

# L'analyse biologique de demain : vers une médecine personnalisée

L'analyse biologique de demain va quitter le domaine du laboratoire spécialisé pour entrer de plain-pied dans le cabinet du médecin et dans la vie courante. Il sera nécessaire d'effectuer des analyses plus rapides et en plus grand nombre sur des échantillons de taille toujours plus réduite. L'homme n'évoluera plus dans un univers où, face à une pathologie donnée, un seul médicament sera valable pour tous les patients du monde. Au contraire, le médecin se trouvera dans la situation où il devra ou pourra choisir, au sein d'un véritable arsenal thérapeutique varié, la molécule la mieux appropriée aux caractéristiques de son patient. Cela laisse ainsi espérer une véritable adaptation thérapeutique individuelle.



L. Godart/CEA

En raison de leurs performances et de leur facilité de mise en œuvre, les dosages immunologiques ont envahi tous les secteurs de l'analyse biologique. Les analyses biologiques de demain quitteront le domaine du laboratoire spécialisé.

Depuis qu'il essaie de comprendre le monde du vivant, l'homme a cherché à analyser la composition des objets qui le constituent. Maintenant qu'il est clairement établi que la vie résulte de l'agencement et du fonctionnement coordonné d'un grand nombre de **molécules**, dont certaines sont l'apanage du vivant, l'analyse biologique est devenue moléculaire. L'objet de cette analyse est extrêmement varié, puisqu'il va de molécules inorganiques (métaux, **ions**) aux macromolécules biologiques (**protéines**, **acides nucléiques**, **sucres complexes**), en passant par les molécules organiques de petite taille (sucres, **lipides**, **hormones**, vitamines, neurotransmetteurs<sup>(1)</sup>, **métabolites** naturels, médicaments...). Une petite partie de ces cibles est mesurée à l'aide de techniques issues de l'analyse chi-

mique (métaux, ions, sucres, protéines totales), mais la grande majorité relève de méthodes plus récentes spécifiquement adaptées aux molécules biologiques.

## Un enchaînement de briques de base

Une des particularités les plus surprenantes du monde du vivant est sa capacité à générer une multitude de structures, et donc d'activités distinctes, à partir de

(1) Neurotransmetteur: petite molécule sécrétée par une cellule nerveuse et qui assure le transfert de l'influx nerveux vers une autre cellule nerveuse (transmission chimique, par opposition à la transmission électrique qui propage l'influx nerveux le long des nerfs). Les neurotransmetteurs agissent le plus souvent au niveau des synapses (structures extracellulaires spécialisées mettant en contact deux cellules nerveuses).

quelques composants de base. Ainsi, toutes les protéines existant à la surface du globe, dont le nombre peut être estimé à plusieurs millions ou milliards selon la prise en compte ou non des protéines comprenant des **séquences** provenant d'agencements combinatoires comme les anticorps, résultent de l'assemblage linéaire de vingt **acides aminés** différents. De façon encore plus spectaculaire, le nombre équivalent de **gènes** et d'acides nucléiques découle de l'assemblage linéaire de quatre **nucléotides** de base. Ainsi, les propriétés fondamentales de ces molécules biologiques ne sont pas liées à leur composition chimique élémentaire, qui est quasiment la même pour toutes les protéines ou acides nucléiques, mais bien à l'enchaînement des briques de base (acides aminés, nucléotides) qui va conditionner la fonction de la macromolécule. Dans le cas des protéines, l'influence de la séquence primaire va être essentiellement de dicter la structure tridimensionnelle dont dépendra l'activité biologique.

### Les outils d'aujourd'hui pour étudier le monde du vivant

Pour explorer ce monde particulier, il fallait des outils adaptés, différents de ceux développés pour et par la chimie. Après plus de 50 ans d'analyse biologique moderne, il n'est pas surprenant de constater que ces outils ont été essentiellement fournis par le monde du vivant lui-même. Ainsi, pour analyser des protéines, les biologistes utilisent aujourd'hui principalement des anticorps, c'est-à-dire d'autres protéines. Regroupées au sein des *méthodes de l'immunoanalyse*, les méthodes fondées sur l'utilisation d'anticorps couvrent une grande partie des analyses biologiques modernes. De la même façon, les acides nucléiques sont, le plus souvent, détectés à l'aide d'autres acides nucléiques. Dans toutes ces techniques, des molécules biologiques sont employées comme des "sondes", qui vont permettre la détection et la quantification d'autres molécules biologiques avec lesquelles elles vont former des **complexes** spécifiques.

### Les méthodes de l'immunoanalyse

Ces méthodes reposent en grande partie sur les propriétés remarquables des anticorps et sur l'utilisation conjointe de **molécules marquées**. Les anticorps sont des protéines produites par le système immunitaire des vertébrés supérieurs, en réponse à l'introduction dans un organisme d'un "antigène" perçu comme "étranger" par l'organisme. Le système immunitaire est capable de fabriquer des milliards d'anticorps différents pour lutter contre les agents toxiques ou infectieux (**bactéries, virus, toxines**). C'est ce fantastique répertoire qui va être exploité par les biologistes pour réaliser des "dosages immunologiques" pour à peu près n'importe quel type de molécule biologique (hormones, virus, bactéries, neurotransmetteurs, cytokines (2), médicaments...).

Ces dosages sont fondés sur l'interaction "antigène-anticorps" caractérisée par une grande spécificité et par une haute affinité. La spécificité des anticorps, c'est-à-dire leur aptitude à ne former de complexe qu'avec le seul antigène contre lequel ils ont été sélectionnés, est une qualité essentielle. C'est elle qui permet d'utiliser les anticorps comme de véritables sondes capables d'aller reconnaître dans un milieu



L. Godard/CEA

Dépôt d'échantillons dans les puits d'une plaque de microtitration pour la réalisation d'une grande série de dosages immunologiques. Ces dosages s'appuient sur l'interaction entre un antigène et un anticorps.

biologique, souvent très complexe, les molécules d'intérêt et elles seules. L'affinité d'un anticorps vis-à-vis d'un antigène donné est aussi un paramètre fondamental, parce qu'il va conditionner la sensibilité de la mesure effectuée. En effet, quelle que soit la technique employée, un dosage immunologique ne détectera une substance que s'il y a production d'un complexe antigène-anticorps. Or, la création de ces complexes obéit aux lois de la thermodynamique, qui prévoient que ceux-ci ne se formeront, de façon significative, qu'à la condition que la constante de dissociation (3) de ces complexes ( $K_D$ ) l'autorise (en pratique le  $K_D$  doit être inférieur à  $10^{-9}$  M).

Depuis plus de 50 ans que les chercheurs ont appris à utiliser les anticorps à des fins analytiques, un nombre considérable de techniques a été décrit. Il n'est pas question d'en dresser ici un inventaire détaillé. Certaines de ces méthodes permettent une détection localisée d'un antigène, dans le but d'acquérir des informations structurales à l'échelle cellulaire, sub-cellulaire ou moléculaire (immunohistochimie, immunocytochimie (4), western blot (5)). Elles sont largement employées en recherche. Cependant, le plus souvent, les dosages immunologiques visent à réaliser une mesure quantitative de la concentration d'un antigène ou d'un anticorps dans un milieu biologique donné. Dans cette situation, la mesure est obtenue grâce à l'utilisation conjointe d'une "molécule marquée", appelée aussi traceur, qui permet de quantifier la formation des complexes antigène-anticorps. Ces molécules marquées sont constituées par des molécules d'anticorps ou d'antigène sur lesquelles a été fixé un marqueur délivrant un signal facilement mesurable à l'aide d'une méthode

(2) Cytokine: protéine ou peptide (molécule de type protéique formée d'un petit nombre d'acides aminés) de signalisation extracellulaire qui agit comme médiateur local de la communication entre les cellules.

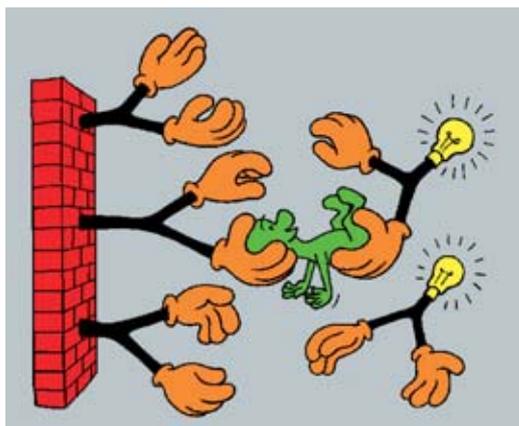
(3) La constante de dissociation est égale à:  $([\text{concentration de l'antigène}] \times [\text{concentration de l'anticorps}]) / [\text{concentration du complexe antigène-anticorps}]$ .

(4) Immunohistochimie et immunocytochimie: méthodes de détection d'antigènes tissulaires (immunohistochimie) ou cellulaires (immunocytochimie) par des anticorps spécifiques marqués, soit par des fluorochromes, qui sont des molécules absorbant la lumière à une longueur d'onde et répondant en émettant de la lumière à une longueur d'onde supérieure, soit par des enzymes.

(5) Western blot: technique par laquelle les protéines sont séparées par électrophorèse et immobilisées sur un support synthétique, puis analysées au moyen d'un anticorps marqué.

Figure 1.

Principe d'un dosage immunométrique à deux sites (dosage sandwich). Les mains représentent les sites de liaison des anticorps, le bonhomme vert, la molécule à doser, et la lumière, un marqueur (enzyme, fluorophore) fixé sur un des deux anticorps impliqués dans le dosage. Dans ce type de dosage, la molécule cible est liée simultanément par deux anticorps reconnaissant deux sites de liaison compatibles sur cette molécule. Un des anticorps, appelé *anticorps de capture*, est accroché à un support solide (tube, bille, plaque). L'autre, nommé *anticorps traceur*, est marqué et va permettre la détection des complexes immobilisés. Après élimination, par lavage, des anticorps marqués non fixés, la mesure du signal associé au support solide permettra d'atteindre la mesure de la concentration de la molécule cible.



CEA

physico-chimique sensible (**radioactivité, fluorescence, luminescence, activité enzymatique**). Dans la plupart des cas (dosages hétérogènes), l'usage de ces marqueurs impose une étape de séparation, de façon à différencier les molécules marquées engagées dans les complexes antigène-anticorps de celles qui sont libres en solution. Le principe d'un dosage dit *sandwich* est présenté, à titre d'exemple, à la figure 1. Apparus il y a plus de 50 ans, les dosages immunologiques ont, depuis, envahi tous les domaines de l'analyse biologique (recherche, diagnostic, agroalimentaire), en raison de leurs performances et de leur facilité de mise en œuvre. Ils se retrouvent aussi bien dans des automates d'analyse très sophistiqués, qui effectuent plus de 400 analyses par heure avec une durée d'analyse inférieure à 30 minutes et un seuil de détection proche de l'**attomole**, que dans des tests rapides ou *home tests* utilisables par toute personne sans formation préalable (test de grossesse, par exemple).

### Les dosages par hybridation moléculaire

Avec les développements spectaculaires de la biologie moléculaire à partir des années 70, d'autres méthodes d'analyse spécifiquement dédiées aux acides nucléiques sont apparues. Pour une bonne partie, elles sont calquées sur les méthodes de l'immunoanalyse et reposent sur les propriétés d'**hybridation** de deux brins d'acides nucléiques complémentaires. Cette réaction d'hybridation va être exploitée de la même façon que

l'interaction antigène-anticorps pour détecter et quantifier des séquences spécifiques d'acides nucléiques (**ADN** ou **ARN**), le plus souvent grâce à l'utilisation conjointe de molécules marquées. Les domaines d'applications de ces techniques, souvent complémentaires de ceux de l'immunoanalyse, seront essentiellement les secteurs de l'analyse génétique et de la détection des agents infectieux (virus ou bactéries). Les dosages par hybridation moléculaire ont l'avantage d'être en général plus faciles à développer que les dosages immunologiques. En effet, il est infiniment plus facile de synthétiser une sonde nucléique que de sélectionner et produire un bon anticorps. De plus, elles bénéficient d'un atout considérable avec l'avènement de techniques d'amplification des acides nucléiques, et notamment de la **PCR**. Dans ce cas, il est possible de procéder à une amplification considérable de la cible, couramment d'un facteur  $10^9$  (un milliard), ce qui, bien entendu, facilite considérablement l'analyse, en réduisant de façon spectaculaire les contraintes en termes de sensibilité. Par ailleurs, dans les domaines de l'analyse du **génom**e et du **transcriptome**, l'hybridation moléculaire a montré qu'elle était particulièrement bien adaptée à la mise en place d'analyses massivement parallèles (**puces à ADN**), avec parfois plus de cent mille analyses réalisées simultanément sur quelques  $cm^2$ .

### L'émergence de la spectrométrie de masse

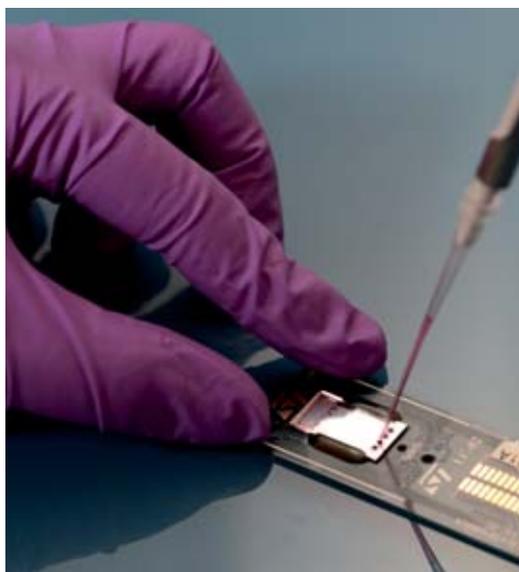
Au cours des dernières années, les techniques de la **spectrométrie de masse** ont connu un essor considérable et pris une place importante en analyse biologique. Initialement développées pour l'analyse **isotopique** ou l'analyse des molécules organiques de petite taille, en particulier les médicaments, elles sont maintenant de plus en plus adaptées à l'analyse d'un nombre croissant de molécules d'intérêt biologique, notamment les protéines. Ces progrès sont essentiellement liés à l'amélioration des **techniques d'ionisation** (ESI, MALDI) mais aussi au couplage avec la **chromatographie liquide à haute performance (HPLC)** et à une amélioration des performances électroniques des appareillages. Dans les domaines des analyses **protéomiques** et **métabolomiques**, ce sont maintenant des outils incontournables. Si elles sont encore souvent limitées en termes de sensibilité par rapport aux méthodes de l'immunoanalyse, elles présentent, en revanche, une capacité d'adaptation et une spécificité supérieures.

### Aller du laboratoire au pied du lit du patient

Les évolutions exposées précédemment préfigurent clairement les tendances de l'analyse biologique de demain. D'une part, l'analyse biologique va sortir du laboratoire spécialisé pour aller dans le cabinet du médecin ou au pied du lit du patient. D'autre part, il sera exigé qu'elle atteigne les limites envisageables de son art, en permettant une analyse massivement parallèle d'un nombre impressionnant de paramètres, tout en rendant possible une réduction notable de la taille des échantillons biologiques, qu'ils soient tissulaires ou sanguins.

### Des analyses plus rapides

Notre expérience personnelle nous montre que bien souvent le diagnostic d'une pathologie et la décision thérapeutique qui en découle n'ont pas lieu lors de la première consultation avec un médecin mais bien sou-



P. Stroppa/CEA

Ce dispositif, développé dans le cadre d'un contrat STMicroelectronics/CEA, est dédié au diagnostic génétique. Il intègre la préparation de l'échantillon d'ADN par voie enzymatique (PCR) et son analyse par hybridation sur une puce à ADN.



Spectromètre de masse de protéines ESI-Q-TOF couplé à un chromatographe liquide à haute performance et associé à un passeur automatique d'échantillons. Cet instrument présente une grande sensibilité ainsi qu'une excellente résolution et une bonne précision en masse.

vent après une période plus ou moins longue rendue nécessaire pour faire pratiquer un ou des prélèvements biologiques (sanguins, urinaires, tissulaires parfois) puis une analyse spécifique par un laboratoire spécialisé. Il existe un exemple intéressant où ce délai est réduit. En effet, les médecins ont d'ores et déjà à leur disposition un test diagnostique rapide de l'angine à streptocoques, qui est effectué en quelques minutes dans le cabinet même du praticien. Ce test permet ainsi de réserver la prescription d'antibiotiques uniquement dans les cas rares mais graves d'infections bactériennes, et par conséquent d'épargner un traitement antibiotique inutile dans les infections plus nombreuses et moins graves d'angines exclusivement d'origine virale. Il est raisonnable d'imaginer que de nombreuses épreuves diagnostiques, reposant sur une analyse ultra-rapide dans le cabinet du médecin ou au pied du lit du patient, seront réalisables dans un avenir proche pour d'autres pathologies. Cette tendance se justifie entre autres dans un environnement économique très contraint des dépenses de santé. Dans cette application, il sera demandé que les analyses biologiques puissent se faire extrêmement rapidement, et en tout cas dans un temps compatible avec la durée d'une consultation.

Le corollaire de cette évolution sera la possibilité que le patient pratique lui-même à domicile un nombre accru de mesures biologiques. Cela contribuera ainsi à une prise en charge directe par le patient de sa pathologie, toujours facteur de progrès dans l'évolution des maladies.

### Des marqueurs plus nombreux et plus sensibles

Depuis que l'analyse biologique est devenue l'un des piliers de l'acte médical, les biologistes ont cherché à faire reposer le diagnostic sur des marqueurs spécifiques et sensibles, et si possible ayant une vertu pronostique solide. Dans l'avenir, il est plus que probable que le nombre de marqueurs disponibles ira croissant, grâce à l'amélioration des connaissances des mécanismes moléculaires sous-jacents aux pathologies et de la biologie de la cellule.

Il est fortement vraisemblable que la prochaine génération de marqueurs sera présente dans les échantillons

biologiques à des concentrations encore plus faibles que les précédents. Si les marqueurs historiques étaient des métabolites circulant à des concentrations importantes, par exemple le glucose dont la concentration dans le sang est de l'ordre du g/L, aujourd'hui il est nécessaire de pouvoir quantifier des hormones ou des protéines à des concentrations proches de la dizaine de ng/L ( $10^{-8}$  g/L). Sans aucun doute, un facteur 1 000 sera encore à gagner pour les prochains marqueurs.

### Des analyses en grand nombre sur des échantillons de taille toujours plus réduite

Les relations multiples et complexes entre les processus biologiques au sein d'une cellule commencent à être mieux comprises et décrites. Il devient évident qu'une pathologie ou un dysfonctionnement de cellules ou d'organes ne peuvent se résumer à faire varier qualitativement ou quantitativement une seule molécule (une protéine, un acide nucléique, un métabolite...). Pour parvenir à une action biologique, la cellule peut non pas emprunter une voie unique et non ambiguë, mais, au contraire, mettre à contribution de nombreuses voies qui agissent simultanément ou successivement. La cellule est un système biologique complexe. Il est donc compréhensible que faire reposer le diagnostic ou la thérapeutique de toutes les pathologies complexes sur la mesure unique d'un seul marqueur ne sera plus la seule approche à explorer.

Purification par chromatographie liquide-solide de traceurs fluorescents. Les marqueurs de la prochaine génération seront encore plus nombreux et seront présents dans les échantillons biologiques à des concentrations encore plus faibles.





L. Godart/CEA

Échantillons sanguins. Les analyses biologiques de demain permettront d'analyser un grand nombre de molécules simultanément sur un échantillon unique et de taille toujours plus réduite.

L'analyse biologique de demain va demander de pouvoir analyser un grand nombre de molécules simultanément sur un échantillon unique. Dans ce cas, au lieu de parler de valeur haute ou basse d'un marqueur biologique, comme par exemple une glycémie élevée en cas de diabète, le biologiste se reposera sur l'analyse d'un profil qui résumera la présence et la valeur d'une multitude de molécules (peut-être 10 ou 100). Seule la connaissance de cet ensemble de molécules permettra un diagnostic fiable, une bonne décision thérapeutique et un pronostic précis. Ces analyses en grand nombre seront effectuées sur des échantillons de taille toujours plus réduite, car il ne peut être question pour analyser 100 ou 1 000 molécules de requérir des échantillons de plus de quelques **microgrammes**.

L'apport de l'analyse biologique ne se limite pas au seul diagnostic. Dans l'avenir, elle jouera également un rôle clé dans le choix des médicaments à administrer au malade. Le patient et sa maladie constituent en théorie un couple unique. Chacun d'entre nous réagit de façon différente vis-à-vis d'un médicament. Par exemple, les

■ (6) À ce sujet, voir *Clefs CEA*, n° 52, été 2005, p. 107-110.

capacités d'élimination d'un médicament peuvent varier selon les individus, sur des bases parfois conditionnées génétiquement. Connaître par des tests appropriés les réactions à l'égard d'un médicament (effets secondaires indésirables, capacités d'élimination...) dirigerait le traitement vers tel ou tel médicament.

### Vers une analyse autonome portable

Une dernière tendance forte et émergente est le besoin de pratiquer des analyses *in situ* de façon portable et continue. Dans différentes pathologies chroniques notamment ou diverses situations thérapeutiques (services de réanimation ou de médecine d'urgence), le thérapeute peut souhaiter bénéficier de renseignements en temps réel et de façon continue. Il faut donc "instrumenter" le patient, c'est-à-dire implanter des dispositifs capables de mesurer un paramètre biologique pertinent et de transmettre cette information vers un dispositif de traitement ou de stockage de l'information. Ces biocapteurs se doivent bien entendu d'être le moins invasifs possible et le plus biocompatibles, afin d'être tolérés sur des périodes longues, voire des années.

### L'apport de la physique et des micro et nanotechnologies

Ce programme ne pourra se réaliser que grâce à la convergence de plusieurs sciences et technologies. Historiquement, les physiciens ont souvent donné aux biologistes des outils innovants pour sonder la matière vivante. Les physiciens ont su les premiers comprendre et utiliser les interactions entre la lumière, les rayonnements ou les particules et la matière, et ont fourni des méthodes **spectroscopiques** aux biologistes. Il faut également citer l'usage des **ultrasons** en échographie médicale. Il est indispensable de continuer dans cette voie pour disposer de nouvelles méthodes de mesures sans marquage chimique, sans prélèvement, voire à distance, de façon non invasive. Les laboratoires de physique expérimentent aujourd'hui les principes sur lesquels se fonderont les analyses biologiques de demain.

En outre, il est évident que les micro et nanotechnologies vont prendre une part notable dans cette révolution. La réduction des volumes réactionnels fera gagner bien entendu sur la taille de l'échantillon. Un échantillon peut être fractionné pour réaliser un nombre multiple de mesures. Par ailleurs, la réduction de taille peut conduire à un gain appréciable de temps d'analyse. En effet, la vitesse d'une réaction biologique varie avec le carré de la distance que les partenaires de la réaction doivent parcourir en moyenne avant d'interagir. Par exemple, si une réaction biologique entre deux protéines met 24 heures à se réaliser dans un tube à essai de 1 cm de diamètre, elle ne mettra plus que quelques secondes dans un microtube de 10  $\mu\text{m}$  de diamètre<sup>(6)</sup>. L'avenir de l'analyse biologique résidera donc dans sa capacité à intégrer les progrès de la physique et à user des micro et nanotechnologies mises en place dans le cadre des technologies de l'information, pour les mettre au service de notre santé.

P. Chagnon/BSIP-CEA



Capteur Multi-Patch miniaturisé au format biopuce permettant d'enregistrer, de façon complètement automatisée, de très faibles courants ioniques sur un grand nombre de cellules en parallèle. Il a été conçu en combinant les performances des microtechnologies, de la microélectronique et de la microfluidique. L'analyse biologique de demain devra largement s'appuyer sur les micro et nanotechnologies.

➤ **Jacques Grassi**  
Direction des sciences du vivant

➤ **Jean-Marc Grognon**  
Direction de la recherche technologique

CEA Centre de Saclay

# D Spectroscopie et spectrométrie

Les méthodes spectrométriques se décomposent globalement en deux grandes catégories, la spectrométrie des rayonnements – qui elle-même regroupe la spectrométrie d'absorption, la spectrométrie d'émission, la spectrométrie de diffusion Raman et la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire – et la spectrométrie de masse.

La **spectroscopie** et la **spectrométrie**<sup>(1)</sup> **des rayonnements** regroupent un ensemble de méthodes d'analyse permettant d'accéder à la composition et à la structure de la matière fondées sur l'étude des spectres fournis par l'interaction des **atomes** et des **molécules** avec divers **rayonnements électromagnétiques** qu'ils émettent, **absorbent** ou **diffusent**.

Selon leur énergie, les **photons** interagissent sélectivement avec les différents niveaux électroniques qui composent la structure électronique atomique ou moléculaire. Ce sont les **électrons de cœur** (proches du noyau atomique) pour les rayons X<sup>(2)</sup>, les **électrons périphériques** (éloignés des noyaux et impliqués dans les liaisons chimiques) pour la lumière absorbée ou émise dans le **proche ultraviolet** et dans le **visible**. Dans le domaine des rayonnements **infrarouge**, c'est le saut entre niveaux de **vibration moléculaire** qui intervient, le saut entre niveau de **rotation** des molécules pour les micro-ondes et le **spin** du **noyau atomique** pour la RMN.

## Spectrométrie d'absorption

Celles des méthodes de spectroscopie qui sont fondées sur l'**absorption** utilisent la loi de Beer-Lambert, indiquant la proportionnalité entre l'intensité lumineuse absorbée et la quantité de matière absorbante :

$$A = \log(I_0/I) = \epsilon \cdot C \cdot l$$

où A est l'**absorbance** du milieu traversé par le rayonnement, I<sub>0</sub> l'intensité lumineuse incidente, I l'intensité lumineuse transmise, ε le coefficient d'extinction **moléculaire** caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée en L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, l l'épaisseur traversée en cm et C la concentration en mole par litre.

(1) Le terme de spectrométrie, initialement réservé à l'enregistrement et à la mesure, tend à devenir synonyme de spectroscopie, l'œil étant remplacé dans l'observation par d'autres récepteurs et instruments, et le domaine visible ne constituant qu'un domaine particulier d'analyse.

(2) À noter par ailleurs que la cristallographie à rayons X n'est pas considérée comme une méthode spectroscopique à proprement parler.

En mesurant l'absorbance du milieu à une longueur d'onde donnée, il est donc possible de déterminer la concentration d'une substance dans un échantillon.

Dans un **spectre d'absorption** enregistré au moyen d'un **spectromètre**, les **pics d'absorption** correspondent aux longueurs d'onde que le milieu peut absorber. De même que le spectre de la lumière solaire est obtenu en la faisant passer par un prisme qui la décompose, les spectromètres analysent la répartition spectrale de l'ensemble des rayonnements électromagnétiques en les séparant par longueur d'onde au moyen d'un réseau de diffraction par réflexion. Les spectres font apparaître des pics correspondant chacun à une longueur d'onde particulière.

Selon le type d'échantillon à analyser et le niveau de performances recherché, on utilise en laboratoire la **spectrométrie d'absorption** soit sur molécules en phase liquide ou gazeuse, soit sur vapeur atomique obtenue en décomposant thermiquement les échantillons liquides ou solides.

La spectroscopie d'absorption moléculaire dans le domaine UV-visible est simple d'emploi mais ne s'applique qu'à des échantillons peu complexes car, du fait de la largeur des **bandes d'absorption moléculaires**, les spectres d'absorption ne permettent généralement pas de distinguer spécifiquement tous les composants d'un mélange complexe.

En **spectrométrie infrarouge (IR)**, l'absorption résulte des phénomènes de vibration et rotation des molécules. Les spectres d'absorption infrarouge permettent donc de déterminer la nature des liaisons chimiques composant une molécule en accédant à la constante de rappel (comme un ressort remonte un poids) de la liaison et donc de confirmer des hypothèses structurales.

Lorsque le nombre d'atomes croît, le spectre devient rapidement complexe et l'interprétation devient très délicate, en particulier, pour les composés organiques.

La spectrométrie d'**absorption atomique** est de ce point de vue plus performante car les atomes absorbent avec des **raies d'absorption** très fines. Des mesures précises sont donc réalisables même lorsque l'échantillon est constitué d'un assemblage complexe d'éléments chimiques. L'absorption atomique est une technique de référence pour l'analyse des éléments à l'état de traces dans une très grande variété d'échantillons, notamment biologiques.

## Spectrométrie d'émission

Les atomes ou molécules portés dans un état excité peuvent se désexciter en émettant un rayonnement appelé **rayonnement d'émission**. Lorsque l'excitation résulte de l'absorption sélective, par les atomes ou les molécules à analyser, d'un rayonnement électromagnétique, il s'agit d'émission de **fluorescence** (ou de phosphorescence selon l'état d'excitation électronique mis en jeu).

Comme pour l'absorption, la fluorescence peut être appliquée dans le domaine des rayonnements UV-visible aux molécules ou aux atomes. La **spectrométrie de fluorescence X** désigne quant à elle le **rayonnement X** émis par les atomes, excités par absorption d'un rayonnement X. Les techniques de fluorescence sont plus complexes à mettre en œuvre que les techniques d'absorption car elles nécessitent que la particule à analyser soit excitée sélectivement par un rayonnement monochromatique. En revanche, comme le rayonnement émis est également spécifique de la particule, la spectrométrie de fluorescence présente une double sélectivité qui lui confère un très faible bruit de fond et la rend ainsi particulièrement bien adaptée à la mesure des très faibles concentrations.

L'émission de rayonnement peut également apparaître lorsque des atomes sont excités thermiquement dans un milieu porté à haute température. La **spectroscopie d'émission** est fondée sur le fait que les atomes ou les molécules excités à de hauts niveaux d'énergie se désexcitent vers des niveaux plus bas en émettant des radiations (émission ou luminescence). Elle se distingue de la spectrométrie de fluorescence par le fait que l'excitation n'est pas apportée de manière sélective, mais au contraire concerne indistinctement toutes les particules qui composent le milieu. Les **raies d'émission** correspondent donc à des rayonnements émis directement par un corps porté à haute température et le **spectre d'émission** permet de déceler et de quantifier tous les atomes ou les molécules présents dans la source d'émission.

## Spectrométrie de diffusion Raman

Les interactions entre la matière et les radiations électromagnétiques conduisent également à des phénomènes de diffusion comme la **diffusion élastique** et la **diffusion inélastique**. La diffusion peut avoir lieu à la rencontre d'une interface entre deux milieux ou à la traversée d'un milieu.

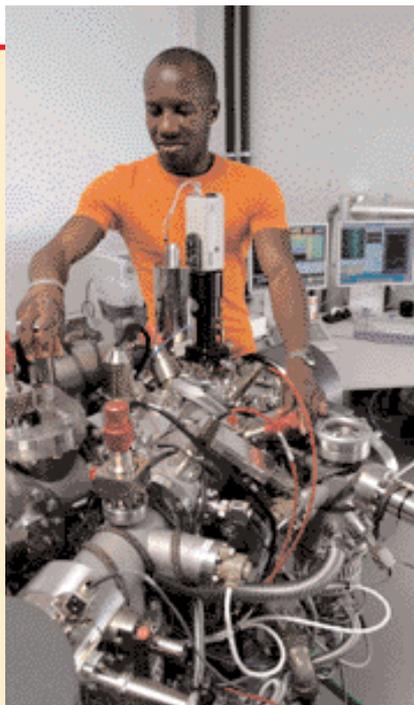
## D (suite)

Ce processus est le plus souvent "élastique", c'est-à-dire qu'il a lieu sans changement de fréquence des rayonnements composant le faisceau. La diffusion élastique du rayonnement solaire par l'atmosphère est, par exemple, responsable de la couleur bleue du ciel qui apparaît lorsque le regard n'est pas dirigé vers le soleil (*effet Tyndall*). L'intensité diffusée est, en effet, d'autant plus forte que la longueur d'onde du rayonnement est courte ce qui, dans le spectre solaire, correspond au bleu.

En spectrométrie, la principale utilisation de la diffusion concerne la *spectrométrie Raman*. Il s'agit de la diffusion inélastique d'un rayonnement incident par les molécules qui composent l'échantillon. L'écart entre la fréquence du rayonnement diffusé et la fréquence du rayonnement incident permet d'identifier les liaisons chimiques mises en jeu. La spectrométrie Raman est une technique très utilisée pour l'analyse structurale en complément de la spectrométrie infrarouge et de la spectrométrie de masse.

### Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire

Le principe de la **résonance magnétique nucléaire (RMN)** est basé sur le fait qu'un atome possède un *moment magnétique*, comme une charge qui tourne et agit comme un petit aimant, gouverné par la mécanique quantique, qui s'aligne dans un champ magnétique comme une boussole dans le champ terrestre. Le principe de la RMN consiste à induire et détecter la transition entre le moment magnétique nucléaire du niveau de plus basse énergie à celui de plus grande énergie par absorption d'un rayonnement électromagnétique dont la longueur d'onde se situe dans le domaine des radiofréquences : lorsque l'énergie du photon correspond exactement à la différence d'énergie entre les deux niveaux, il y a absorption. Les noyaux dont le nombre de **neutrons** et de **protons** sont tous les deux pairs possèdent un spin nul. Les atomes de carbone 12 et d'oxygène 16 qui sont très répandus dans la nature ont ainsi un spin nucléaire nul. Par contre, l'hydrogène ne possède qu'un seul proton et son moment magnétique nucléaire est égal à 1/2 : il a donc deux états énergétiques possibles correspondant aux deux orientations possibles du spin par rapport au champ magnétique. La mesure de la fréquence de résonance du champ électromagnétique qui permet le passage de l'un à l'autre des états d'énergie permet de faire l'analyse des molécules.



Spectromètre de masse d'ions secondaires utilisé au CEA pour réaliser des mesures isotopiques rapides sur un échantillon par exemple prélevé sur une installation aux activités nucléaires suspectes.

Cette fréquence est fixe mais les différents noyaux d'une molécule ne résonnent pas tous à la même fréquence car leur environnement magnétique est modifié par leur environnement chimique (électronique). De nombreux spectres contiennent plus de pics que la molécule ne contient de protons en raison des interactions de ceux-ci avec leurs voisins. Deux noyaux peuvent interagir au travers de la molécule, éloignés de plusieurs liaisons chimiques, c'est ce qu'on appelle le couplage entre atomes. Cette interaction donne une structure fine au spectre RMN.

### Spectrométrie de masse

La **spectrométrie de masse** est une technique de *détection* et d'*identification* extrêmement sensible qui permet de déterminer les structures moléculaires et donc la composition de l'échantillon. Il ne s'agit pas d'une spectroscopie *stricto sensu*, car elle ne fait pas appel à des niveaux d'énergie discrets. Son principe ? Un composé introduit dans l'appareil est vaporisé puis **ionisé** par une *source* de bombardement électronique (à 70 eV). L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé. Des ruptures des liaisons chimiques peuvent y former des ions fragments caractéristiques. Ceux-ci sont ensuite triés en fonction de leur rapport masse/charge dans un *analyseur* par

l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un *détecteur* qui amplifie le signal associé aux ions qui arrivent en des temps différents. Un système de traitement des données transforme les informations du détecteur en un **spectre de masse** dont la lecture, par comparaison avec des spectres références, permet d'établir la carte d'identité de la molécule. En utilisant un spectromètre de masse haute résolution, il est possible de déterminer la masse exacte du composé et les pourcentages isotopiques de chaque atome.

Le choix de la méthode d'ionisation est directement lié à la nature de l'échantillon et au type d'analyse. Si la spectrométrie de masse s'est progressivement adaptée aux exigences croissantes des chimistes et des biologistes (séparation de mélanges de plus en plus complexes et de forte polarité et détermination de masses moléculaires de plus en plus élevées sur des échantillons de plus en plus limités), c'est essentiellement grâce aux progrès des *techniques d'ionisation* dont l'émission ionique secondaire sur surface (SIMS), l'ionisation chimique, le thermospray et la source à bombardement d'atomes rapides (FAB), jusqu'à, dans les années 80, la désorption laser assistée par matrice (MALDI, pour *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation*) et l'électrospray (ESI, pour *ElectroSpray Ionisation*), ainsi qu'à ceux des *techniques de détection*, de la mesure du temps de vol (TOF) à la "trappe ionique" (IT) en passant par les quadripôles (MS ou Q). En protéomique, par exemple, seules la MALDI, l'ESI et la SELDI (*Surface Enhanced Laser Desorption/Ionisation*) sont utilisées.

La **spectrométrie de mobilité ionique IMS** (*ion mobility spectrometry*) est une technique d'analyse chimique en phase gazeuse qui consiste à soumettre un gaz à un champ électrique. Les molécules ionisées acquièrent une vitesse caractéristique de l'ion car dépendant de la masse et de la charge. L'arrivée des ions sur une des plaques produisant le champ provoque un courant qui est enregistré. Il est possible de relier le temps au bout duquel un pic se produit avec la nature de l'ion l'ayant provoqué.

Les scientifiques font souvent appel au couplage d'appareils appartenant aux deux grandes familles de techniques d'analyse (encadré E, **Qu'est-ce que la chromatographie ?**), par exemple, d'un chromatographe et d'un spectromètre de masse (ou d'un détecteur à capture d'électrons ECD), notamment pour étudier des mélanges complexes à l'état de traces.

# B Interactions fondamentales et particules élémentaires

Le **modèle standard** de la physique des particules est le cadre théorique de référence qui décrit toutes les **particules élémentaires** connues (tableau 1) et les **interactions** fondamentales auxquelles ces particules participent (tableau 2). Les constituants élémentaires de la matière, appelés **fermions**, se partagent en deux grandes catégories déterminées par leur participation aux interactions ou forces fondamentales (**gravitationnelle**, **électromagnétique**, **faible** et **forte**) par l'intermédiaire de **bosons vecteurs**, particules fondamentales qui assurent la transmission des forces de la nature<sup>(1)</sup> (tableau 2). L'appartenance d'une particule à la catégorie des fermions ou à celle des bosons est liée à son **spin** (moment angulaire ou moment de rotation interne intrinsèque), suivant qu'il est de valeur demi-entière (fermion) ou entière (**boson**). À chaque constituant de la matière est par ailleurs associée son **antiparticule**, une particule de même masse mais de charge opposée. Le **positon** est ainsi l'antiparticule de charge positive de l'**électron**, dont la charge est négative.

## Leptons et quarks

Les fermions comportent, d'une part les **leptons**, qui peuvent se déplacer librement et ne participent pas à l'**interaction forte** qui assure la cohésion des **noyaux** atomiques (elle est pour cette raison qualifiée de **nucléaire**), et d'autre part les **quarks**, qui participent à toutes les interactions mais ne sont pas observés individuellement, imbriqués qu'ils sont au sein des **hadrons**, les particules sensibles à l'interaction forte dont ils sont les constituants<sup>(2)</sup>.

Dans la catégorie des leptons, les **leptons chargés** participent à l'**interaction électromagnétique** (qui assure la cohésion des **atomes** et des **molécules**) et à l'**interaction faible** (à la base de phénomènes de désintégration et en particulier de la **radioactivité  $\beta$** ). Les **leptons neutres** ou **neutrinos**, pour leur part, ne participent qu'à l'interaction faible. De masse très réduite, il en existe un type pour chaque type de lepton chargé.

Indépendamment de leur participation aux interactions, les constituants élémentaires de la matière sont classés en trois **générations** ou **familles** de particu-

les. D'une famille à l'autre, les quarks et les leptons de mêmes charges ne diffèrent que par leurs masses, chaque famille étant plus lourde que la précédente.

L'**électron**, le quark haut (u pour *up*) et le quark bas (d pour *down*), qui appartiennent à la première génération, sont les particules massives les plus légères et sont stables. Ce sont les constituants exclusifs de la **matière ordinaire**, dite **baryonique** (un **baryon** est un assemblage de quarks) faite de **protons** et de **neutrons** qui ne représente pourtant qu'environ 4 % du contenu énergétique de l'Univers!

Les particules des deux autres familles sont plus lourdes et instables, à l'exception des neutrinos, qui ont cependant une masse non nulle mais qui sont stables. Elles ne peuvent être observées ou détectées que dans les états finals des collisions produites dans les **accélérateurs** ou dans le **rayonnement cosmique** et se désintègrent rapidement en particules stables de première génération. C'est la raison pour laquelle toute la matière stable de l'Univers est faite des constituants de la première famille.

D'après la **mécanique quantique**, pour qu'il y ait une interaction entre particules de matière ordinaire, il faut qu'au moins une particule élémentaire (un boson) soit émise, absorbée ou échangée. Le **photon** est le boson **intermédiaire** (ou **vecteur**) de l'interaction électromagnétique, les  **$W^+$** ,  **$W^-$**  et  **$Z$**  sont les bosons intermédiaires de l'interaction faible, et les **gluons** sont ceux de l'interaction forte au niveau des quarks. Quant au **graviton**, vecteur supposé de l'interaction gravitationnelle, il n'a pas été découvert expérimentalement. La **force gravitationnelle**, qui s'exerce sur tous les fermions proportionnellement à leur masse, n'est pas incluse dans le modèle standard, d'autant que la théorie des champs quantiques appliquée à la gravitation n'est pas viable en l'état. Si les effets gravitationnels sont négligeables dans les mesures de physique des particules, ils deviennent dominants aux échelles astronomiques.

## La portée des interactions

Les quarks et les leptons chargés échangent des photons. Le photon ayant une charge électrique nulle, ces particules conservent leur charge électrique après

l'échange. Comme la masse du photon est nulle, la portée de l'interaction électromagnétique est infinie. Dépourvus de charge électrique, les neutrinos sont les seuls fermions élémentaires à ne pas être sensibles à l'interaction électromagnétique.

Dans la théorie électrofaible (unification des interactions faible et électromagnétique), l'interaction faible présente deux aspects : l'**interaction faible par courants chargés**, où les vecteurs de l'interaction sont  **$W^+$**  et  **$W^-$** , et l'**interaction faible par courant neutre** où le médiateur de l'interaction est  **$Z^0$** . Ces deux formes de l'interaction faible agissent entre tous les fermions élémentaires (quarks, leptons chargés et neutrinos). La masse de ces bosons étant très élevée (environ 80 GeV/c<sup>2</sup> pour  **$W^\pm$**  et 91 GeV/c<sup>2</sup> pour  **$Z^0$** ), la portée de l'interaction faible est donc infime, de l'ordre de 10<sup>-18</sup> m. Les bosons  **$W^\pm$**  possédant une charge électrique non nulle, les fermions qui les échangent changent de charge électrique et également de nature (saveur). En revanche, le boson  **$Z^0$**  étant dépourvu de charge électrique, les fermions ne changeront pas de nature. En fait, l'interaction faible par courant neutre est assez similaire à l'échange d'un photon. En règle générale, si deux fermions peuvent échanger un photon, ils sont capables aussi d'échanger un  **$Z^0$** . De son côté, un neutrino a la faculté d'échanger un  **$Z^0$**  avec une autre particule, mais pas un photon.

Seuls les quarks qui possèdent une charge de couleur<sup>(1)</sup> échangent des gluons, lesquels portent eux-mêmes

(1) La participation des constituants élémentaires aux interactions fondamentales est conditionnée par leurs charges d'interaction (charge électrique, charge de couleur) ou "nombres quantiques conservés". La charge de couleur, nombre quantique qui détermine la participation aux interactions fortes, peut prendre trois valeurs : "rouge", "verte" ou "bleue" (ces couleurs n'ayant rien à voir avec les couleurs visibles). Chaque quark porte l'une des trois charges de couleur et chaque antiquark l'une des trois charges d'anticouleur. Les gluons sont dotés de charges doubles couleur-anticouleur (huit combinaisons possibles).

(2) Exemple des **nucléons** : le proton contient deux quarks haut et un quark bas, le neutron deux quarks bas et un quark haut. Un **méson** n'est composé que de deux quarks (un quark et un antiquark).

# B (suite)

une charge de couleur. Ainsi, lors d'un échange de gluons entre quarks, ces derniers échangent leurs couleurs respectives. La masse des gluons est nulle, mais puisqu'ils sont dotés d'une charge

de couleur, ils peuvent interagir entre eux, ce qui complique grandement le traitement théorique de cette interaction. La portée de l'interaction forte est donc très courte, de l'ordre de  $10^{-15}$  m.

## La quête de l'unification

Le cadre théorique du modèle standard est la **théorie quantique des champs** qui permet de décrire quantitativement les interactions fondamentales des parti-

		leptons peuvent se déplacer librement		quarks s'assemblent en triplets ou en paires quark-antiquark pour former les nombreuses particules subatomiques	
<b>Fermions</b> La matière ordinaire est composée de particules de ce groupe.	<b>première famille</b>	<b>électron (e)</b> responsable de l'électricité et des réactions chimiques sa charge est -1 masse : 0,511 MeV/c <sup>2</sup>	<b>neutrino électronique (ν<sub>e</sub>)</b> sans charge électrique et interagissant très rarement avec le milieu environnant	<b>bas (d)</b> sa charge électrique est -1/3 le proton en contient un, le neutron deux masse : 4 - 8 MeV/c <sup>2</sup>	<b>haut (u)</b> sa charge électrique est +2/3 le proton en contient deux, le neutron un masse : 1,5 - 4 MeV/c <sup>2</sup>
	<b>deuxième famille</b> Pour la plupart, ces particules étaient présentes juste après le Big Bang. Aujourd'hui, on ne les trouve que dans les rayons cosmiques et auprès des accélérateurs.	<b>muon (μ)</b> un compagnon plus massif de l'électron masse : 105,658 MeV/c <sup>2</sup>	<b>neutrino muonique (ν<sub>μ</sub>)</b> propriétés similaires à celles du neutrino électronique	<b>étrange (s)</b> un compagnon plus lourd du "bas" masse : 80 - 130 MeV/c <sup>2</sup>	<b>charmé (c)</b> un compagnon plus lourd du "haut" masse : 1,15 - 1,35 GeV/c <sup>2</sup>
	<b>troisième famille</b>	<b>tau (τ)</b> encore plus lourd masse : 1776,99 ± 0,29 MeV/c <sup>2</sup>	<b>neutrino tauique (ν<sub>τ</sub>)</b> propriétés similaires à celles du neutrino électronique	<b>beauté (b)</b> encore plus lourd masse : 4,1 - 4,4 GeV/c <sup>2</sup>	<b>top (t)</b> le plus lourd de la famille (observé en 1995) masse : 171,4 ± 2,1 GeV/c <sup>2</sup>
<b>Bosons vecteurs</b> Particules fondamentales qui assurent la transmission des forces de la nature.	<b>photon</b> grain élémentaire de la lumière, porteur de la force électromagnétique	<b>gluon</b> porteur de la force forte entre quarks	<b>W<sup>±</sup>, Z<sup>0</sup></b> porteurs de la force faible, responsables de certaines formes de désintégration radioactive		
<b>Boson de Higgs?</b>		responsable de la "brisure de symétrie électrofaible"			

Tableau 1.

Table des douze constituants élémentaires de matière dont le modèle standard décrit les interactions. Les trois leptons chargés (électron, e<sup>-</sup>, muon, μ<sup>-</sup>, tau, τ<sup>-</sup>) sont sensibles aux interactions électromagnétique et faible, les neutrinos (ν<sub>e</sub>, ν<sub>μ</sub>, ν<sub>τ</sub>) ne sont sensibles qu'à l'interaction faible et les six quarks (up, charm et top - ou u, c, t - de charge 2/3 et down, strange, bottom - ou d, s, b - de charge -1/3) sont sensibles aux trois interactions. Chaque constituant élémentaire possède son antiparticule, de même masse et de nombres quantiques algébriques (comme la charge électrique) de signe inversé.

## B (suite)

cules élémentaires en respectant les principes de la *relativité restreinte* et ceux de la mécanique quantique. D'après cette dernière, pour observer une structure microscopique à haute résolution temporelle et spatiale, il est nécessaire de lui transférer une énergie-impulsion d'autant plus élevée que la résolution souhaitée est fine. Mais d'après la théorie de la relativité, ce transfert d'énergie-impulsion peut se transformer en apparition de particules qui n'étaient pas présentes dans l'état initial : les fermions peuvent être produits ou annihilés par paires particule/antiparticule, les bosons peuvent l'être en nombre arbitraire.

Tous les processus relevant d'une même interaction fondamentale sont reliés les uns aux autres. La démarche de la théorie quantique des champs, dans laquelle les propriétés de **symétrie** jouent un rôle fondamental, vise à décrire l'ensemble des processus relatifs à chaque interaction fondamentale au sein de grandes synthèses théoriques.

L'interaction forte et l'interaction électromagnétique sont respectivement formalisées dans les théories de la **chromodynamique quantique** et de l'**électrodynamique quantique**. L'interaction faible, quant à elle, n'est pas décrite isolément, mais en conjonction avec l'interaction électromagnétique dans le formalisme unifié de la **théorie électrofaible**. Des théories de grande *unification* de toutes les interactions fondamentales existent, mais n'ont pas encore reçu de validation expérimentale.

Toutes les prédictions du modèle standard ont été confirmées par l'expérience, à l'exception jusqu'à présent d'une seule, l'existence du (des ?) **boson(s) de Higgs**, particule(s) que l'on espère bien découvrir au LHC. Le **mécanisme de Higgs** serait responsable de la masse des particules élémentaires, le boson éponyme permettant de donner une masse aux fermions de masse nulle interagissant avec lui. Il permettrait l'unification, à haute énergie, des interactions électromagnétique et faible au sein de la théorie électrofaible et expliquerait efficacement la **brisure de cette symétrie électrofaible** à basse énergie, qui se traduit par deux interactions qu'on peut distinguer à ce niveau d'énergie (voir

*L'interaction électrofaible d'un accélérateur à l'autre : la feuille de route du LHC à l'aune des mesures du LEP, p.23*).

### Dépasser ou compléter le modèle standard ?

Le modèle standard comporte une série de paramètres (tels que les masses des particules ou les intensités des forces fondamentales) qui sont "calés" sur les résultats expérimentaux. C'est, en tout état de cause, une théorie susceptible d'être améliorée ou approfondie, voire dépassée. Il ne fournit pas d'explication à la classification des constituants de la matière en trois générations de particules, alors que c'est précisément l'existence de ces trois générations qui permet de rendre compte de la **violation de l'invariance CP** charge/parité (qui fait qu'un processus physique impliquant l'interaction faible n'est pas équivalent à son image dans un miroir), violation qui est vraisemblablement à l'origine du déséquilibre matière/**antimatière** au profit de la première dans l'univers primordial. Il ne permet ni le traitement quantique de la gravitation ni ne fournit d'explication complète à la propriété fondamentale du **confinement** qui interdit aux quarks de se propager à l'état libre hors des hadrons.

Pour dépasser ou compléter le modèle standard, les chercheurs explorent principalement deux voies :

– la **supersymétrie** (communément

appelée SUSY) associerait à chaque particule (boson ou fermion) du modèle standard un partenaire, respectivement fermion ou boson. Ces partenaires seraient *a priori* très massifs, le plus léger d'entre eux serait une particule n'interagissant que très faiblement. Elle serait un candidat idéal pour expliquer la **masse cachée** (ou **matière noire**) de l'Univers qui représente quelque 21 % du contenu énergétique de l'univers, le reste (près de 75 %) étant constitué d'une **énergie noire** dont la nature reste également à déterminer. Ces WIMPs (acronyme anglais de Weakly Interacting Massive Particles) sont activement recherchés (voir *Edelweiss II, à la recherche des particules de matière noire*).

– la voie de la **sous-structure** présume qu'il existerait un nouveau niveau d'élémentarité sous-jacent aux particules du modèle standard (ou à certaines d'entre elles). Elle déboucherait sur toute une floraison de nouvelles particules composites, analogues aux hadrons, mais de masses deux à trois mille fois plus élevées.

À noter que si les théories supersymétriques donnent des prédictions en accord avec les mesures de précision faites au LEP, les théories qui proposent des sous-structures (du moins leurs versions les plus simples) n'y parviennent pas. Quant aux versions les plus complexes, elles rencontrent des problèmes au niveau théorique.

interaction fondamentale	particules associées (messagers)	actions
gravitation	graviton ?	de portée infinie, elle est responsable de la force d'attraction de deux masses entre elles et de la chute des corps
interaction électromagnétique	photon	de portée infinie, elle est responsable de l'attraction entre électrons et noyaux atomiques, et donc de la cohésion des atomes et des molécules
interaction faible	$W^+$ , $W^-$ , $Z^0$	elle est responsable des radioactivités $\beta^-$ et $\beta^+$ et de réactions impliquant des particules comme le neutrino
interaction forte	gluons (il en existe 8)	elle assure la cohésion du noyau atomique

Tableau 2. Les interactions fondamentales, leurs vecteurs et leurs effets.

# E Qu'est-ce que la chromatographie ?

La chromatographie et les différentes formes de spectroscopie et de spectrométrie (encadré D, *Spectroscopie et spectrométrie*) constituent les deux grandes techniques de base d'analyse, l'une séparative, l'autre *identificatrice* des composants d'un corps.

La **chromatographie** (du grec *chrôma*, couleur et *graphein*, écrire) permet la *séparation* des constituants d'un mélange en phase homogène liquide ou gazeuse, comme un buvard réparti en auréoles concentriques un liquide répandu à sa surface. Un chromatographe est constitué d'un dispositif d'injection de l'échantillon, d'une colonne, d'un détecteur et d'un système d'enregistrement et d'analyse. Son principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés entre deux phases en contact : la *phase stationnaire*, dans la colonne, et la *phase mobile*, qui se déplace. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants dans la colonne, qu'ils parcourent en des temps proportionnels à leur taille ou leur structure, ou selon leur affinité avec la phase stationnaire (polarité...). À leur arrivée en bout de colonne, un *détecteur* mesure en continu la quantité de chacun.

La chromatographie la plus courante se fait en **phase gazeuse** sur des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition. La phase mobile est un gaz (**hélium**, azote, argon ou **hydrogène**) qui balaie en permanence la colonne placée dans un four à thermostat. Les détecteurs permettent l'analyse sélective et l'identification de mélanges très complexes.

Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil possédant des propriétés de solvant des composés à séparer, il s'agit de **chromatographie gaz-liquide** ou *chromatographie de partage*.

Si la phase stationnaire est un solide adsorbant (silice, alumine, zéolites ou **polymères**), c'est de la **chromatographie gaz-solide**. Dans cette même famille des chromatographies d'**adsorption**, la **chromatographie liquide-solide** se caractérise par sa phase stationnaire qui est un adsorbant solide polaire.

Dans la **chromatographie liquide haute performance (CLHP)**, l'échantillon doit être totalement soluble dans la phase mobile (solvant d'élué). Celui-ci doit être poussé à haute pression (d'où la dénomination alternative de chromatographie liquide *haute pression*) afin d'assurer un débit constant dans la colonne et éviter toute perte de charge. La CLHP fait intervenir des mécanismes d'échange soluté/phase mobile/phase stationnaire, basés sur les coefficients de partage ou d'adsorption selon la nature des phases en présence <sup>(1)</sup>.

Une analyse chromatographique donne un **chromatogramme**, représentation graphique de l'évolution d'un paramètre (intensité du signal du détecteur) lié à la concentration instantanée du soluté en fonction du temps. Il fait apparaître des *pics* émergeant de la *ligne de base*, obtenue en l'absence de composés (figure).

(1) Il existe deux autres types de chromatographie liquide, *ionique* et *d'exclusion*.

N.B. Cet encadré reprend certains passages d'un texte de Pascale Richardin, responsable du groupe Datation au Centre de recherche et de restauration des Musées de France, extrait des pages sur les méthodes d'analyse du site <http://www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/biblioth/biblioth.htm>.

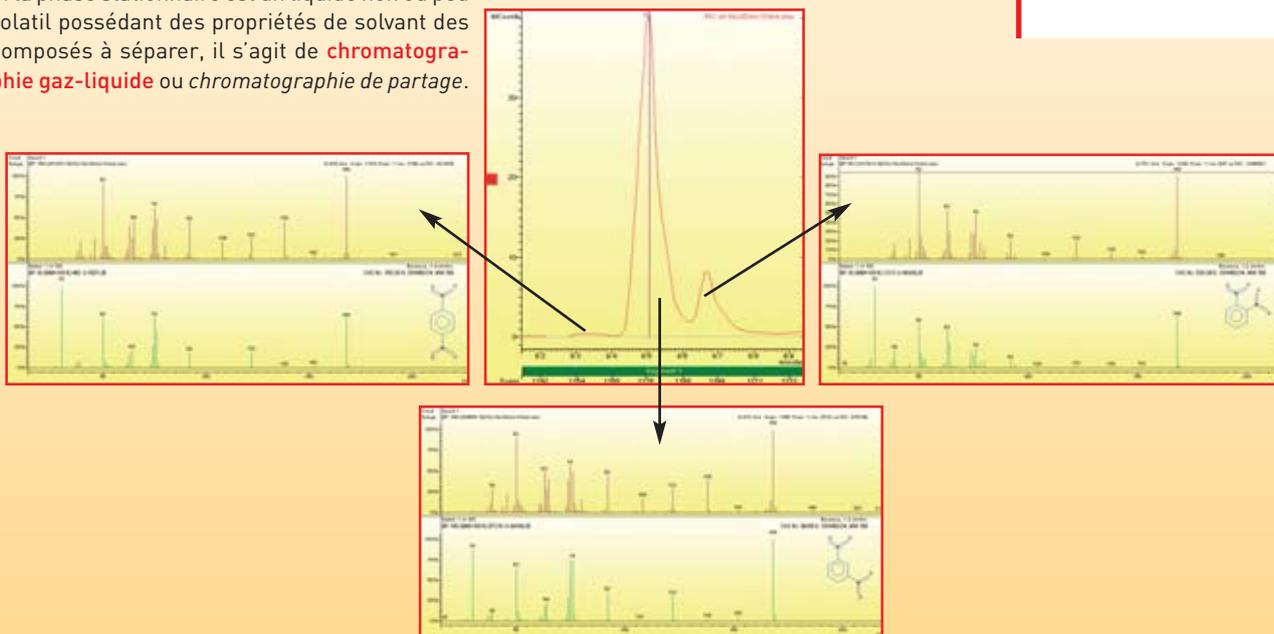


Figure.

Exemple d'utilisation combinée de la spectrométrie de masse et de la chromatographie : séparation des isomères ("molécules sœurs") d'une molécule explosive (le dinitrobenzène DNB) après prélèvements par micro-extraction en phase solide par chromatographie en phase gazeuse et détection par spectrométrie de masse (SPME-GC-MS).