
Tableau III.7.	Raies Raman de l'octylamine.	137
Tableau III.8.	Raies Raman de l'octylamine adsorbée sur Vision.	137
Tableau III.9.	Raies Raman de l'octylamine adsorbée sur Pyrex.	138
Tableau III.10.	Raies Raman de l'octylamine adsorbée sur NiO.	140
Tableau III.11a.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre), native et traitée à 90°C à pH = 3,5, 4,85 et 6,2. Gamme de fréquences : 3100 cm <sup>-1</sup> - 1380 cm <sup>-1</sup> .	154
Tableau III.11b.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre), native et traitée à 90°C à pH = 3,5, 4,85 et 6,2. Gamme de fréquences : 1380 cm <sup>-1</sup> - 350 cm <sup>-1</sup> .	155
Tableau III.12.	Bandes A.I. de l' $\alpha$ -Lactalbumine native.	155
Tableau III.13.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre) chauffée à 90°C et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 3,5)- Dépôts épais.	163

Tableau III.14.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre) chauffée à 90°C et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 4,85)- Dépôts épais.	165
Tableau III.15a.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre) chauffée à 90°C et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 6,2)- Dépôts épais. Gamme de fréquence : 3100 cm <sup>-1</sup> - 1600 cm <sup>-1</sup> .	166
Tableau III.15b.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre) chauffée à 90°C et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 6,2)- Dépôts épais. Gamme de fréquence : 1600 cm <sup>-1</sup> - 350 cm <sup>-1</sup> .	167
Tableau III.16.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre) chauffée à 90°C et adsorbée à 55°C et 90°C sur Pyrex (pH = 6,2)- Dépôts fins.	170
Tableau III.17.	Raies Raman de l' $\alpha$ -Lactalbumine (en poudre) adsorbée à 55°C sur Pyrex (pH = 3,5, 4,85 et 6,2)- Dépôts fins.	173
Tableau IV.1.	Synthèse des résultats obtenus lors de l'étude d'interactions molécules organiques-surfaces de verres.	184
Tableau A.2.1.	Valeurs moyennes de rugosités du verre Pyrex et des vitrocéramiques Vision et Vision Déco.	219

# LISTE DES SYMBOLES, INDICES ET EXPOSANTS

*Remarque* : Les unités utilisées pour les données dimensionnées sont précisées dans chaque cas dans le texte. Quand elles ne sont pas précisées, il s'agit des unités du système international.

## CHAPITRE I

### SYMBOLES

A	: Aire de contact
C	: Terme caractérisant la propension à former des liaisons covalentes
E	: Terme caractérisant la propension à subir des interactions électrostatiques
L	: Liquide
pI	: Point isoélectrique
P	: Particule
PMMA	: Polyméthylmétacrylate
$r_{ij}$	: Distance intermoléculaire $i - j$
S	: Solide
T	: Température
$\gamma$	: Energie de surface
$\gamma_{i,j}$	: Energie interfaciale entre $i$ et $j$ (en $\text{mJ.m}^{-2}$ )
$\Delta G$	: Variation d'énergie libre
$\Delta H$	: Variation d'enthalpie

### INDICES :

A	: Acide
B	: Base
L	: Liquide
P	: Particule

S : Solide

## CHAPITRE II - 1<sup>ère</sup> Partie

### SYMBOLES

a	: niveau électronique
A	: Angströms ( $10^{-10}\text{m}$ )
B	: Constante d'appareil (XPS)
c.s <sup>-1</sup>	: Coups par seconde
Cb	: Concentration au coeur
Ci	: Concentration d'un élément i
Cm	: Concentration dans les couches internes peu profondes
Cs	: Concentration en surface
C(Y)	: Concentration en l'élément Y
d	: Profondeur
d(A)	: Epaisseur décapée en Å ( $1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$ )
da	: Profondeur d'analyse (en $\mu\text{m}$ )
e	: Epaisseur
$\bar{e}$	: Electron
eV	: Electronvolt
E	: Energie
Eb	: Energie de liaison
Ec	: Energie cinétique
Ec <sub>1</sub>	: Energie cinétique mesurée
Ec <sub>2</sub>	: Energie cinétique théorique
Ei	: Energie excitatrice (en keV)
E <sub>n</sub>	: Energie de liaison d'un électron d'un niveau n (n = 1,2,3,K,L1...)
F <sub>rx</sub> (Z)	: Fonction correctrice utilisée en E.D.X.A.
h	: Constante de Planck
i	: Courant électrique
I	: Intensité
I <sub>max</sub>	: Maxima d'une raie

$I_{\text{moyen}}$	: Moyenne des $I(Y,a)$ obtenues au cours des analyses sur un même échantillon, après un 1er décapage
$I(Y,a)$	: Intensité du signal de photoélectrons X issus du niveau électronique a de l'élément Y
$I(Z)$	: Intensité du signal d'un élément Z
kV	: Kilovolt
keV	: Kiloélectronvolt
K	: Niveau électronique K
l	: Largeur
L	: Longueur
mA	: Milliampère
mol	: Mole
$M_i$	: Masse molaire de l'atome i
n	: Nombres d'atomes
$n(Z)$	: Nombres d'atomes de numéro atomique Z
P	: Pression
Pa	: Pascal
$R_i$	: Facteur correctif de rétrodiffusion (EDXA)
RX	: Rayons X
$S(\text{BF})$	: Surface mesurée pour le bruit de fond (en analyse E.D.X.A.)
$S(Y)$	: Surface d'une raie EDXA caractéristique d'un élément Y
t	: Temps
T	: Température
Y	: Élément de la classification périodique
Z	: Numéro atomique
$\bar{Z}$	: Numéro atomique moyen
$Z_i$	: Numéro atomique d'un élément i
$\alpha$	: Constante d'appareil (XPS)
$\Delta$	: Différence
$\Delta I_{\text{max}}$	: Ecart entre $I(Y,a)$ maximale et $I(Y,a)$ minimale, obtenues au cours des analyses sur un même échantillon, après un 1er décapage
$\theta_d$	: Angle d'inclinaison du détecteur (E.D.X.A.)
$\theta_i$	: Angle d'incidence
$\lambda$	: Libre parcours moyen
$\mu\text{m}$	: Microns ( $10^{-6}$ m)

$\nu$	: Fréquence
$\rho$	: Densité moléculaire (en $\text{cm}^{-3}$ )
$\sigma$	: Section de capture
$\tau$	: Facteur de transmission de l'appareil
$\kappa$	: Constante d'appareillage en ESCA

## INDICES :

$K, L_1,$	: Niveaux électroniques $K, L_1, L_{2,3}, M$
$L_{2,3}, M$	

## EXPOSANTS :

0	: Element de référence
---	------------------------

CHAPITRE II - 2<sup>ème</sup> Partie

## SYMBOLES

A	: Constante de répulsion
Cyclo	: Cyclohexane
$d_{1,2}$	: Distance d'équilibre entre 1 et 2
Déc	: Décane
Dodéc	: Dodécane
exp	: Expérimental
eV	: Electron-volt
$\vec{E}$	: Champ électrique
$\vec{f}_A$	: Force d'attraction
$\vec{F}_A$	: Force totale d'attraction
h	: Hauteur
Hept	: Heptane
Hex	: Hexane
Hexad	: Hexadécane
I	: Potentiel d'ionisation
$I_{i,j}$	: Terme d'interaction entre i et j
k	: Constante de Boltzmann
l	: Largeur
L	: Liquide
M	: Phase M

n	: Densité moléculaire
Oct	: Octane
P	: Pression
Pent	: Pentane
q	: Charge électrique
r	: Distance interatomique
R	: Coefficient de corrélation
Ref	: Référence
s	: Surface
S	: Solide
Squa	: Squalane
t	: Temps
ta	: Temps de passage à l'air
th	: Théorique
T	: Température
u(r)	: Potentiel d'interaction entre 2 corps distant de r
V	: Phase vapeur
W <sub>a</sub>	: Travail d'adhésion
W <sub>c</sub>	: Travail de cohésion
B <sub>12</sub>	: Composante de $\Delta F_{a1,2}$
$\alpha$	: Polarisabilité
$\gamma$	: Energie de surface (en mJ.m <sup>-2</sup> )
$\gamma_c$	: Energie de surface critique (méthode de ZISMAN) (en mJ.m <sup>-2</sup> )
$\gamma_{i,j}$	: Energie interfaciale entre i et j (en mJ.m <sup>-2</sup> )
$\gamma_{SV}^*$	: Energie de surface déterminée par la méthode de NEUMANN et WARD (en mJ.m <sup>-2</sup> )
$\Delta F_a$	: Energie libre d'adhésion
$\Delta F_c$	: Energie libre de cohésion
$\theta$	: Angle de contact (en degré)
$\mu$	: Moment dipolaire
$\pi_e$	: Pression d'étalement (en mJ.m <sup>-2</sup> )
$\phi$	: Angle

## INDICES :

a	: Adhésion
av	: Avancée

c : Calculé  
 d : Droit  
 D : Debye  
 g : Gauche  
 i,j,1,2 : Corps i,j,1,2  
 L : Liquide  
 m : Moyen  
 M : Phase M  
 S : Solide  
 V : Phase vapeur

## EXPOSANTS :

d : Dispersif  
 p : Polaire  
 pi : Dipôle-dipôle induit  
 pp : Dipôle-dipôle

## CHAPITRE III

## SYMBOLES

a : Assymétrique  
 AI : Amide I  
 AII : Amide II  
 AIII : Amide III  
 c : Vitesse de la lumière  
 dp : Dans le plan  
 $d_p$  : Profondeur de pénétration  
 e :  $\ln^{-1}(1)$   
 eV : Electron-volt  
 E : Energie  
 $E_0, E_1, E_2$  : Niveaux d'énergie  $E_0$ ,  $E_1$  et  $E_2$   
 $\vec{E}$  : Vecteur champ électrique  
 $E_c$  : Energie cinétique  
 $E_i$  : Energie excitatrice du faisceau d'électrons (E.D.X.A.)  
 f : Faible

F	: Fort
hp	: Hors du plan
$h\nu_i$	: Rayonnement de photons incidents
$h\nu_r$	: Rayonnement de photons réfléchis
I	: Intensité
$I_i$	: Intensité initiale
$k_T$	: Conductivité thermique
m	: Moyen
msf	: Massif
n	: Indice de réfraction
NP	: Non polarisée
P	: Polarisée
Phé	: Phénylalanine
R	: Coefficient de corrélation
s	: Symétrique
sh	: Epaulement
t	: Temps
tf	: Très faible
tF	: Très fort
ti	: Temps d'intégration
T	: Température
Trp	: Tryptophane
Tyr	: Tyrosine
V	: Volume
$\alpha$ -La.	: $\alpha$ -Lactalbumine
$\nu_t$	: Vibration de torsion
$\nu_w$	: "Wagging" vibration,
$\delta$	: Vibration de déformation
$\theta_c$	: Angle d'incidence critique
$\theta_i$	: Angle d'incidence
$\lambda$	: Longueur d'onde
$\mu\text{m}$	: Micron = $10^{-6}\text{m}$
$\nu$	: Fréquence; Vibration de valence
$\bar{\nu}$	: Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )

## INDICES :

BMS : Bain-marie à sec  
 Pyr : Pyrex  
 VBL : Vision Déco  
 VIS : Vision

## SYNTHESE ET CONCLUSION

## SYMBOLES

$\gamma_s^d$  : Composante dispersive de l'énergie de surface d'un solide S  
 (mJ.m<sup>-2</sup>)  
 $\gamma_s^p$  : Composante polaire de l'énergie de surface d'un solide S (mJ.m<sup>-2</sup>)  
 $\Delta F_a$  : Energie libre d'adhésion

## ANNEXE 1

## SYMBOLES

E(RX) : Energie des photons X (en EDXA)  
 keV : Kilo electron-volts  
 T : Température  
 $\mu m$  : Microns = 10<sup>-6</sup>m  
 $\bar{\nu}$  : Nombre d'onde (cm<sup>-1</sup>)

## INDICES :

BMS : Bain-marie à sec  
 Pyr : Pyrex  
 Vis : Vision

## ANNEXE 2

## SYMBOLES

$I_{S,L}^p$  : Terme d'interaction polaire entre S et L  
 $R_A$  : Rugosité moyenne

t : Temps  
 T : Température  
 $\gamma$  : Energie de surface  
 $\theta$  : Angle de contact  
 $\mu\text{m}$  : Microns =  $10^{-6}\text{m}$

## INDICES :

L, L<sub>2</sub> : Liquides L, L<sub>2</sub>  
 S : Solide

## EXPOSANTS :

d : Dispersif

## ANNEXE 3

## SYMBOLES

C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> : Optiques de couplage 1,2,3,4 du spectromètre Raman  
 C<sub>4</sub>  
 $\vec{E}, \vec{E}_1, \vec{E}_2$  : Vecteur champ électrique de polarisation  
 S<sub>1</sub>, S'<sub>2</sub>, : Fentes de sortie du spectromètre Raman  
 S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>

## SIGLES

AES : Spectroscopie électronique AUGER  
 ATR : Réflexion interne  
 EDXA : Analyse d'énergie dispersive des photons X - microsonde X  
 ESCA : Spectroscopie électronique pour l'analyse chimique  
 FTIR : Spectroscopie Infra-rouge par transformée de Fourier  
 IR : Spectroscopie Infra-rouge  
 I.R. : Infra-rouge  
 SEM : Microscopie électronique à balayage  
 SIMS : Spectrométrie de masse des ions secondaires  
 XPS : Spectroscopie des photo-électrons X



PPN 036112364

## RESUME

Afin d'expliquer et ensuite de réduire la formation des dépôts alimentaires sur substrats vitreux, dépôts qui semblent être initiés par l'adhésion de protéines, nous étudions l'adsorption de l' $\alpha$ -Lactalbumine (protéine du lactosérum), sur surfaces de verre PYREX et de vitrocéramiques VISION et VISION DECO, selon les théories thermodynamique et des liaisons chimiques de l'adhésion.

La caractérisation des substrats par mesures d'énergies superficielles ( $\gamma_s$ ) et d'acidité, et par spectroscopies XPS et SEM-EDXA montre que leur  $\gamma_s$  dépend de la quantité d'eau physiosorbée en surface ( $\gamma_s = 220-240 \text{ mJ.m}^{-2}$  pour la plus faible couche d'eau résiduelle obtenue), que ces surfaces sont acides (pH = 5.0-6.0) et qu'elles sont composées essentiellement de silice ( $\text{SiO}_2$ ) (PYREX et VISION DECO: 93% en poids de  $\text{SiO}_2$ ; VISION: 74% de  $\text{SiO}_2$  et 22% d'alumine ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )). En outre il semble que VISION ait une plus forte énergie superficielle que les deux autres substrats et qu'il soit plus acide, ce qui s'explique par sa plus forte teneur en  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

L'analyse en micro-Raman d'acide octanoïque, d'octylamine et d' $\alpha$ -Lactalbumine adsorbés sur ces surfaces ( $\alpha$ -Lactalbumine adsorbée à pH = 3.5, 4.85 et 6.2 à 55°C et 90°C, en statique) permet en outre de proposer des mécanismes d'interactions de type acide-base (liaisons hydrogènes entre les groupements silanols des verres ( $\text{SiOH}$ ) et les sites basiques des molécules adsorbées) qui peuvent expliquer les phénomènes d'adhésion et s'accordent au caractère acide de ces substrats.