Mensuel
numéro
10
Octobre 2003

l'actualité chimique

2003 : Liebig et l'année de la chimie en Allemagne

20 ans de sécurité dans les laboratoires

Les huiles moteur

Biomimétisme et matériaux (suite)

sfc
société française de chimie

Édité par la Société Française de Chimie - ISSN 0151 9093

Depuis 1988

Les Editions D'Ile de France

PUBLICATION
RÉGIE PUBLICITAIRE
EDITION
IMPRESSION

Expérience, la différence

Notre société est spécialisée dans l'édition d'annuaires et de revues professionnelles pour sociétés savantes, associations d'anciens élèves d'écoles d'ingénieurs, fédérations professionnelles,....
Notre présence depuis près de 15 ans dans un secteur d'activités en mutation permanente, la transparence de nos résultats régulièrement positifs depuis la création de notre société, la fidélité de nos partenaires éditoriaux sont autant de preuves du professionnalisme de notre équipe et constituent de fait notre meilleure « carte de visite ».

Notre atout majeur, et c'est aussi notre spécialité, est de vous garantir la gratuité de vos ouvrages papiers en contrepartie de l'exclusivité de la régie publicitaire entièrement assurée par notre service commercial.

Régisseur exclusif
de la Revue
L'ACTUALITE CHIMIQUE

www.edif.fr

Editions D'Ile de France

102, avenue Georges Clémenceau • 94700 Maisons-Alfort
Tél. : 33 1 43 53 64 00 • Fax : 33 1 43 53 48 00
e-mail : edition@edif.fr

l'actualité chimique

RÉDACTION
Rédacteur en chef : Bernard Sillion
Rédactrice en chef adjointe : Séverine Bléneau-Serdel
Secrétaire de rédaction, maquettiste, webmaster : Évelyne Girard
Secrétaire de rédaction, activités de la SFC, manifestations : Roselyne Messal
Chargés de rubrique : Marika Blondel-Mégrelis (Histoire de la chimie), Yves Dubosc (Livres et médias, Manifestations), Véronique Nardello-Rataj (Comment ça marche ?), Gilbert Schorsch (Industrie), Pierre Vermeulin (Chimie francophone)
Comité de rédaction : P. Aldebert (CNRS), P. Arpino (div. Chim. anal.), A. Audibert-Hayet (IFP), B. Badet (ICSN), X. Bataille (Histoire des sciences), M. Blanchard-Desce (div. Chim. orga.), M. Blondel-Mégrelis (club Histoire), E. Bordes-Richard (div. Cat.), J. Buendia (SCI), M. Carrega (div. Matér. polym.), G. Chambaud (div. Éducation), N. Cheymol (CPGE), J.-C. Daniel (groupe Formulation, GFP), R.-E. Eastes (ENS), E. Florentin (ENS), J.-P. Foulon (UDP), J. Fournier (club Histoire), Y.-A. Gauduel (div. Chim. phys.), G. Gros (chimie des procédés), J.-F. Lambert (div. Cat.), V. Nardello-Rataj (groupe Formulation), P. Pichat (ADT), A. Picot (Prévention des risques chimiques), P. Rigny (exp. scient.), D. Rutledge (div. Chim. anal.), G. Schorsch (SFC), F. Secheresse (div. Chim. coord.), H. This (INRA-Collège de France), M. Verdaguer (UPMC), P. Vermeulin (CNRS), C. Viel, D. Vivien (div. Chim. solide)
Journaliste stagiaire : Colin Droniou
Publication analysée ou indexée par : Chemical Abstracts, la base de données PASCAL

ÉDITION
Société Française de Chimie
250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 61
E-mail : ac@sfc.fr - http://www.sfc.fr
Directeur de la publication : François Mathey, président de la Société Française de Chimie
Imprimerie : SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy
Maquettage articles : e-Press, Casablanca Technopark, Route de Nouaceur, Casablanca (Maroc)
ISSN 0151 9093

PUBLICITÉ
EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort
Tél. : 01 43 53 64 03 - Fax : 01 43 53 48 00
Chef de publicité : Albert Edery
edition@edif.fr
www.edif.fr

© SFC 2003 - Tous droits réservés
Dépôt légal : octobre 2003

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, fait sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal. La loi du 11 mars 1957 n'autorise, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'articles 41, que les copies et les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective d'une part, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration.

TARIFS 2003 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE
(11 numéros par an)
Particuliers : France 85 € - Étranger 90 €
Institutions : France 183 € - Étranger 195 €
Membres de la SFC :
abonnement inclus dans la cotisation
Abonnement : SFC, Nadine Colliot
250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61
adhesion@sfc.fr
Prix de vente au numéro : 18 € (port inclus)

sfc société française de chimie

Editorial 2

La Vieille Dame et l'industrie chimique, par **B. Sillion** 2

Comment ça marche ? 3

Les lubrifiants pour automobiles : pour le bon fonctionnement et la longévité des moteurs, par **B. Sillion**

Matériaux et biologie 10

2e partie

Galerne, 25 ans déjà !, par **J. Livage** 10

Étude de mécanismes de biominéralisation. Rôle des protéines et des polymères adsorbés ou en solution dans la nucléation et la croissance cristalline de matériaux inorganiques d'intérêt biologique, par **V. Ball** et **J.-C. Voegel** 11

Études de bio-géomatériaux sous conditions extrêmes, par **F. Guyot** 27

Industrie 35

L'année de la chimie en Allemagne. Les politiques au secours de l'industrie chimique européenne, par **G. Schorsch** 35

MSD La Vallée : une usine de chimie fine en plein cœur de l'Auvergne, par **S. Bléneau-Serdel** 39

Enseignement 41

Les travaux pratiques

De l'analyse de terrain à l'analyse en laboratoire : application à l'analyse d'hydrocarbures dans un échantillon d'eau, par **M.-C. Morel-Fourcade**, **C. David** et **C. Pernelle** 41

Hygiène et sécurité 46

Évolution des pratiques hygiène et sécurité dans les laboratoires de chimie (1982-2002), par **F. Kotzyba-Hibert** 46

Histoire de la chimie 50

Justus Liebig (1803-1873) : tout est chimie, par **M. Blondel-Mégrelis** 50

La genèse d'une découverte. Une lettre inédite de Pasteur à Chevreul (1874), par **J. Fournier** 60

Manifestations 62

Hommage 63

Courrier des lecteurs 64

Index des annonceurs

CNAM-IHIE	*p. 45*	*EDP Sciences*	*IIIe de couv.*
CRT Plasma Laser	*p. 38*	*Forum LABO 2004*	*IVe de couv.*
EDIF	*IIe de couv.*	*Interchimie 2004*	*p. 61*

La Vieille Dame et l'industrie chimique

Deux articles de ce numéro se rapportent à des événements qui se sont déroulés cette année, décrétée « année de la chimie » en Allemagne. Ces événements sont la célébration du bicentenaire de la naissance de Justus Liebig, le symposium international Wacker (à l'occasion du centenaire de cette société) et l'assemblée annuelle du CEFIC. On mesure l'importance du rôle joué par la société de chimie allemande (GDCh) dans l'organisation de cette « année de la chimie » et de ces manifestations, mais surtout, on perçoit la force des liens, dans la chimie allemande, entre son industrie et sa société savante.

Il ne semble pas que cela soit le cas pour la chimie française. Si l'on examine pour l'année 2002 la part des adhésions « industrielles » parmi les membres de la SFC, on remarque qu'il n'y a que 480 personnes physiques et 6 sociétés. Les indicateurs pour 2003 montrent, hélas, que la situation ne s'améliore pas, et l'on déplore même le retrait d'un groupe français comme personne morale et des 36 personnes physiques y appartenant. On ne peut croire que seules des difficultés financières expliquent le désintérêt de l'industrie pour la SFC, alors que les sommes mises en jeu disparaissent très loin derrière la virgule du montant des charges dans un compte d'exploitation. Les causes sont sans doute à rechercher ailleurs. Quelques questions tout d'abord : combien y a-t-il de cadres industriels présidents de divisions ou présidents de sections locales ? Combien y a-t-il de cadres dirigeants de l'industrie en activité au Conseil d'administration ? Si l'on excepte le bureau de la SFC où l'on trouve deux personnes ayant exercé des postes de responsabilité dans l'industrie, l'association est très largement dominée par le monde universitaire. Dès lors, comment l'industrie pourrait-elle s'intéresser à un groupe dont elle ne peut orienter les activités ? Mais pourquoi, chers collègues industriels, ne cherchez-vous pas à être plus présents, à l'image de ce que font vos collègues allemands ?

La Société Française de Chimie est une Vieille Dame de près de 150 ans ; on lui baise respectueusement la main, on la courtise habilement car elle peut dispenser des faveurs recherchées, mais ses charmes sont intacts, elle favorise des rencontres entre toutes les disciplines scientifiques et croyez bien que la recherche appliquée ne la laisse pas indifférente, n'accueille-t-elle pas maintenant, avec bienveillance (ô certes avec une sage lenteur et bien des précautions), des divisions pluridisciplinaires ? De plus, n'est-ce pas là le lieu où vous pouvez retrouver ceux qui forment vos cadres et techniciens ! Alors, chers collègues industriels, ne serait-il pas opportun de profiter de ces bonnes dispositions pour regrouper toutes ces petites sociétés, que vous soutenez peu ou prou, qui viennent en aval de la recherche en chimie mais se nourrissent d'elle, afin de faire enfin une grande société de chimie dans laquelle vous traiteriez de pair à compagnon avec les collègues universitaires ? La Vieille Dame est accueillante, elle fait partie de notre patrimoine commun, et si vous l'aidez à contourner les obstacles (ce que doit faire toute personne bien élevée à l'égard des personnes âgées), elle pourra s'asseoir en bonne place avec ses collègues européennes, elle vous en sera reconnaissante ; mais surtout, l'image de la chimie française en tirera bénéfice. Puisse la Conférence Pasteur être l'étape de cette construction.

Bernard Sillion
Rédacteur en chef

Les lubrifiants pour automobiles

Pour le bon fonctionnement et la longévité des moteurs

Bernard Sillion

Abstract **Automotive lubricants**
The consumption of automotive lubricants in France was 450 000 tons in 2002. These lubricants are obtained by blending a petroleum base (80%) with a package of different additives (20%). The feature of the mineral base is its rheological behaviour: pour point, viscosity and viscosity index (VI) which is an empirical number characterizing the temperature dependence of the viscosity. The additive package improves the oxidation stability, the rheological behaviour (pour point and VI), maintains the motor cleanliness and ensures corrosion and wear protection. The greatest incentive for improving the lubricant performances is the increasing time between the oil changes.

Mots-clés **Lubrifiants, automobile, additifs, formulation.**
Key-words **Automotive lubricants, additives, formulation.**

Introduction [1]

En 2001, la France a consommé 17,3 millions de m^3 d'essence, 35 millions de m^3 de gazole et 450 000 tonnes de lubrifiants pour son parc de véhicules automobiles et utilitaires.
Depuis le développement de la traction automobile, motoristes et spécialistes de la lubrification ne cessent d'innover pour améliorer le rendement des moteurs : augmenter la puissance en réduisant la consommation.
On sait que dans un moteur conventionnel, le mouvement linéaire des pistons est transformé en mouvement circulaire à l'aide du vilebrequin. Les assemblages sont réalisés avec un jeu optimal et fonctionnent dans un environnement de lubrifiant qui est distribué au niveau des coussinets. Pour un bon fonctionnement, le lubrifiant doit former un film d'huile continu entre les pièces en mouvement. Pour suivre l'évolution de ce film d'huile, on s'intéresse à la variation du coefficient de frottement (F) par rapport à une grandeur, S (nombre de Sommerfeld), prenant en compte le produit de la vitesse de rotation de l'arbre (N) par la viscosité de l'huile (η) divisé par la pression diamétrale du palier :

$$S = \eta.N / p(r/j)^2$$

Dans cette expression, on voit apparaître des caractéristiques spécifiques du palier : son rayon (r) et le jeu radial (j).
Cette variation représentée par le diagramme de Stribeck [2] (*figure 1*) montre trois zones. La première, descendante, part du domaine dans lequel il y a contact direct entre les pièces en mouvement ; c'est une zone de lubrification solide qui peut entraîner le grippage. Dans la seconde, l'épaisseur du film d'huile est de même dimension que les rugosités des métaux et il y a encore quelques contacts métal/métal ; c'est le domaine du graissage limite. La troisième zone commence lorsque les surfaces métalliques sont totalement séparées par la formation du film ; c'est le régime hydrodynamique pour lequel l'épaisseur du film est deux fois supérieure aux rugosités du palier. On voit que pour une pression donnée sur le palier, la formation du film dépend de la viscosité de l'huile et de la vitesse de rotation. On remarque sur la courbe de Stribeck que le coefficient de frottement peut être abaissé dans la zone de lubrification solide par l'introduction dans l'huile d'additifs qui seront discutés plus loin.
La viscosité de l'huile joue un rôle important pour le contrôle du régime hydrodynamique et pour l'alimentation des coussinets. En effet, l'huile est distribuée par une pompe et son débit Q est fixé par l'équation de Poiseuille :

$$Q = \Pi.\Delta p.R^4/8\eta.L$$

où R et L sont les rayon et longueur de la canalisation, p, la différence de pression entre entrée et sortie de la canalisation et η, la viscosité de l'huile.
On aura donc tendance à rechercher une huile peu visqueuse pour les démarrages à froid. Mais lorsque la

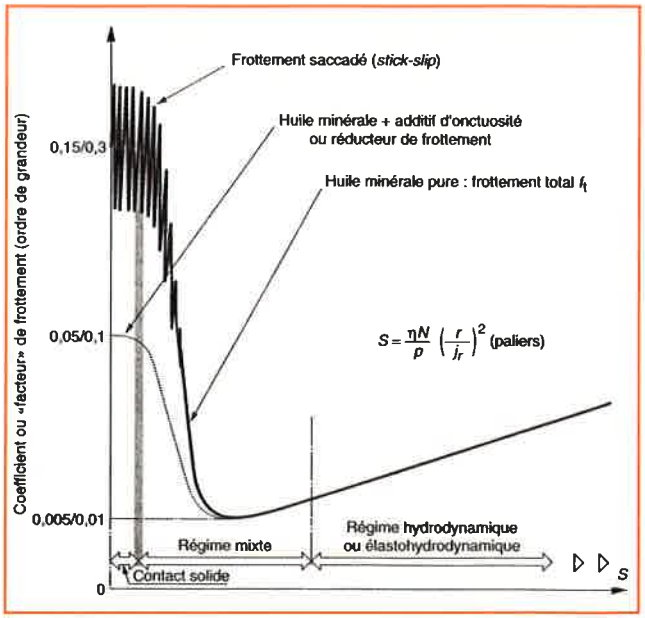


Figure 1 - Diagramme de Stribeck [2].

température s'élève, d'une part, la viscosité diminue, le film devient fragile, et, d'autre part, une partie de l'huile sera perdue par passage dans les cylindres et combustion. Dans le passé, on réglait ce problème par changement de l'huile au moment des changements de saisons. Depuis, on a mis au point des huiles dites multigrades qui travaillent dans un large intervalle de températures grâce à des additifs polymères.
Si la viscosité et les propriétés d'écoulement de l'huile sont des paramètres fondamentaux, il faut aussi prendre en compte la stabilité chimique dans les conditions de fonctionnement. Un moteur est un excellent réacteur d'oxydation, grâce à une température élevée, la présence d'air, une excellente agitation et la présence de métaux catalyseurs d'oxydation. Les résultats de cette oxydation se manifestent par la formation d'acides organiques très corrosifs et de polymères qui restent en suspension puis se déposent sous forme de vernis sur les parois. L'oxydation doit donc être retardée au maximum et ses conséquences combattues par les additifs.
En résumé, un lubrifiant est constitué d'une huile de base (80-85 %) qui fixe la viscosité de base et d'additifs (15-20 %) qui améliorent les propriétés d'usage et assurent la durabilité.

Bref historique de l'évolution des huiles pour moteurs

Durant la deuxième guerre mondiale, la campagne de Russie en hiver a fait prendre conscience aux armées allemandes de l'importance de la viscosité à basse température, et il est apparu que les huiles riches en paraffines ne permettaient pas les démarrages par grands froids.
Cependant, les deux évolutions les plus marquantes depuis 50-60 ans ont été tout d'abord le développement des huiles détergentes qui permettent d'éviter l'encrassement par les produits d'oxydation de l'huile et, bien sûr dans les années 50, la mise sur le marché des huiles multigrades qui évitent aux utilisateurs les changements d'huile lors des variations de températures saisonnières.

Les enjeux économiques et les différents acteurs (données 2002) [1]

Le commerce extérieur des lubrifiants et additifs (tous lubrifiants et additifs confondus) a présenté en 2002 un excédent de 1,2 milliards d'euros.

Les huiles de base

Les raffineries françaises ont produit 1 743 252 tonnes d'huiles de base dont :
- 665 900 t pour la fabrication des lubrifiants (tous usages confondus dont les lubrifiants pour automobiles),
- 188 500 t pour la fabrication et la formulation des additifs,
- 887 900 t pour l'exportation.

A côté de ces chiffres, on constate que la production d'huile régénérée à partir d'huiles usagées n'est que de 36 849 t.

Les lubrifiants pour automobiles

La consommation française a été de **450 000 t** en 2002 (en baisse de 1 % par rapport à 2001). Cela correspond à 53,6 % de la consommation totale des lubrifiants en France. Il est intéressant de noter que la consommation moyenne de 1,34 L/1 000 km pour les véhicules utilitaires a baissé de 53 % par rapport à 1990. Cette consommation n'est que de 0,56 L/1 000 km pour les véhicules particuliers, ce qui correspond à une baisse de 28 % par rapport à 1990.
Il ne faudrait cependant pas attribuer cette évolution aux seuls progrès de la formulation car la conception des moteurs a considérablement évolué depuis 1990.

Le marché français des additifs de lubrification

En 2002, la consommation des additifs pour huiles de moteurs était de l'ordre de 90 200 t pour un marché total d'additifs de lubrification de 129 969 t comprenant les additifs pour moteurs 2 temps, pour huiles industrielles, pour transmissions, pour le travail des métaux etc.

Les acteurs

En ce qui concerne les huiles de base, la capacité de production française est de 2 110 000 t sur 5 sites : Exxon Mobil (Dunkerque) 330 000 t ; Exxon Mobil (Port Jérôme) 500 000 t ; Exxon Mobil (Notre Dame de Gravenchon) 400 000 t ; Shell (Petit Couronne) 360 000 t et Total (Gonfreville) 520 000 t.
Pour les fabricants et importateurs d'additifs, 11 sociétés couvrent le domaine en France : Total (Atofina) ; PCAS ; Brentag spécialités ; Chevron Chemical - Oronite ; CIBA Specialty Chemicals ; Ethyl France ; Infineum France ; Lavolée Chimie ; Lehvoss France ; Lubrizol France ; Rhomax France.

Les lubrifiants pour automobiles et leurs additifs

L'huile de base, préparation et caractérisation [3]

Les opérations de raffinage produisent la quasi-totalité des bases lubrifiantes dites « bases minérales » qui sont des mélanges complexes d'hydrocarbures paraffiniques naphténiques (cycloparaffines) et aromatiques. Très grossièrement, le schéma de raffinage (*figure 2*) est basé sur une distillation atmosphérique qui permet de recueillir dans l'ordre de points d'ébullition croissants les gaz, les essences, le kérosène et les gazoles. Le résidu de distillation atmosphérique est distillé sous vide, une partie des distillats retourne vers les gazoles. Le résidu de distillation est soumis à un traitement qui

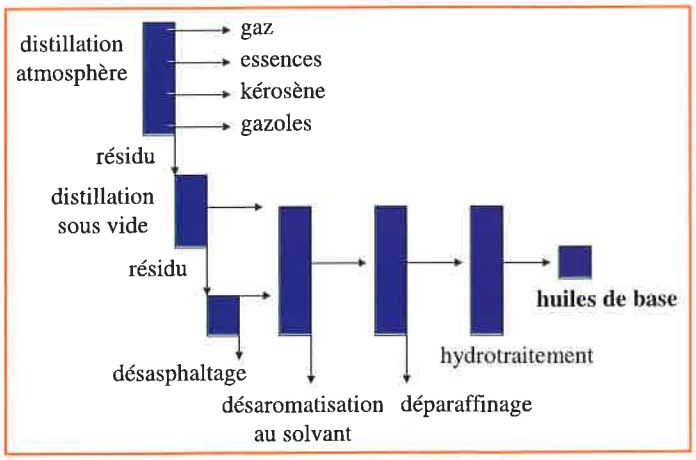


Figure 2 - Schéma de raffinage des huiles.

Tableau I - **Classification SAE J 300 des lubrifiants pour automobiles.**

Grade SAE	Viscosité à la température (°C) en cP ou mPa.s^{-1} ASTM D2602	Température limite de pompage (°C) ASTM D3829 (max.)	Température limite de pompage (°C) ASTM D468 (max.)	Viscosité à 100 °C en cSt ou mm^2.s^{-1} ASTM D445 (min.)	Viscosité à 100 °C en cSt ou mm^2.s^{-1} ASTM D445 (max.)
0W	3 250 à - 30	- 35	--	3,8	--
5W	3 500 à - 25	--	- 30	3,8	--
10W	3 500 à - 20	--	- 25	4,1	--
15W	3 500 à - 15	--	- 20	5,8	--
20W	4 500 à - 10	-15	--	5,6	--
25W	6 000 à - 5	-10	--	9,3	--
20	--	--	--	5,6	≤ 8,3
30				9,3	≤ 12,5
40				12,5	≤ 16,3
50				16,3	≤ 21,9
60				21,9	≤ 26,1

consiste à faire précipiter les asphaltes. Les distillats lourds et le résidu désasphalté sont traités par solvant pour éliminer les aromatiques et hétérocycles soufrés. On élimine ensuite une partie des paraffines en les faisant cristalliser par refroidissement et les huiles sont purifiées par un traitement à l'hydrogène.

L'huile de base est caractérisée par sa viscosité à froid et à chaud et l'on souhaite la plus faible variation possible entre les deux valeurs. Cette variation est caractérisée par une grandeur empirique, **« l'indice de viscosité » ou VI** (« viscosity index », voir formule dans l'encadré), reliant les viscosités à 40 °C et à 100 °C. Le point d'écoulement (température en dessous de laquelle l'huile ne s'écoule plus) et la volatilité sont deux autres caractéristiques importantes pour définir une huile.

Ces propriétés rhéologiques sont liées à la composition chimique de la base :
- les paraffines linéaires élèvent le point d'écoulement ;
- les aromatiques abaissent le point d'écoulement et le VI ;
- les isoparaffines sont les structures les plus performantes ; elles abaissent le point d'écoulement et augmentent le VI.

Sur la base de ces observations, les raffineurs ont développé des procédés pour améliorer les bases lubrifiantes :
- l'hydrocraquage des distillats sous vide transforme les naphtènes en isoparaffines ;
- l'hydroraffinage transforme les aromatiques en naphtènes ;
- l'hydroisomérisation provoque la conversion des paraffines linéaires en isoparaffines.

De plus, l'industrie propose des bases synthétiques : polyalphaoléfines (PAO) et esters, qui sont entrés dans la composition de formules commerciales. Les PAO sont préparées par polymérisation de coupes centrées sur le décène-1 par un amorçage cationique (BF_3) [4] suivie d'une hydrogénation pour éliminer les insaturations. Le mélange obtenu (dimère, trimère, tétramère...) possède une structure d'isoparaffine, donc d'excellentes propriétés supérieures à celles des bases hydrotraitées. Les esters organiques sont préparés de diacides ou de diols aliphatiques, de monoacides et d'alcools. Le contrôle de la masse molaire permet d'ajuster viscosité, point d'écoulement VI et volatilité.

L'indice de viscosité des huiles minérales est compris entre 90 et 100, celui des bases hydrotraitées est entre 120 et 130, celui des PAO peut être supérieur à 140 et enfin, celui des esters peut atteindre 200. Les bases synthétiques ont un coût plus élevé et ne sont utilisées que pour préparer des lubrifiants de haut niveau.

Classifications et performances des lubrifiants

Les classifications

Aux États-Unis, l'American Petroleum Institute (API) et en Europe, l'Association des Constructeurs Européens d'Automobiles (ACEA), ont défini des spécifications qui caractérisent les lubrifiants pour automobiles et toute nouvelle huile doit subir une série de tests (analytiques et bancs d'essais moteurs) pour être homologuée.

La classification par viscosité est basée sur une norme de la « Society of Automotive Enginers », norme SAE J 300, qui définit les propriétés à froid et à chaud selon le *tableau I*.

A partir de ce tableau, on caractérise une huile monograde hiver (ex : 10W) ou été (ex : SAE 40) ou une huile multigrade si elle répond aux critères rhéologiques exigés pour les basses et hautes températures. Par exemple, une huile 5W40 assure un bon démarrage à froid et un bon comportement à chaud.

Les performances des huiles

Elles sont définies en prenant en compte l'évolution de la viscosité, la formation des dépôts, les pertes de lubrifiants, la formation de cendres sulfatées, la réduction de consommation... en fonction de différentes conditions de fonctionnement. Aux États-Unis, les niveaux de performances sont établis pour les moteurs à essence S et

Mesure de l'indice de viscosité VI

$$VI = 100 \frac{(L - U)}{(L - H)}$$ norme ASTM D2270

où U, L et H sont les viscosités cinématiques (mm^2/s) à 40 °C :
U : de l'huile testée,
L : d'une huile de référence d'indice 0,
H : d'une huile de référence d'indice 100.

pour les diesels D par une lettre à partir de A avec sévérité croissante ; une huile qui a passé les tests d'une séquence SJ est de meilleure qualité qu'une huile qui ne satisfait que la séquence SH. En Europe, l'ACEA dispose d'un système comparable avec trois classifications : A pour les moteurs à essence, B pour les diesels et E pour les utilitaires. La sévérité des tests est définie par un chiffre suivi de l'année de la modification du test ; par exemple, une huile pour moteur à essence A3 98 est plus performante qu'une huile cotée A2 96.

C'est pour obtenir les niveaux de performance les plus élevés qu'intervient la formulation par les additifs.

Les additifs [5]

On peut classer les additifs en trois grandes catégories : ceux qui améliorent la stabilité chimique de l'huile ou inhibent les effets des produits de dégradation, ceux qui améliorent les propriétés rhéologiques, et enfin ceux qui protègent les surfaces métalliques et ont un effet anti-usure.

Additifs améliorant la stabilité chimique du lubrifiant ou inhibant les effets des produits de dégradation

• *Les additifs antioxydants*

L'oxydation de l'huile provoque la formation de deux types de produits : les acides organiques de faibles poids moléculaires très corrosifs pour les métaux et des composés oxygénés de masses molaires comprises entre 500 et 3 000 g/mole qui dans une première étape augmentent la viscosité avant de polymériser, précipiter dans l'huile et enfin former des dépôts sur les parois.

Le mécanisme d'oxydation des hydrocarbures par l'air est de nature radicalaire [6] (*figure 3*) et les additifs agissent soit en désactivant les métaux catalyseurs par complexation d'un degré d'oxydation, soit en décomposant les peroxydes formés par action de l'oxygène sur les radicaux hydrocarbonés, soit en transformant les radicaux de la chaîne d'oxydation en radicaux stables.

On utilise des phénols, des arylamines substitués ou des composés soufrés qui forment des radicaux stables ; les dialkyl-dithiophosphates de zinc sont très largement utilisés car ils ont un effet anti-usure en plus de l'effet antioxydant.

• *Les additifs détergents et dispersants*

Ces additifs sont destinés à limiter les effets produits par l'oxydation que les antioxydants ne peuvent totalement empêcher. Il faut neutraliser les acides organiques pour limiter la corrosion et le lubrifiant doit contenir une réserve de base (carbonate de calcium). Il faut maintenir en suspension les particules de polymères organiques et éviter ainsi la formation de vernis sur les parois métalliques chaudes.

Les additifs dispersants et détergents possèdent une structure tensioactive constituée d'une partie organique soluble dans l'huile et d'une partie polaire. Ce caractère est responsable de deux comportements : l'adsorption sur les surfaces polaires et l'auto-association dans l'huile pour former des micelles (*figure 4*).

- *Les dispersants* sont des tensioactifs organiques. La partie hydrocarbonée est constituée de polyisobutylène dont la masse molaire est de l'ordre de 1 000 à 2 000 g/mole. La partie polaire est de nature succinimide (*figure 5*). Ils sont particulièrement utiles pour les véhicules fonctionnant en milieu urbain (arrêts et démarrages fréquents pendant lesquels l'oxydation provoque la formation de beaucoup de boues insolubles). On verra qu'il est possible de conférer des propriétés dispersantes aux polymères améliorant le VI par une démarche analogue qui consiste à fixer sur le polymère des fonctions azotées ou oxygénées polaires.

- *Les détergents* sont des sels d'acides organiques ou de phénols et de métaux divalents (calcium et magnésium) (*figure 6*). Le cœur de la micelle a la capacité de stoker une quantité de carbonate largement excédentaire à la

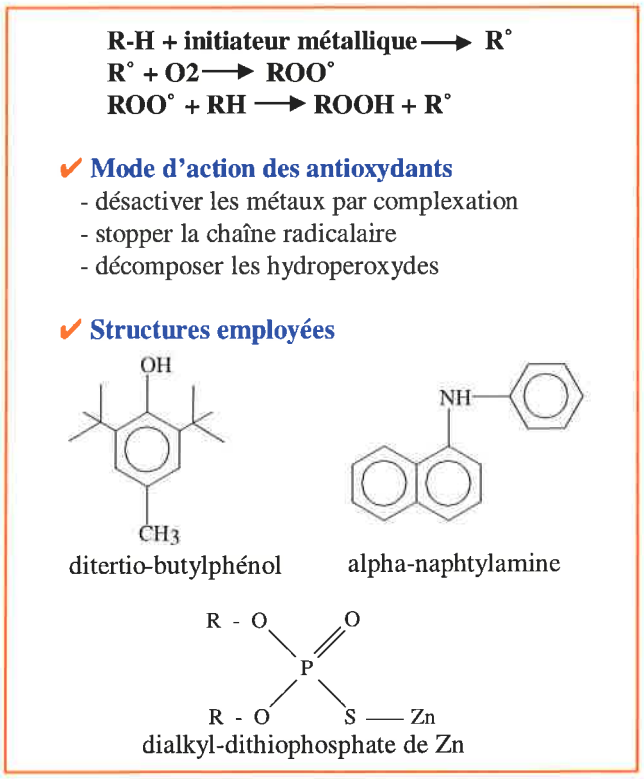


Figure 3 - Les additifs antioxydants.

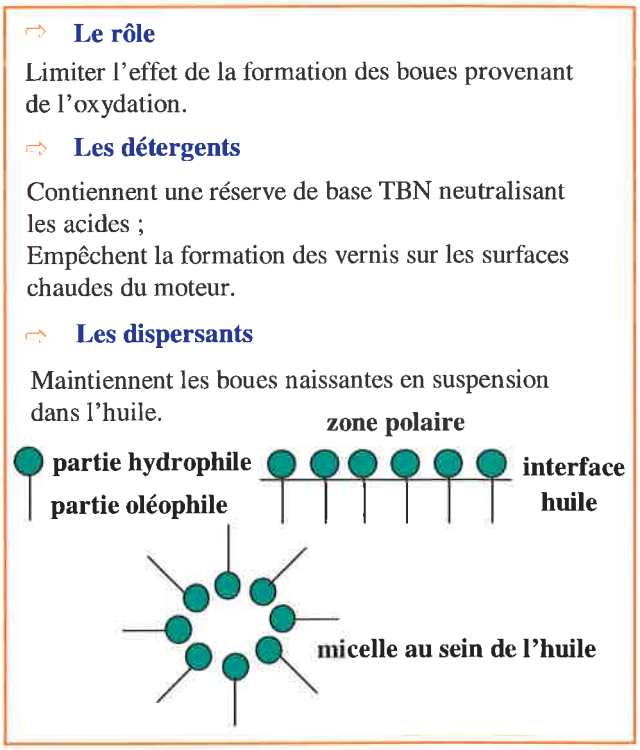


Figure 4 - Organisation des additifs dispersants et détergents dans l'huile.

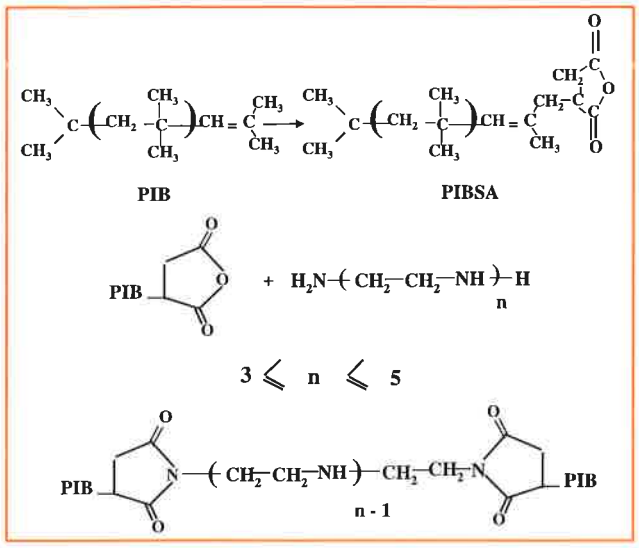


Figure 5 - Structures des additifs dispersants.

stœchiométrie. Cette réserve, définie par le « total basic number » ou TBN selon la norme ASTM D664, sert à neutraliser les acides organiques qui se forment pendant le fonctionnement du moteur. Ces additifs ont deux autres fonctions par adsorption sur le métal : ils empêchent la formation de vernis qui proviennent de la polymérisation des dépôts organiques et ils ont un effet anticorrosion.

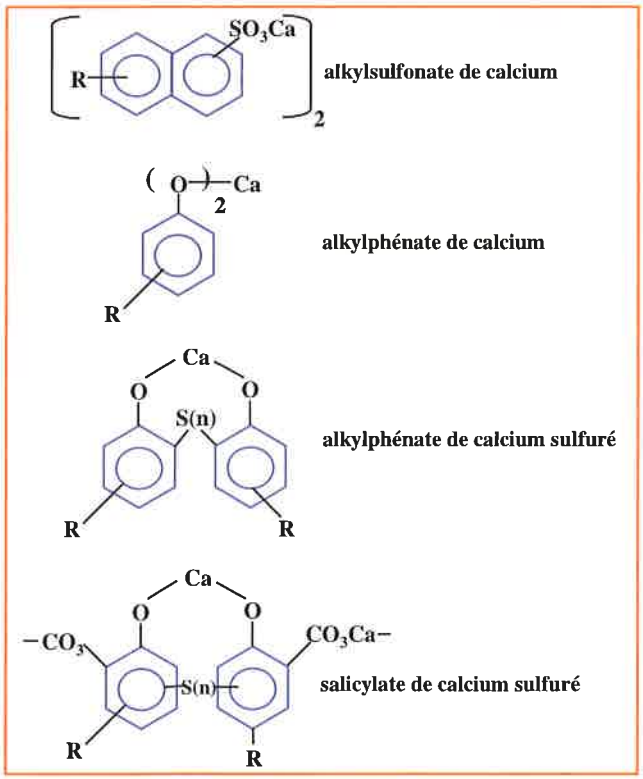


Figure 6 - Structures des additifs détergents.

Les additifs améliorant les propriétés rhéologiques des lubrifiants [7]

• *Le point d'écoulement des huiles et les additifs anticongelant*

Le refroidissement d'un lubrifiant provoque la cristallisation des paraffines vers - 10 °C (c'est le « point de trouble »), mais l'huile s'écoule car les cristaux sont dispersés. Si la température continue à s'abaisser, on observe la croissance de ces cristaux et la formation d'une phase continue (réseau) qui emprisonne les autres constituants de l'huile, ce qui gène l'écoulement. La température en dessous de laquelle le lubrifiant ne s'écoule plus est définie comme « point d'écoulement ». Ce phénomène se produit bien que ce réseau ne représente que 1 à 5 % de la masse de l'huile ; on peut s'opposer à sa formation en modifiant la croissance des cristaux de paraffines. Pour cela, on introduit des oligomères possédant des chaînes alkyles qui s'adsorbent sur une face du cristal en croissance, en modifient la forme et perturbent ainsi l'organisation du réseau.

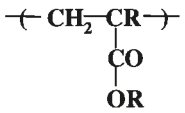
Les produits dits « anticongelants » commercialisés sont des alkylnaphtalènes, des polyacrylates d'alcools à longues chaînes (*figure 7*) ou des polystyrènes alkylés.

✔ **Rôle**

Éviter l'agglomération des cristaux de paraffines pour éviter la formation du réseau cristallin qui empêche l'écoulement.

✔ **Structures**

polyalkylnaphtalène
(réaction d'une paraffine chlorée sur le naphtalène)



polyalkylméthacrylate ($R = CH_3$)
polyalkylacrylate (R= H)

produits de faible masse : 2 000 à 10 000 g/mole

✔ **Action**

Adsorption sur le cristal de paraffine.

Figure 7 - Structures des additifs anticongelants.

• *Les additifs améliorant l'indice de viscosité (VI)*

Les bases lubrifiantes d'origine pétrolière ont un VI qui ne dépasse pas 100. Or, il est important que la viscosité de l'huile diminue le moins possible pendant le fonctionnement à chaud pour éviter la rupture du film d'huile. Les propriétés des polymères en solution permettent de résoudre ce problème.

La viscosité d'une solution de polymère dépend de la concentration certes, mais aussi du volume qu'occupe chaque macromolécule dans le solvant. Ce volume dépend lui-même de l'importance des interactions entre le solvant et le polymère [4]. L'huile de base (naphténique, paraffinique et faiblement aromatique) est un assez mauvais solvant des polymères et les forces de cohésion des motifs du polymère entre eux seront plus fortes que les interactions entre l'huile et le polymère. La chaîne polymère peu gonflée occupera un faible volume dans l'huile et l'augmentation de la viscosité sera faible. Lorsque le moteur fonctionne, la température s'élève, le pouvoir solvant de l'huile augmente. Ses interactions avec le polymère se traduisent par une augmentation du volume de la macromolécule, donc de sa contribution à la viscosité de la solution, qui compense la perte de viscosité que l'augmentation de la température fait subir à l'huile (*figure 8*).

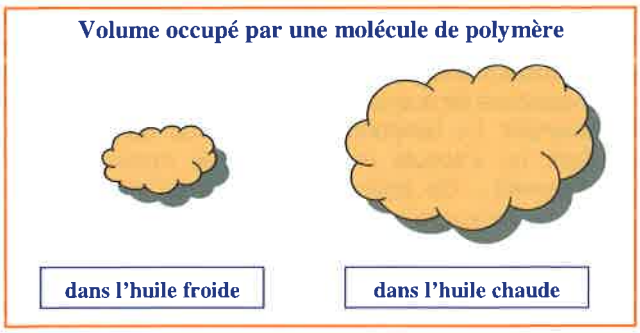


Figure 8 - Mécanisme d'action des additifs améliorant l'indice de viscosité (VI).

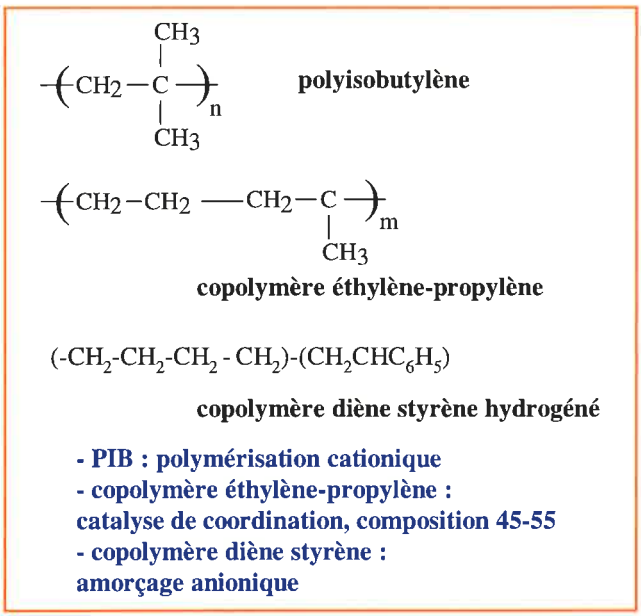


Figure 9 - Structures des polymères hydrocarbonés améliorant le VI.

L'utilisation des polymères n'est pas sans poser de problèmes. L'un des plus importants est le comportement des solutions soumises à un gradient de cisaillement (ce qui se produit dans un moteur) qui provoque des coupures, donc diminue la masse molaire et par suite l'effet sur la viscosité. Néanmoins, ces additifs sont très largement utilisés et actuellement, deux grandes familles sont commercialisées :

- *Les polymères hydrocarbonés* (*figure 9*). Le polyisobutène est obtenu par amorçage cationique [4] ; les copolymères de l'éthylène et du propylène (« olefin copolymers », OCP) sont préparés par catalyse de coordination [4]. Leurs masses molaires sont de l'ordre de 50 000 à 100 000 g/mole. Les copolymères diène-styrène sont obtenus par amorçage anionique [4] et hydrogénés ensuite pour éliminer les insaturations. Leurs masses molaires sont de l'ordre de 120 000 g/mole.
- *Les polymères à fonction ester* (*figure 10*). Ce sont des polyméthacrylates de masses molaires comprises entre 150 000 et 500 000 g/mole, obtenus par polymérisation de méthacrylates d'alcools de C_8 à C_{14} par voie radicalaire [4]. Dans les deux familles OCP et polyméthacrylates, on commercialise des additifs de VI possédant des propriétés dispersantes. Ils sont obtenus par introduction sur la macromolécule de fonctions polaires [5].

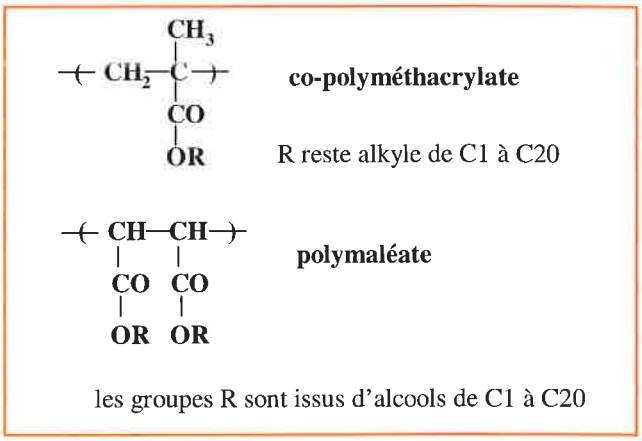


Figure 10 - Structures des polymères à fonctions esters améliorant le VI.

• *Les produits anti-moussants*
La présence d'agents tensioactifs dans les formules et la forte agitation en présence de gaz provoque la formation de mousse. L'ajout de quelques parties par million de dérivés de silicones permet d'éviter ce phénomène.

Les additifs extrême pression et anti-usure
Lorsque le lubrifiant fonctionne en régime hydrodynamique, le film d'huile est stable et il n'y a pas réellement de problème d'usure. En conditions plus sévères, si les pièces se rapprochent, si le film se rompt, le frottement peut provoquer de l'arrachement de métal. En conditions extrêmes, l'échauffement peut conduire à la soudure des pièces. Les additifs extrême pression et anti-usure ont pour rôle de créer un lubrifiant solide par réaction avec la surface. Les produits commerciaux sont des composés organiques contenant du chlore, du soufre ou du phosphore. Ces atomes réagissent avec le métal au moment de la décomposition thermique de l'additif en créant une interface plus ductile qui joue le rôle de lubrifiant solide. On utilise par exemple des produits de réaction du soufre avec des oléfines, des dérivés dithiophosphoriques ou des phosphomolybdates (*figure 11*).

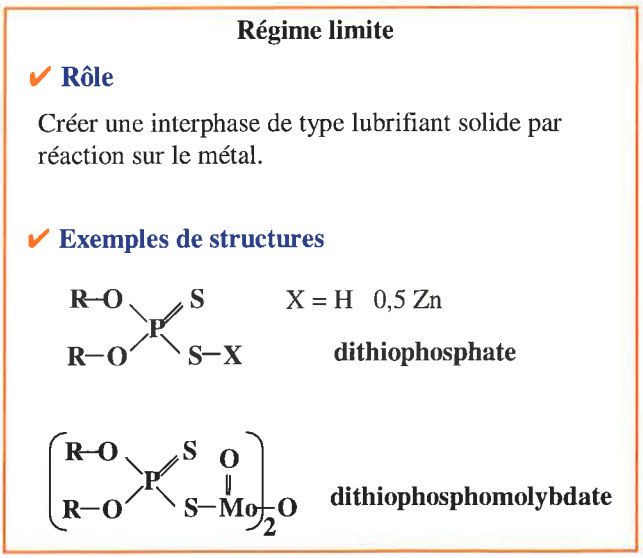


Figure 11 - Structures des additifs anti-usure et extrême pression.

La formulation

Les propriétés rhéologiques (viscosité et point d'écoulement) sont les paramètres de base du formulateur qui recherche un grade SAE. Pour cela, on combine quelques bases lubrifiantes pour obtenir viscosité et pompabilité à basse température. On ajoute alors un « paquet » d'additifs antioxydants anti-usure, extrême pression et détergent dispersant pour obtenir le niveau de performance SAE ou ACEA et le grade définitif de viscosité SAE est apporté par l'additif de VI.
Le *tableau II* résume pour chaque additif les quantités utilisées pour la formulation.

Tableau II - **Proportions d'additifs entrant dans la formulation du lubrifiant.**

Propriétés	Additifs	
Pt écoulement de - 12 °C à (- 25, - 35 °C) ↘	Anticongelants Polymères	0,1 à 0,5 %
Augmentation sélective de la viscosité à haute température	Améliorants d'indice de viscosité Polymères	5 à 10 %
Détergence Neutralisation, dispersion des polluants ↗	Détergents et dispersants Organométalliques et sans cendre	3 à 15 %
Moussage ↘	Antimousse Huile de silicone	10 à 100 ppm
Rouille et corrosion ↘	Antirouille Anticorrosion	0,05 % 1 %
Stabilité à l'oxydation ↗	Antioxydants DTPZ, dérivés phénoliques et aminés	1 à 10 %
Capacité de charge en régime limité ↗	Anti-usure, extrême pression DTPZ et produits phosphorés, soufrés, chlorés	1 à 10 %

Conclusion et tendances

La formulation de tous les lubrifiants obéit aux principes évoqués ci-avant. Cependant, elle doit être adaptée aux différents types de moteurs et aux conditions de fonctionnement (on ne formule pas une huile pour moteur à essence comme on formule une huile pour bateaux par exemple). En ce qui concerne les tendances, il est clair que l'espacement des vidanges (actuellement de 30 000 km) est un facteur important pour renforcer les performances des lubrifiants, en particulier en ce qui concerne les exigences pour la résistance à l'oxydation et la réduction de la teneur en cendres sulfatées. Un autre facteur incitatif actuel est à rechercher dans le développement des pots catalytiques qui implique que la combustion du lubrifiant ne provoque pas la formation de poison des catalyseurs.

Remerciements

L'auteur remercie le Centre Professionnel des Lubrifiants qui a fourni les éléments statistiques de la référence [1].

Références

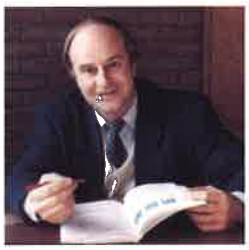
[1] *Lubrifiants 2002*, Centre Professionnel des Lubrifiants, Les Passerelles, 104 Bd Albert Ier, 92563 Rueil Malmaison Cedex (http://www.cpl-lubrifiants.com), **2002**.
[2] Ayel J., Born M., *Lubrifiants et Fluides pour l'Automobile*, Éditions Technip, Paris, **1998**, p. 26.
[3] Heinrich G., *Petroleum Refining, vol. 1, chap. 10*, J.-P. Wauquier éd., Éditions Technip, Paris, **1995**.
[4] Pour tous les aspects concernant les polymères voir : Fontanille M., Gnanou Y., *Chimie et Physico-Chimie des Polymères*, Dunod, Paris, **2002**.
[5] Satriana M.J., Synthetic oil and lubricating additives, *Chemical Technology Review*, **1982**, *207*, NDC, Park Ridge NJ USA.
[6] Mercier J.-P., Godard P., *Chimie Organique*, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, **1995**, p. 278.
[7] Briand J., Denis J., Parc G., *Propriétés Rhéologiques des Lubrifiants*, Éditions Technip, Paris, **1985**.

Bernard Sillion
a été directeur de recherche à l'Institut Français du Pétrole et directeur de recherche au CNRS. Il est actuellement rédacteur en chef de *L'Actualité Chimique**.

* 250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris.
Tél. : 01 40 46 71 64. Fax : 01 40 46 71 61.
E-mails : ac@sfc.fr ; b.sillion@sca.cnrs.fr

Image Photothèque TOTAL Lubrifiants.

Galerne, 25 ans déjà !



L'école d'été de chimie du solide connue sous le nom de « Galerne » est née il y a 25 ans. Elle résultait du désir que nous avions avec Jean Rouxel de faire vivre la communauté de chimie du solide française. Les seniors avaient souvent l'occasion de se retrouver dans les différents congrès internationaux auxquels ils participaient. C'était beaucoup plus rare pour les juniors et nous avons souhaité favoriser des lieux de rencontre afin qu'ils puissent établir des liens directs, sans passer par les voies hiérarchiques.

Notre but était de créer une école destinée aux jeunes chercheurs et animée par eux-mêmes, indépendamment des organismes de tutelle. Il n'y avait pas de hiérarchie « enseignant-enseigné », chaque participant étant à la fois auditeur et orateur.

La réalisation de ce projet, en dehors de toute structure officielle, ne s'est pas faite sans douleur. L'indépendance a un prix et c'est grâce à la fermeté de Jean Rouxel qu'avec Gérard Villeneuve nous avons pu organiser la première école d'été. Elle s'est tenue en Bretagne, près de Redon, au pays de Jean. Pour cette première expérience, nous avions choisi de traiter des spectroscopies de résonance magnétique (RMN-RPE) qui, à l'époque, faisaient tout juste leur apparition dans nos laboratoires. Ce thème sera repris quinze ans plus tard, avec tous les développements que nous lui connaissons.

Les six premières écoles ont été organisées par le trio fondateur et puis Galerne a pris son envol. Organisé chaque année par un laboratoire différent, il a fait plusieurs fois le tour de la France et a contribué à renforcer les liens au sein de notre communauté. La rédaction d'un polycopié, distribué avant le début de l'école, permettait de laisser du temps aux discussions, parfois vives, mais toujours amicales. Combien d'idées nouvelles et de collaborations spontanées sont nées de discussions informelles autour d'un verre ou d'un poster ! Ces polycopiés, dont malheureusement il n'existe pas de collection complète, constituent aujourd'hui un ensemble de documents précieux pour l'enseignement de la chimie du solide.

Lors de la première école d'été, nous avons cherché quel nom lui donner. C'est Jean Rouxel qui a proposé de la baptiser Galerne, du nom d'un vent de son pays. Nous pensions que le dicton de sa grand-mère qui disait « *il va faire beau, le vent est à Galerne* », nous porterait chance. La sagesse des anciens est le fruit d'une longue expérience et effectivement, 25 ans après, la chimie du solide s'est considérablement développée, les juniors sont devenus des seniors, mais Galerne est toujours là ! C'est même presque devenu une institution ! Espérons que grâce aux jeunes chercheurs, l'esprit de Galerne continuera à vivre et à faire progresser la science et l'amitié au sein de nos laboratoires.

Jacques Livage
Professeur au Collège de France,
Chaire de Chimie de la Matière Condensée

Les deux articles qui suivent viennent compléter le dossier « Matériaux et biologie » dont la première partie est parue en juillet dernier. Ce projet est né suite à l'École Galerne 2001.
La rédaction remercie Thibaud Coradin (Université Paris VI) pour s'être chargé de la coordination de ce dossier.

Étude de mécanismes de biominéralisation

Rôle des protéines et des polymères adsorbés ou en solution dans la nucléation et la croissance cristalline de matériaux inorganiques d'intérêt biologique

Vincent Ball et Jean-Claude Voegel

Abstract **Role of adsorbed or solubilized proteins and polymers in the crystal growth of biologically relevant inorganic materials**
After a description of the physicochemical backgrounds needed to study the nucleation and crystal growth kinetics, the main crystals appearing in the biological world will be described with particular emphasis on the calcium carbonates and phosphates. The second chapter of this article is aimed to overview the main experimental methods used up to now to measure the nucleation and crystal growth kinetics. Finally, we summarize the general rules which govern the growth kinetics and the final morphology of crystals grown in presence of biopolymers. Two examples from the recent literature will be described in more detail.
Mots-clés **Croissance cristalline, nucléation, biopolymères.**
Key-words **Crystal growth, nucleation, biopolymers.**

Le but de cet article est de décrire l'état des connaissances actuelles des mécanismes d'action des polymères synthétiques ou des biopolymères dans la nucléation et la croissance cristalline de minéraux d'intérêt biologique. On envisagera deux types de situations : le polymère libre en solution aqueuse ou à l'état adsorbé à une interface. Nous serons également amenés à discuter le rôle joué par des systèmes moléculaires organisés tels que des vésicules lipidiques qui constituent un modèle approché des matrices extracellulaires employées par les organismes vivants [1]. Volontairement, les aspects purement biologiques tels que la description de l'ultrastructure des cellules impliquées ne seront pas abordés ici. Nous essayerons plutôt de décrire le **mécanisme d'action** des biopolymères synthétisés par ces cellules et leur emploi éventuel pour la préparation de matériaux biocompatibles. Cette description se situera donc à deux niveaux :
- l'influence des polymères sur la taille et la morphologie des cristaux obtenus ;
- l'influence des polymères sur la cinétique de formation des cristaux, c'est-à-dire sur la nucléation de germes de croissance, sur la cinétique de croissance et sur la cessation de croissance.

Biominéralisation et polymères

Définitions

La biominéralisation est le domaine de la science, à l'interface de la physique, de la chimie et de la biologie, qui étudie la formation et la structure des cristaux que l'on rencontre dans les organismes vivants [2].
La formation d'une phase minéralisée impose la réalisation successive des trois étapes suivantes :
(i) la formation d'**au moins un germe de croissance stable** ;
(ii) la **croissance** de ces germes et leur fusion éventuelle ;
(iii) la **cessation de croissance** et éventuellement **la maturation des phases formées** afin d'aboutir à la phase la plus stable si, bien sûr, il y a existence de polymorphisme. Le suivi de ces changements de phase successifs est un problème très délicat du point de vue expérimental, surtout si leur durée de vie est brève. C'est le cas des cristaux formés par les organismes vivants, surtout les phosphates et les carbonates de calcium.
La *figure 1* montre un exemple de cristal de nacre formé par le mollusque *Monodonta labio*. Il est évident, à partir de cette image de microscopie électronique à balayage, que l'obtention d'une morphologie déterminée nécessite non seulement un contrôle des paramètres physiques, tels que l'activité des ions, leur transport et leur adsorption sur le germe de croissance, mais encore **la formation d'un espace confiné** qui limite la formation du cristal. C'est le rôle de nombreux biopolymères qui jouent un rôle non seulement structural mais également un rôle fonctionnel. Nous allons approfondir ces différents points dans la suite de cet article. Il est admirable qu'il ait déjà été possible de reproduire *in vitro* des structures telles que celles représentées sur la *figure 1* par dépôt de films minces de chitosan (de la chitine, c'est-à-dire un polysaccharide déacétylé) [4]. Il s'agit là d'un exemple de biomimétisme. Mais avant de décrire les mécanismes d'action des polymères, il nous faut rappeler quelques généralités sur la croissance cristalline.

Généralités sur la croissance cristalline

Pour induire la croissance cristalline, il faut d'abord former un germe stable : c'est l'étape de **nucléation**. Par germe stable, on entend une particule solide dont la vitesse de croissance est supérieure à la vitesse de dissolution. La condition thermodynamique de formation d'une nouvelle phase à partir

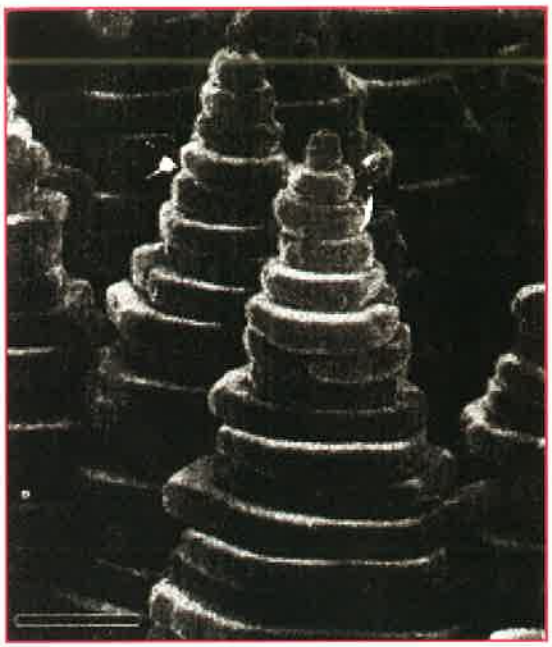


Figure 1 - Empilement de cristaux d'aragonite ($CaCO_3$) de la couche de nacre de *Monodonta labio*.
La barre horizontale représente 2,5 µm [3].

d'un milieu homogène est que la variation d'enthalpie libre accompagnant le processus, à température et pression constantes, soit négative. C'est une condition nécessaire d'évolution spontanée du système, mais sa réalisation n'implique pas nécessairement l'observation du changement de phase escompté. Il faut encore que la cinétique du processus soit suffisamment rapide. Dans le cas de la croissance cristalline, la formation de liaison ionique entre ions se traduit par une diminution de l'enthalpie du système (avec cependant l'existence de plusieurs termes de signe opposé) et par une augmentation de l'entropie du système (augmentation des degrés de liberté des molécules de solvant libérées) : c'est un processus favorable pourvu que la diminution d'énergie libre associée soit supérieure (en valeur absolue) à l'augmentation d'énergie associée à la création d'une interface cristal-liquide. Ce terme énergétique dépend de la surface de l'interface formée et de la tension superficielle γ de l'interface considérée, c'est-à-dire de l'énergie d'adhésion de deux surfaces macroscopiques identiques. Si nous considérons une particule sphérique, en l'absence de toute contamination (qui peut abaisser la valeur de γ), alors la variation globale d'enthalpie libre aboutissant à une particule de rayon r vaut :

$$\Delta G_r = 4\pi.r^2.\gamma - 4/3\pi.r^3[\Delta G_V/V_m] \qquad (1)$$

où ΔG_V représente la variation d'enthalpie libre totale associée au changement de phase et V_m, le volume molaire de la nouvelle phase.
L'équation (1) constitue le point de départ de la théorie de la **nucléation homogène**. La **nucléation hétérogène** fait intervenir des particules d'une nature différente de celle de la phase que l'on désire former. On distingue également le phénomène de **nucléation secondaire** où les particules introduites sont de même nature que celles de la phase que l'on désire promouvoir. La forme générale de l'équation (1), ainsi que l'évolution de ses deux termes en fonction de r, sont représentées sur la *figure 2*.

On voit que ΔG_r atteint un maximum pour une valeur critique du rayon r* qui est obtenue en différentiant (1) par rapport à r et en égalant la dérivée à zéro, soit :

$$r^* = (2.\gamma.V_m)/\Delta G_v \qquad (2)$$

Cela signifie que si les fluctuations thermodynamiques conduisent à la formation d'une particule sphérique de rayon r, deux cas sont possibles :
- si $r < r^*$: ΔG_r est positif, la particule se dissout spontanément et l'effet de la fluctuation est supprimé ;
- si $r > r^*$: ΔG_r est négatif et le « germe » peut grossir avec une diminution de l'énergie libre du système.
La condition nécessaire pour la formation d'une particule de taille critique est la mise à disposition d'une enthalpie libre d'activation :

$$\Delta G_r^* = (16\pi.\gamma^3.V_m)/(3\Delta G_v^2) = 4/3\pi.\gamma.(r^*)^2 \qquad (3)$$

On voit que cette enthalpie libre d'activation dépend de la tension superficielle de l'interface formée. Comment faire pour atteindre cette valeur critique de l'enthalpie d'activation et donc celle du rayon critique, sans « tricher », c'est-à-dire sans modification de la valeur de γ ?
Revenons à la définition générale de ΔG_r pour l'équilibre suivant :

$$A^+ + X^- \Leftrightarrow AX \qquad (4)$$

où A^+ et X^- sont le cation et l'anion participant à la formation du cristal AX (pris monovalents pour simplifier les équations ! Mais fondamentalement, les équations ont une constitution identique pour des sels de type A_mX_n).
On a donc :

$$\Delta G_r = \Delta G° + RT.\ln[a_{AX}/(a_A.a_X)] \qquad (5)$$

or $a_{AX} = 1$, car AX est considéré comme un constituant pur.
Si l'on pose :
- $a_A.a_X$ = IP, **produit ionique** de la solution. Notons un point très important à ce niveau : le calcul de IP peut s'avérer particulièrement délicat puisqu'il nécessite le calcul du

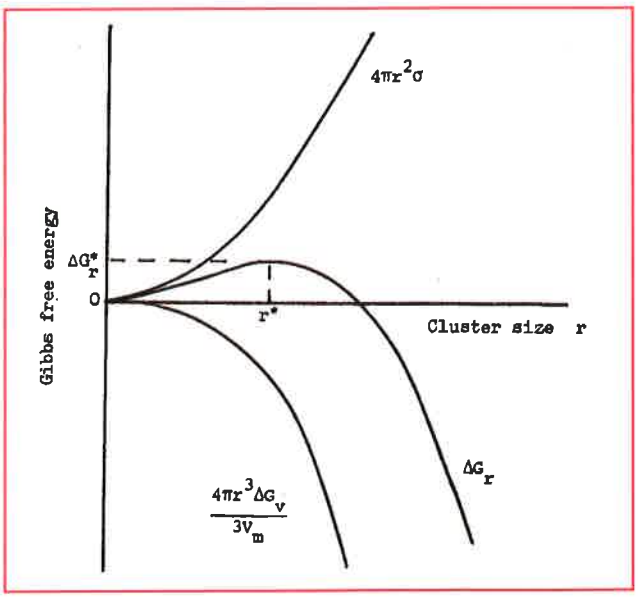


Figure 2 - Enthalpie libre d'un « cluster » atomique en fonction de son rayon.
Le terme en r^2 représente l'enthalpie libre de surface et celui en r^3 l'enthalpie libre de volume (reproduit de [5]).

coefficient d'activité de chaque ion (attention à la formule utilisée : pour des forces ioniques typiques de 0,1 à 0,2 M dans les milieux biologiques, la version de la formule de Debye-Hückel corrigée par Davies est bien adaptée [6]), ainsi que la connaissance de tous les équilibres auxquels cet ion participe. En particulier, les équilibres d'association d'ions ou de complexation peuvent jouer un grand rôle.
- Et $\Delta G° = RT.\ln[K_{sp}]$, où K_{sp} est appelé « produit de solubilité de AX », alors l'équation (5) devient :

$$\Delta G_r = -RT.\ln[IP/K_{sp}] \quad (6)$$

$$\text{ou encore : } \Delta G_r = -RT.\ln S \quad (7)$$

où S désigne la **sursaturation** de la solution par rapport à la phase solide considérée. La condition thermodynamique pour la formation de germes stables s'écrit donc :

$$\mathbf{S \geq 1 \text{ ou } IP \geq K_{sp}}$$

Faisons maintenant l'hypothèse, fondamentale, que l'enthalpie libre d'activation pour la formation d'un germe stable s'écrit de manière analogue à l'équation (7) moyennant un changement de signe, c'est l'hypothèse de Gibbs-Thomson :

$$\Delta G_{r^*} = RT.\ln S = 2V_m.\gamma/r^* \quad (8)$$

où le dernier membre de (8) provient de l'équation (2).

$$\text{D'où : } \Delta G_r^* = 4/3\pi.\gamma.(r^*)^2 = (16\pi/3).(V_m/RT)^2.\gamma^3.1/(\ln S^*)^2 \quad (9)$$

L'équation (9) est l'équation fondamentale de la théorie de la nucléation homogène, elle montre clairement que si on ne peut pas réduire la valeur de γ, **alors il faut augmenter S.**
Le lecteur intéressé par de plus amples détails concernant la théorie de la nucléation homogène pourra se reporter à des articles [7] et des ouvrages de référence [8].
Du point de vue de la cinétique de nucléation, la vitesse de formation de germes stables est reliée à l'enthalpie libre d'activation selon une loi de type Arrhenius [9] :

$$J = k_n.\exp(-\Delta G_r^*/RT)$$
$$= k_n.\exp[-(16\pi/3).V_m^2.(\gamma/RT)^3.1/(\ln S)^2] \quad (10)$$

où J est le nombre de germes stables formés par unité de temps et par unité de volume.
L'évolution de J avec S est représentée sur la *figure 3* pour la nucléation homogène et hétérogène : on observe que la vitesse de nucléation, dans les deux cas de figure considérés, n'atteint une valeur observable que si :

$$\mathbf{S > S^*} \quad (11)$$

S* est appelée la **sursaturation critique**, la valeur de S à partir de laquelle des germes stables peuvent effectivement être observés. La différence essentielle entre la nucléation homogène et hétérogène réside dans le fait que dans ce dernier type de mécanisme, on introduit des substances qui induisent une réduction de la valeur de γ. Il faut remarquer que la tension superficielle de l'interface intervient à la puissance 3 dans l'équation (10).
Dans le cas de la nucléation hétérogène, la région métastable, où le système d'ions libres en solution est instable du point de vue thermodynamique mais ne précipite pas spontanément, est donc beaucoup plus étroite que pour la nucléation homogène.
Dans notre étude du rôle des biopolymères dans la nucléation et la croissance cristalline de cristaux d'intérêt biologique, nous nous trouverons principalement dans des systèmes hétérogènes. De façon courante, il est extrêmement difficile de définir les conditions favorables à la nucléation homogène : cela revient à constituer un système sans aucune impureté !
Notons que dans tous les cas de figure, l'existence d'une vitesse finie de nucléation entraîne l'existence d'un **temps d'induction** τ tel que :

$$\tau \propto 1/J \quad (12)$$

En pratique, la mesure de τ est extrêmement délicate, car une fois un germe stable formé, la vitesse de croissance peut être très rapide et rendre la nucléation difficilement détectable. Cette vitesse de croissance peut dépendre [10] :
- du transport des ions vers la face cristalline en croissance (rôle important du champ magnétique [11], du champ électrostatique, de la présence de convection) ;
- de la vitesse d'adsorption des ions sur la face cristalline en question : ce phénomène dépend fortement du champ électromagnétique local exercé par la face cristalline considérée et de la présence d'agents qui entrent en compétition avec les ions pour les sites d'adsorption du support ;
- de la vitesse de déshydratation des ions et donc en particulier de la nature du solvant (il peut y avoir de grandes différences selon la nature des contre-ions et le changement H_2O en D_2O peut également avoir des effets très marqués) ;
- de la présence de défauts tels des joints de grain, des dislocations, etc.
Les lois cinétiques correspondantes ont été explicitées [10, 12].
Pour en revenir à la nucléation, il faut signaler que le facteur pré-exponentiel de l'équation (10) qui est homogène à une fréquence doit dépendre de la sursaturation, puisque la fréquence de collisions efficaces doit être fonction de l'activité des ions. Il a été démontré que (10) et (12) peuvent s'écrire sous la forme [12] :

$$\tau = A.(S-1)^{-3/4}.S^{-1/4}.\exp[(16\pi/3).V_m^2.(\gamma/RT)^3.1/(\ln S)^2] \quad (13)$$

Ainsi, si l'on réussit à mesurer τ pour différentes sursaturations (avec $S > S^*$), un tracé de $\ln[\tau.S^{1/4}.(S-1)^{3/4}]$ en fonction de $1/(\ln S)^2$ permet d'obtenir la valeur de la tension superficielle de l'interface γ. On peut donc **estimer l'impact du biopolymère** sur le phénomène de nucléation. Mais ce point est particulièrement délicat car il suppose non seulement une mesure précise de τ, mais encore que la

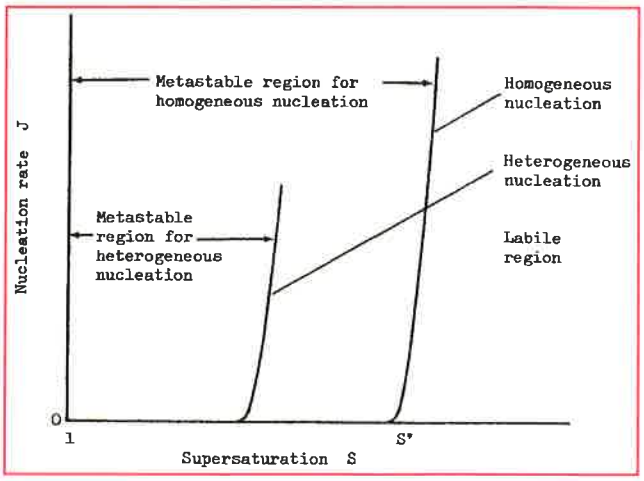


Figure 3 - Vitesse de nucléation en fonction de la sursaturation pour la nucléation homogène et hétérogène (reproduit de [5]).

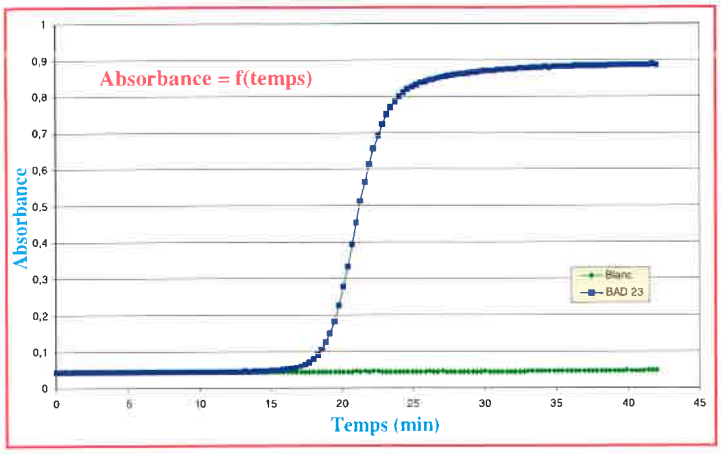


Figure 4 - Suivi de la croissance de phosphates de calcium par mesure de la turbidité à λ = 500 nm en présence de molécules de bisamidines.
La concentration en ions calcium et phosphates est de 6 mM, en présence de tampon TRIS (pH = 6,85) et de chlorure de sodium à 150 mM. La concentration en bisamidines rajoutées à la solution sursaturée à t = 0 est égale à $2{,}8.10^{-4}$ M (reproduit de [14]).

théorie cinétique donnant l'expression de k_n en fonction de S est valable. De plus, il faut noter que même pour des expériences de nucléation hétérogène, on a tendance à utiliser les expressions théoriques établies pour la nucléation homogène. Cela induit de nombreuses discussions, voire des points de conflit. Il faut reconnaître cependant que la théorie de la nucléation hétérogène n'en est qu'à l'état de balbutiements. Volontairement, nous ne discutons pas ici des relations permettant d'estimer la taille des germes à partir des valeurs de τ, car ces relations font également le point de nombreux débats. Le lecteur intéressé pourra consulter les références [10] et [12]. Nous reviendrons sur l'utilisation de l'équation (13) dans le chapitre consacré aux mécanismes de minéralisation pour l'étude de la nucléation de phosphates de calcium sur des films de polyélectrolytes adsorbés à une interface silice-liquide.

Pour finir, notons que la mesure de τ dépend de la sonde de mesure utilisée ! Il s'agit en effet de détecter des germes de très petite taille à l'aide d'un rayonnement électromagnétique. Or, l'intensité diffusée dépend (dans le régime de Rayleigh, i.e. pour $r^* << \lambda$) de $1/\lambda^4$! Ainsi, on sera beaucoup plus sensible aux petites particules à des longueurs d'onde de travail plus faibles. Mais on risque alors d'être confronté à de l'absorption par le solvant ou par les ions présents en solution. L'utilisation de la diffusion des RX pose aussi un problème lié au temps d'accumulation élevé. En bref, c'est un problème délicat à résoudre. La *figure 4* illustre l'utilisation d'un simple spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm pour l'étude qualitative du rôle des molécules de bisamidine [13] dans la nucléation et la croissance cristalline des phosphates de calcium. Le temps d'induction τ est en général défini par l'intersection de la tangente à la courbe expérimentale au point d'inflexion (le point où la dérivée seconde du signal s'annule) avec l'axe des temps. Dans le cas de l'exemple de la *figure 4*, on obtient $\tau = (17 \pm 1)$ min en présence de bisamidine à $2{,}8.10^{-4}$ M, alors qu'en l'absence de ces molécules le temps d'induction pour la germination est supérieur à 180 min dans la solution sursaturée d'un facteur 25 par rapport à l'hydroxyapatite.

Cette observation suggère que les bisamidines, connues pour former des chaînes linéaires en présence d'ions phosphate [13] (en solvant organique), permettent la nucléation des phosphates de calcium. Cette augmentation de turbidité n'est pas observée en présence des seuls ions phosphate. Les particules formées ont des morphologies semblables aux phosphates de calcium des tissus osseux (plaquettes de $100 \times 50 \times 10$ nm environ) et leur rapport Ca/P est de l'ordre de 1,50. La caractérisation de la phase formée a montré qu'il s'agit d'une hydroxyapatite déficiente en Ca^{2+} et dont la neutralité est assurée par les molécules de bisamidines qui sont chargées positivement dans les conditions de pH de cette étude.

Dans les deux paragraphes suivants, nous explicitons l'importance des phases minéralisées dans les organismes vivants ; nous donnerons quelques détails concernant les propriétés des carbonates et des phosphates de calcium en raison de leur importance particulière. Enfin, nous donnons une brève description des principales difficultés expérimentales rencontrées lors de l'étude de la nucléation et de la croissance cristalline en présence de polymères ou d'assemblées moléculaires organisées.

Systèmes minéraux relevants pour la biologie

Les minéraux importants pour les systèmes biologiques sont à répartir dans trois catégories selon l'utilisation qui en est faite par les organismes [15] disposant de systèmes cellulaires capables de synthétiser de telles phases minérales à partir d'ions inorganiques :

a. Les cristaux ayant un rôle **mécanique** : les phosphates de calcium chez les vertébrés (os, dents), les carbonates de calcium chez les invertébrés (oursin, moule, coquillages), et les silicates chez de nombreux végétaux.

b. Les cristaux ayant un rôle de **stockage et d'élimination** d'ions toxiques : le fer III est ainsi stocké au sein de la cavité creuse d'une protéine spécialisée, l'apoferritine [16], constituée d'un assemblage de 24 sous-unités protéiques. Cette protéine est présente aussi bien chez les bactéries que dans le monde animal et stocke le fer sous forme de ferrihydrite ($5\ Fe_2O_3$, $9\ H_2O$) en présence d'une quantité variable d'ions phosphate. Notons que le fer III utile est véhiculé dans le plasma sous forme d'un ion complexe au sein d'une protéine hydrosoluble : la transferrine.

On peut citer également diverses formes de sels de calcium, comme les oxalates de calcium qui interviennent dans la constitution des calculs rénaux.

c. Les **systèmes magnétiques** : ils jouent un rôle très important pour le déplacement des bactéries magnétostatiques et de certains oiseaux migrateurs [17].

Au total, plus d'une soixantaine d'espèces minéralisées ont été identifiées parmi les organismes vivants ou les fossiles de la biosphère terrestre [15].

Notons également qu'un grand nombre d'organismes animaux vivant dans les régions polaires sont munis de protéines jouant un rôle inhibiteur de la croissance cristalline de la glace (« antifreeze proteins ») [18-19].

Dans notre description du rôle des polymères sur la nucléation et la croissance cristalline, nous nous limiterons volontairement aux phosphates de calcium et aux carbonates de calcium. Ces phases cristallines sont particulièrement intéressantes car elles présentent toutes un polymorphisme caractéristique. Les carbonates de calcium peuvent exister sous forme de calcite ($K_{sp} = 3{,}31.10^{-9}$), d'aragonite ($K_{sp} = 4{,}61.10^{-9}$) et de vatérite ($K_{sp} = 1{,}22.10^{-8}$) dans l'ordre de solubilité croissante et donc de stabilité décroissante.

Tableau I - Les phosphates de calcium [20].

Nom	Abréviation (anglaise)	Formule empirique	Rapport Ca/P	Produit de solubilité (298 K, pH = 7)
Brushite ou phosphate dicalcique dihydratée	DCPD	$CaHPO_4.2H_2O$	1,0	$2,37.10^{-7}$
Phosphate dicalcique anhydre	DCPA	$CaHPO_4$	1,0	$9,2.10^{-7}$
Phosphate octacalcique	OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	1,33	5.10^{-50}
Phosphate tricalcique β	TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	$2,8.10^{-29}$
Hydroxyapatite	OHAP	$Ca_5(PO_4)_3OH$	1,67	$1,18.10^{-60}$
Apatites non stœchiométriques		$Ca_{10-u}(HPO_4)_u(PO_4)_{6-u}(OH)_{2-u}$ $0 \leq u \leq 2$	(10-u)/6	

Les différents phosphates de calcium, ainsi que leurs caractéristiques physico-chimiques sont répertoriés dans le *tableau I*.

Notons que l'on connaît également diverses apatites carbonatées de type A ou B (selon que l'ion carbonate remplace un ion phosphate ou un ion hydroxyde) ainsi que des apatites fluorées. Le lecteur intéressé trouvera une description plus complète des apatites dans l'article de C. Combes et C. Rey [21].

Le fait qu'il existe différentes phases possibles implique que la phase la plus soluble se forme en premier (loi du mûrissement d'Ostwald) et peut évoluer ultérieurement vers la phase la plus insoluble si la sursaturation est suffisante (principe de stabilité à température et pression constantes : $\Delta G \leq 0$). L'hydroxyapatite est le polymorphe le plus insoluble à 298 K et pH 7, mais ce n'est plus vrai en milieu nettement acide. Le lecteur intéressé trouvera un graphe représentant l'évolution de la stabilité relative des phosphates de calcium en fonction du pH dans l'article de G.H. Nancollas [10].

L'hydroxyapatite cristallise dans le système hexagonal (groupe spatial $P6_{3/m}$) et sa structure est représentée sur la *figure 5*. On remarquera avec intérêt la disposition des ions OH^- en colonne.

Difficultés et problèmes

Une molécule quelconque ou un polymère peut agir, comme cela a été expliqué dans le paragraphe précédent, soit :

- en agissant sur le phénomène de nucléation,
- en agissant sur la croissance cristalline. Dans ce cas, deux mécanismes sont possibles :

(i) une réduction de la sursaturation locale, et donc du degré de sursaturation par rapport à la phase solide considérée. Cela peut se produire par un effet de complexation spécifique de l'un des ions prenant part à la formation du solide.

(ii) une adsorption sur des sites de croissance de la phase solide et une inhibition de la croissance dans la direction perpendiculaire à la face (ou aux faces) contenant une forte concentration en tels sites. Si ces sites d'adsorption sont uniformément répartis sur les différentes faces du cristal (ce qui est assez improbable si l'on se rappelle que les cristaux ont des propriétés anisotropes résultant de la disposition périodique des ions constituant la base), alors une adsorption d'une telle molécule peut induire une cessation totale de la croissance si tous les sites de croissance sont recouverts. Dans le cas d'une adsorption préférentielle sur une face, il y a nécessairement modification de la morphologie du cristal [22-23] si la nucléation n'est pas inhibée par elle-même. Nous décrirons ce principe avec plus de détails dans le chapitre sur les mécanismes.

Il n'est pas exclu, *a priori*, qu'une combinaison des mécanismes (i) et (ii) soit possible.

Un très grand nombre d'études ont été consacrées à l'influence de divers polymères sur la croissance cristalline, en mettant dans la solution sursaturée non seulement des cristaux de la phase d'intérêt, mais encore des polymères [10, 24-26]. Dans ces études, on compare la vitesse de croissance en présence de polymère avec la vitesse de croissance en son absence. Les techniques d'étude employées sont décrites dans le chapitre suivant.

Le grand problème de toutes ces études tient pour l'essentiel à la **difficulté de distinguer le rôle des polymères dans la catalyse ou dans l'inhibition de la phase de nucléation**. Cela tient essentiellement à la difficulté de mesure de la formation de germes de très petite taille. Ces difficultés sont liées non seulement à la précision et à la sensibilité intrinsèques des dispositifs expérimentaux, comme nous l'avons déjà souligné, mais encore à la résolution temporelle des mesures : il faut en effet être capable d'acquérir le signal

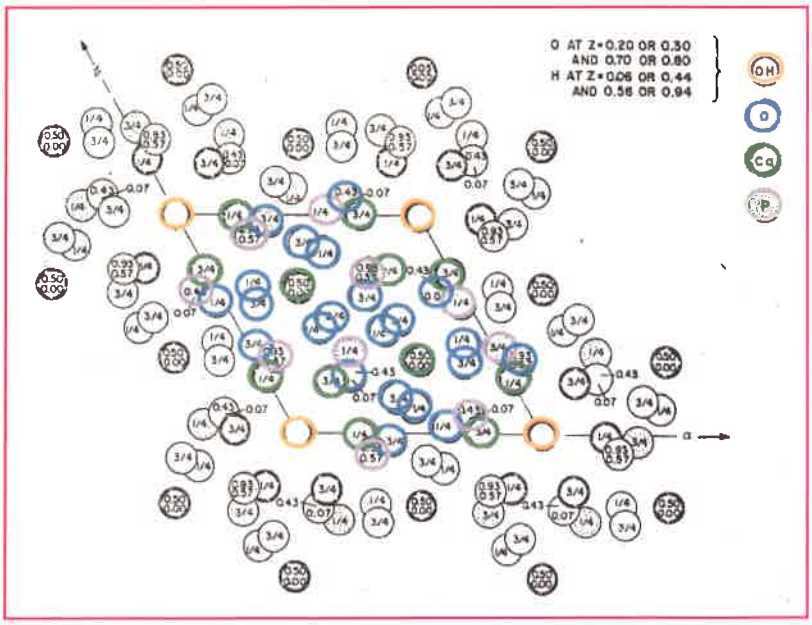


Figure 5 - Représentation de la maille conventionnelle de l'hydroxyapatite selon une coupe perpendiculaire à l'axe c.

avec un temps de mesure inférieur ou égal au temps caractéristique de formation des germes. Des progrès très importants ont été réalisés dans la mesure des cinétiques de nucléation de gouttes liquides au sein de phases gazeuses [27], ainsi que dans la modélisation des résultats expérimentaux obtenus essentiellement par diffusion de la lumière au sein de chambres de nucléation avec des simulations numériques [28]. Le fait que les avancées ont été beaucoup moins spectaculaires pour les études de nucléation d'espèces ioniques tient à la présence du solvant et à la nécessité de prendre en compte des interactions à longue portée comme les interactions électrostatiques.

Techniques d'étude

Méthodes physico-chimiques

• *Techniques d'étude des cinétiques de croissance et de nucléation*

***a.** *Mesures à composition constante : techniques électrochimiques*

Cette technique, basée sur l'utilisation d'électrodes spécifiques aux ions H^+ et aux ions Ca^{2+}, permet de suivre la réduction d'activité des ions Ca^{2+} et l'augmentation de celle des protons lors de la croissance de phosphates de calcium. De façon plus subtile, lorsque ces électrodes sont liées à des systèmes de rétroaction commandant l'injection de volumes connus de réactifs, on peut suivre les phénomènes étudiés **à activité constante** [29]. Cela est très important, car la sursaturation, force motrice de la nucléation et de la croissance cristalline, est alors maintenue constante. Cela revient à faire les études dans un système ouvert, proche de la réalité biologique. En effet, du calcium et des ions phosphates sont acheminés (en l'absence de carence alimentaire ou de dérèglement du métabolisme) de façon relativement régulière vers les sites de croissance osseuse grâce à un ensemble de systèmes de régulation (pompes spécifiques d'ions, calmoduline pour le cas des Ca^{2+}, phosphatase alcaline et hydrolyse de l'ATP pour les phosphates). De nombreux travaux ont été effectués grâce à ce type de dispositif expérimental, non seulement pour l'étude de la croissance de phases minéralisées en présence de biopolymères [30-32], mais encore pour l'étude de leur dissolution [33].

Dans ce type d'études, le temps d'induction τ est identifié comme l'instant auquel les microburettes commencent à injecter des réactifs dans la solution suite à une consommation ou une production d'espèces chimiques induites par la nucléation.

Des électrochimistes ont récemment mis au point un algorithme destiné à distinguer les phases de nucléation et de croissance cristalline d'espèces réductibles ou oxydables à une interface électrolyte-électrode [34]. A notre connaissance, ce type de méthode n'a pas encore été utilisé pour l'étude de systèmes d'intérêt biologique.

***b.** *Mesures à des interfaces liquide-air : croissance cristalline sous des films de Langmuir-Blodgett*

L'influence du rôle de couches monomoléculaires auto-assemblées sur la nucléation et la croissance cristalline peut être étudiée en sursaturant la phase aqueuse avec les ions d'intérêt. A notre connaissance, la cinétique de croissance n'a pas encore été suivie à de tels interfaces (par exemple par diffusion de RX résolue en temps aux petits angles). Mais le rôle joué par la nature chimique des groupements polaires des molécules amphiphiles, ainsi que leur distance moyenne (contrôlée par la barrière mobile de la cuve de Langmuir et par la mesure de la pression interfaciale du film, *figure 6*) ont clairement pu être mis en évidence. L'orientation préférentielle des cristaux ainsi que la sélection d'un polymorphe au détriment d'un autre ont également été observées [36-37] par suite du prélèvement des cristaux formés et leur analyse par microscopie électronique et par diffraction des rayons X. Ce type d'études est très important pour la compréhension de phénomènes de cristallisation naturels se produisant sur la paroi interne des membranes des vésicules matricielles synthétisées par des cellules spécifiques, tels les ostéoblastes au sein du tissu osseux, car en dehors de protéines spécifiques (dont nous allons décrire le rôle), les surfaces membranaires chargées sont connues pour jouer un rôle non négligeable.

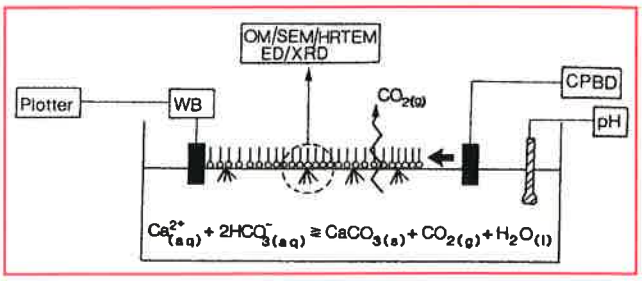


Figure 6 - Étude de la croissance cristalline de carbonate de calcium sous une monocouche adsorbée à l'interface air-eau au sein d'une cuve de Langmuir.
OM : microscopie optique ; SEM : microscopie électronique à balayage ; HRTEM : microscopie électronique de haute résolution ; ED : diffraction des électrons ; XRD : diffraction des rayons X ; WB : balance de Wilhelmy ; CPBD : barrière permettant le contrôle de la pression interfaciale (reproduit de [35]).

Ce type d'études est particulièrement développé dans les groupes de M. Lahav [38] et J.T. Groves [39] qui ont réussi à démontrer le rôle de l'épitaxie et de la promotion de changements de phases dans la sélection des phases minérales formées sous le film auto-assemblé.

Il faut noter encore que la technique des films minces fonctionnalisés est très utile pour la production de cristaux bidimensionnels de protéine, permettant ainsi leur étude structurale par microscopie électronique à haute résolution [40]. Cette approche se révèle très fructueuse dans le cas où la protéine est difficilement cristallisable.

***c.** *Mesures de diffusion de la lumière et de turbidité*

Nous avons déjà montré un exemple d'utilisation de mesures de turbidité pour l'étude de la croissance cristalline (*figure 4*). L'utilisation de la diffusion quasi-élastique de la lumière peut permettre non seulement de déterminer des temps d'induction, le temps à partir duquel la solution commence à diffuser fortement, mais encore la distribution de taille des particules formées. Cependant, de nombreuses difficultés se présentent, notamment celles liées à la présence d'une solution sursaturée et donc la forte probabilité de se trouver dans un régime où les particules interagissent fortement. On est alors en régime de diffusion multiple et l'analyse du signal devient fort complexe. La diffusion de la lumière a été très utilisée pour l'étude de la cristallisation des protéines [41], mais à notre connaissance, il n'y a pas eu d'étude effectuée dans le domaine de la biominéralisation, probablement en raison des difficultés évoquées.

***d.** *Mesures couplant l'interférométrie et la microscopie par force atomique*

Les mesures interférométriques (à l'aide d'interféromètres de Michelson ou de Mac Zhender) sont utilisées depuis de

nombreuses années pour l'étude de la croissance cristalline car elles permettent de suivre le gradient d'indice de réfraction à l'interface cristal-solution et ainsi de donner des informations sur la vitesse de croissance et l'importance des phénomènes de transport dans le mécanisme de croissance [42].

Cependant, cette technique ne permet pas l'étude du phénomène de nucléation. Récemment, ces techniques interférométriques ont été couplées à la microscopie à force atomique (en mode contact et en mode oscillant) pour étudier l'effet d'impuretés tels que les ions Mg^{2+} et Zn^{2+} sur la nucléation secondaire induite par les faces (0001) des cristaux d'hydroxyapatite immobilisés [43]. Une autre étude a permis la mesure des temps d'induction et des vitesses de croissance de phosphates de calcium sur des monocouches auto-assemblées d'acide-11-mercaptoundécanoïque sur l'or [44]. Cette dernière étude est également intéressante par l'utilisation de la spectroscopie des photoélectrons X pour la mesure de l'évolution du signal Ca2p et P2p qui révèle l'évolution du taux d'occupation des cristaux sur le film auto-assemblé.

***e.** *Mesures de réflectivité aux interfaces : une technique permettant le suivi cinétique de la nucléation et de la croissance cristalline à des interfaces solide-liquide*

Cette approche, proposée par notre équipe, permet de suivre *in situ* et en temps réel, la nucléation et la croissance cristalline à une interface solide-liquide. On utilise pour cela la propriété de la dépendance des coefficients de réflexion avec la polarisation de l'onde électromagnétique incidente. En particulier, la réflectivité de l'onde *p*, l'onde polarisée dans le plan d'incidence est donnée par :

$$r_p = [n_2\cos\theta_1 - n_1\cos\theta_2]/[n_2\cos\theta_1 + n_1\cos\theta_2] \qquad (14)$$

En combinant cette relation avec la loi de Snell-Descartes pour la réfraction, il est facile de démonter que r_p s'annule pour un angle d'incidence θ_1 particulier, l'angle de Brewster, dans le cas d'un profil d'indice de réfraction en marche d'escalier, c'est-à-dire en l'absence de film adsorbé. Cet angle, noté θ_p, est donné par :

$$\tan\theta_p = n_2/n_1 \qquad (15)$$

L'onde *s*, polarisée perpendiculairement à l'onde *p*, ne possède pas une telle propriété d'extinction pour un angle d'incidence particulier.

Ainsi, la technique expérimentale de la réflectométrie à balayage angulaire, développée au sein de notre laboratoire [45] et dérivée de l'ellipsomètre classique, utilise uniquement l'onde *p* sélectionnée par un polariseur avant l'incidence sur l'hypoténuse d'un prisme rectangle isocèle qui sert de surface d'étude. C'est ainsi une technique très sensible à la présence d'un film mince adsorbé. En effet, l'adsorption de dipôles conduit à l'apparition d'un signal au niveau de la photodiode de détection pour une incidence égale à l'angle de Brewster. On mesure le signal réfléchi autour de l'angle de Brewster par rotation de la cellule et du bras qui porte la photodiode D (*figure 7*).

L'épaisseur optique et l'indice de réfraction du film adsorbé sont alors calculés en ajustant la courbe de l'intensité réfléchie en fonction de l'angle d'incidence (pour l'onde *p*) par un modèle adéquat de l'interface : modèle de la monocouche homogène et isotrope, modèle de bicouche, modèle des invariants optiques...

Cette technique nous a permis d'étudier les cinétiques d'adsorption de protéines [46], de particules colloïdales [47], les mécanismes de reconnaissance antigène-anticorps [48]

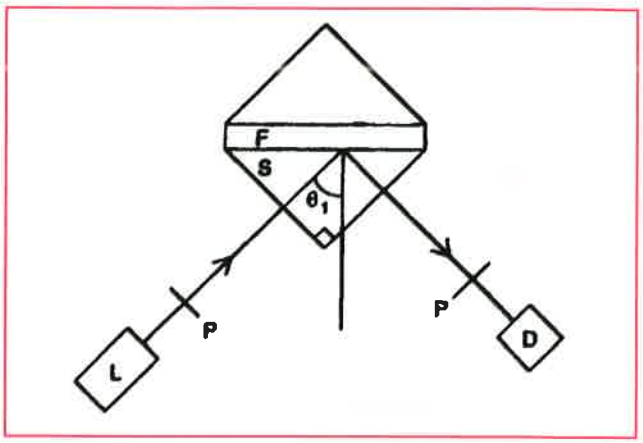


Figure 7 - Schéma de principe du réflectomètre à balayage angulaire.

L : laser He-Ne, λ = 632,8 nm ; P : polariseur permettant de sélectionner l'onde *p*, polarisée dans le plan d'incidence ; S : prisme isocèle à angle droit permettant le dépôt de polymères et l'étude de la croissance cristalline à l'interface silice-eau ; D : détecteur, photodiode permettant la mesure de l'intensité lumineuse réfléchie.

et le mécanisme de construction de films de polyélectrolytes auto-assemblés par interactions électrostatiques [49-50].

Nous avons pensé à utiliser cette technique pour le suivi de la nucléation et de la croissance cristalline pour trois raisons :

(i) la sensibilité optique : possibilité de détecter des couches minces (quelques Å) pourvu que l'indice de réfraction soit élevé, ce qui est le cas pour des phases minérales considérées ;

(ii) la possibilité d'injecter des solutions sursaturées de façon continue dans la cellule du réflectomètre : on peut ainsi éviter la diminution de sursaturation subséquente au début de la croissance cristalline et se placer ainsi dans des conditions identiques à celles utilisées dans les expériences effectuées à composition constante (voir le paragraphe a) ;

(iii) la mesure de la nucléation hétérogène uniquement au niveau de l'interface. En effet, la profondeur de pénétration de l'onde dans la solution aqueuse n'est que de l'ordre d'une centaine de nanomètres. De plus, si des cristaux se forment en solution et s'ils sédimentent, ils viendront se déposer au fond de la cellule mais pas sur la surface d'étude qui est verticale.

Hélas, la réalisation du point (ii) s'est révélée impossible puisque les solutions sursaturés en ions Ca^{2+} et phosphates (d'un facteur 25 par rapport à OHAP) ont précipité spontanément lors de l'introduction dans la cellule. La cellule du réflectomètre a ainsi été remplie avec la solution sursaturée, mise en place sur le porte cellule, et l'intensité réfléchie suivie en fonction du temps. Le temps d'induction τ correspond alors à l'intervalle de temps séparant le remplissage de la cellule et le début de l'augmentation du signal correspondant à l'intensité de l'onde *p* réfléchie autour de l'angle de Brewster. Nous détaillerons, dans la dernière partie de ce cours, l'influence de la poly(allylamine) (PAH) et du poly(styrène-4-sulfonate) (PSS) adsorbés comme couche ultime d'un film de polyélectrolytes sur la nucléation et la croissance cristalline de phosphates de calcium [51].

Notons qu'une étude préliminaire [52], effectuée en l'absence de polymère adsorbé sur le prisme en silice, nous a permis de montrer que la surface de silice induisait la nucléation et la croissance cristalline de brushite (identifiée par IRTF et par diffraction des RX), à partir d'une solution

sursaturée par rapport à l'apatite. Nous avons réussi à expliquer ce phénomène par le calcul du pH local au voisinage immédiat des groupements silanols de la surface à l'aide du modèle de Healy et White [53]. Dans les conditions expérimentales utilisées, le pH calculé au voisinage immédiat de la surface est de 5,34 (pour une valeur de 6,8 en solution) : on se trouve donc dans des conditions moins favorables pour la formation de OHAP. Néanmoins, pour une telle valeur du pH, l'hydroxyapatite reste la phase la plus insoluble, et on se trouve donc en présence d'un effet cinétique : c'est la brushite qui est formée le plus rapidement, mais la barrière d'activation permettant la transformation en une phase plus insoluble ne peut pas être franchie.

La technique du guide d'onde à optique intégrée [54] permet également de mesurer les épaisseurs, les indices de réfraction et donc les quantités adsorbées à l'interface, suite à la mesure des vitesses de phase des ondes *s* et *p* confinées au sein d'un guide d'onde plan (constitué d'un mélange de SiO_2 et de TiO_2) pris en sandwich entre la phase aqueuse et le substrat en silice. Nous avons récemment utilisé cette technique [55] pour mesurer la nucléation et la croissance cristalline interfaciale du lysozyme de blanc d'œuf en présence d'ions SCN^-, qui sont connus pour induire la cristallisation de cette protéine [56]. Cette technique est maintenant utilisée pour l'étude de la nucléation secondaire de phosphates de calcium induite par des cristaux d'hydroxyapatite adsorbés sur un film de polyélectrolytes.

***f.** *Techniques de diffusion d'ions dans des gels*

Cette technique, développée initialement par le groupe d'H.A. Goldberg [57-59], présente l'inconvénient que les ions diffusent progressivement dans un gel d'agarose de manière à ce que la sursaturation évolue progressivement au cours de l'expérience. En contrepartie, le grand avantage de la technique repose sur l'analogie qu'offre cette approche avec l'environnement présent au sein des matrices extracellulaires. Les processus de biominéralisation se produisent au sein de telles assemblées supramoléculaires, en présence de collagène, de polysaccharides tels l'acide polyhyaluronique et diverses protéines spécifiques. Des protéines trouvées dans les matrices extracellulaires telles que l'ostéopontine, l'ostéocalcine, la protéine de la morphogénèse osseuse (BMP) peuvent être introduites dans un tel environnement après une étape d'extraction et de purification. Les cristaux formés sont alors analysés par les techniques de caractérisation classiques.

Cette approche a été étendue récemment à des gels de collagène en présence de chondroïtine sulfonatée et de biglycane [60]. Les premiers polymères induisent une rupture du gel, tandis que les seconds induisent une réticulation du gel et permettent de limiter la taille des cristaux d'hydroxyapatite formés.

Notons enfin l'approche introduite par le groupe de R. Kniep [61] où les ions calcium d'une part, les ions phosphates et fluorure d'autre part, diffusent progressivement vers le gel de collagène compris dans un conteneur en verre (*figure 8*). Les différents stades de la croissance cristalline ont pu être étudiés *in situ* en présence d'un champ électrique uniforme. Nous discuterons les résultats obtenus dans le chapitre sur les mécanismes.

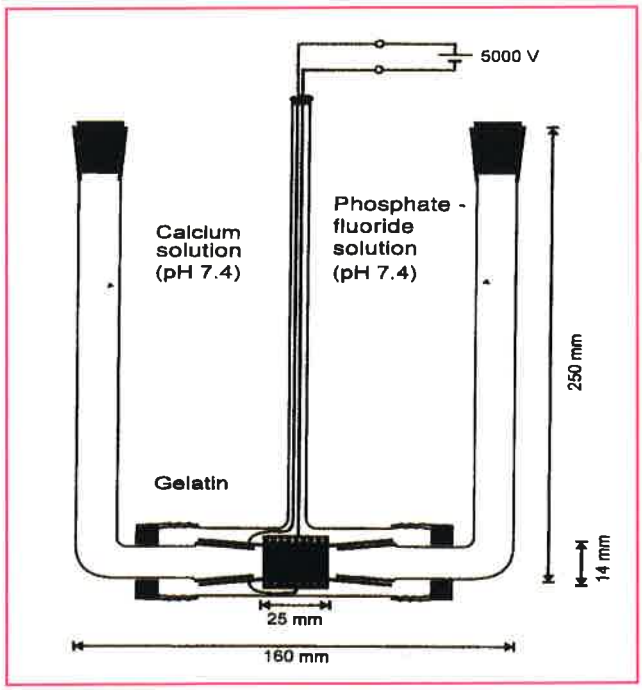


Figure 8 - Chambre permettant la diffusion double des ions vers la région d'étude où l'on applique un champ électrique uniforme.
Le gel de collagène se trouve entre les deux électrodes (reproduit de [61]).

• ***Techniques de caractérisation des phases formées***

Nous ne décrirons pas cet aspect classique de la biominéralisation qui est développé de façon détaillée dans des ouvrages de référence ainsi que dans de nombreux travaux de notre groupe [62] et d'autres [63-64]. Les techniques utilisées sont essentiellement les différentes techniques de microscopie électronique, la diffraction des rayons X, la spectroscopie infrarouge et la microspectroscopie IR à transformée de Fourier [65-66]. Notons que toute étude cinétique nécessite la caractérisation des phases formées, car la mesure d'un temps d'induction ou d'une vitesse de croissance cristalline ne donne aucune information sur la nature et le degré de cristallinité de la phase formée. De plus, la compréhension des mécanismes de croissance de phases minérales peut aussi faire intervenir des techniques d'études structurales. Les études effectuées au sein des groupes de S. Mann et de L. Addadi-S. Weiner sont très significatives de ce type d'approche. Nous y reviendrons dans le chapitre consacré aux mécanismes de minéralisation.

Approches biologiques

Les avancées de la biologie moléculaire, notamment la réaction de la polymérase en chaîne, permettent de produire des mutants de protéines dont on suspecte le rôle dans la biominéralisation. Ces mutants diffèrent de la protéine native par remplacement d'un ou plusieurs acides aminés en des positions soigneusement sélectionnées le long de la séquence de la protéine. On peut ainsi déterminer les acides aminés qui jouent un rôle critique dans l'inhibition ou la promotion de la croissance cristalline. Une étude remarquable [67] a montré que la mutation de six résidus acides de la protéine G des streptocoques induisait une réduction de la vitesse de croissance de l'oxalate de calcium de plus de 60 % par rapport à la protéine native à quantité adsorbée constante (*figure 9*). Dans cette étude, les protéines ont été adsorbées sur des cristaux précurseurs d'oxalate de calcium, leur adsorption a été quantifiée par radiomarquage à l'^{125}I et la vitesse de croissance mesurée

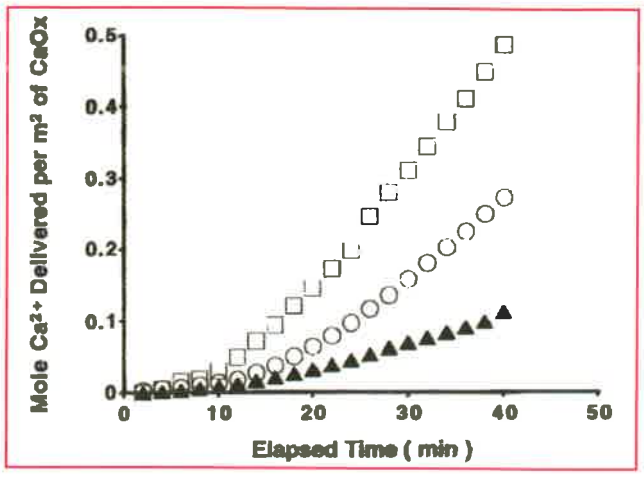


Figure 9 - Croissance cristalline d'oxalate de calcium (sursaturation = 3, force ionique totale = 10 mM) sur des cristaux d'oxalate de calcium en l'absence de protéine adsorbée (○) et en présence de 0,14 µmol.m^{-2} de protéine native (❑) ou mutée (mutant ▲) (reproduit de [67]).

par la méthode de la composition constante (voir a). Les auteurs ont également calculé la modification du potentiel électrique de surface induite par les six mutations grâce au module Delphi du logiciel Insight II.
Les mutations effectuées entraînent la disparition d'un des deux lobes présentant un potentiel de surface négatif et une réduction de la quantité maximale adsorbée d'un facteur deux. La conformation d'ensemble de la protéine n'est pas altérée par ces mutations et les régions chargées positivement sont conservées. On peut alors penser que la protéine native s'adsorbe préférentiellement avec un de ses lobes négatifs sur la surface des cristaux de CaC_2O_4, en laissant cependant une région chargée négativement orientée vers la solution sursaturée. C'est grâce à cet excédent de charge négative que la protéine native est capable d'accélérer la croissance cristalline par rapport aux cristaux dépourvus de protéines adsorbées. En revanche, la protéine mutée ne peut s'adsorber sur la surface qu'à l'aide de son unique région négative (et donc avec une affinité et une quantité maximale adsorbée moindres), laissant ainsi une région chargée positivement au contact de la solution sursaturée. C'est cette augmentation de densité de charge positive à la surface de certaines faces cristallines qui est supposée être à l'origine du ralentissement de la croissance cristalline.
Ce travail remarquable constitue, à notre connaissance, la première étude combinant une approche de biologie moléculaire, de physico-chimie et de modélisation moléculaire visant à comprendre un mécanisme moléculaire de biominéralisation. Il constitue donc une extension intéressante du travail de précurseur effectué par les groupes de G.H. Nancollas [68] et L. Addadi [22-23].

Approches biomimétiques : l'apport de la chimie

Il s'agit de produire à l'aide de polymères ou de systèmes moléculaires auto-assemblés des édifices présents dans les organismes vivants et d'utiliser ces systèmes pour la synthèse de nouveaux matériaux. Le lecteur intéressé pourra se référer aux études récentes du groupe de W. Tremel [69], de A. Bigi [70] et de T. Kato [4]. Ces travaux portent tous sur l'immobilisation de polymères sur des surfaces et l'étude de leur influence sur la croissance cristalline de carbonates de calcium [4, 69] ou de phosphates de calcium [70]. L'étude de Bigi montre que la seule présence du gel de gélatine-polyacrylate ne suffit pas à obtenir de l'hydroxyapatite, il faut encore leur appliquer une **déformation importante** (100 % d'élongation longitudinale). Cette dernière observation pourrait avoir une forte relevance biologique puisque le plus souvent les matrices extracellulaires sont au contact d'un faisceau de microtubules capable d'orienter les composants actifs de cette matrice. De plus, il est bien connu que l'application de contraintes mécaniques peut favoriser le remodelage osseux (on consultera avec attention l'article d'A. Meunier [71]). Ce genre d'aspects mécaniques semble avoir été négligé dans les études des mécanismes de biominéralisation (on consultera cependant avec intérêt l'article de revue récent de S. Mann [72]).
Un matériau idéal pour la croissance osseuse doit posséder une porosité et une orientation mésoscopique identiques à celles des tissus au sein duquel il doit être implanté, sans induire de réponse immunitaire. Des émulsions d'eau dans des solvants organiques ont été utilisées pour la préparation de carbonates de calcium poreux en forme de nids d'abeille [73]. Dans le même ordre d'idée, on a pensé à utiliser de la nacre poreuse pour la biominéralisation osseuse en présence d'ostéoblastes [74]. On pourra trouver une bibliographie étendue de l'importance du biomimétisme dans la compréhension des phénomènes de biominéralisation dans un article récent de A.L. Boskey [75].

Mécanismes de minéralisation en présence de polymères

Jusqu'à présent, nous avons décrit des principes généraux décrivant les modes d'action possibles des biopolymères, ainsi que les méthodes expérimentales utilisées pour étudier leur effet. Il est temps maintenant de décrire plus en détail l'état des connaissances sur le rôle de différents groupements chimiques présents ainsi que sur le rôle de la conformation des biopolymères. Nous avons déjà souligné le fait qu'un polymère pouvait jouer un rôle en abaissant le degré de sursaturation en solution (par complexation des ions) ainsi que par adsorption sur des faces en croissance, entraînant ainsi un blocage ou une augmentation de l'affinité de certains sites.

Influence sur la morphologie

Si une molécule quelconque s'adsorbe sur les sites de croissance d'une face cristallographique donnée, disons la face notée C (*figure 10*), et entraîne une inhibition de la croissance, alors la vitesse de croissance de C est fortement réduite par rapport à celle des faces non affectées (notées A). En conséquence, en fin de croissance cristalline, l'aire relative des faces C est beaucoup plus importante que celle des faces A.
Ce principe général a été grandement exploité pour comprendre le rôle des glycoprotéines acides extraites de divers mollusques sur la croissance cristalline de carbonates de calcium [22-23]. Pourtant, la première protéine acide extraite d'un tissu minéralisé est la phosphoryne de la dentine [77], i.e. une protéine issue d'un vertébré. Hélas, l'état des connaissances est beaucoup moins développé pour les tissus minéralisés à base de phosphates de

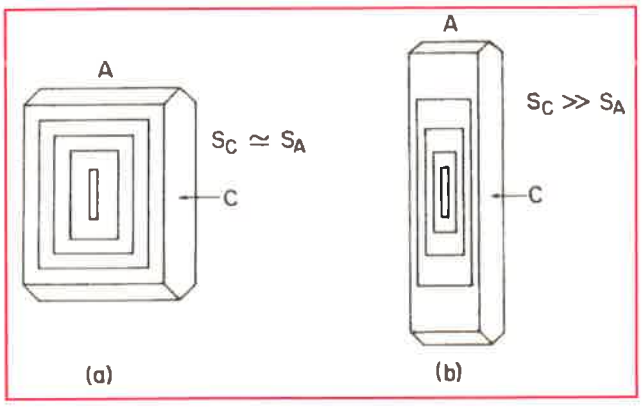


Figure 10 - Représentation schématique de la croissance d'un cristal sous forme de plaquette en l'absence d'inhibiteur spécifique (**a**) et en présence d'un inhibiteur spécifique de la face C (**b**).
La vitesse de croissance dans la direction perpendiculaire à C est fortement ralentie et le cristal se développe sous forme d'une aiguille le long de la direction perpendiculaire aux faces A (reproduit de [76]).

calcium que pour ceux à base de carbonates de calcium : commençons donc par ces derniers.
L'adsorption des glycoprotéines fortement acides sur les faces affectées a été directement mise en évidence par l'utilisation de protéines marquées à l'aide de fluorophores. Une analyse en acides aminés a montré que ces protéines contenaient jusqu'à 40 % en acides aspartiques (ionisés à pH 7) et leur séquençage partiel a montré l'existence de structures du type $(Asp\text{-}R\text{-}Asp)_n$, où Asp représente un aspartate et R un acide aminé quelconque. Ce genre de motif favorise la formation d'éléments de structure secondaire en **feuillet** β, i.e. des chaînes parallèles ou antiparallèles semblables à un morceau de tôle ondulée. De plus, le calcul de la distance entre deux résidus Asp successifs donne une valeur comprise entre 6,7 et 6,8 Å, en très bon accord avec la distance moyenne entre deux anions de nombreux sels de calcium. Ces sels existent souvent sous forme de feuillets de cations alternés entre deux couches d'anions. Ainsi, en s'adsorbant avec la bonne conformation, la protéine peut bloquer des sites négatifs et ainsi inhiber la croissance. Il s'agit donc d'un genre d'épitaxie, mais qui conduit à une inhibition de croissance dans une direction donnée. **Ce qu'il faut retenir, c'est que ce n'est pas seulement la densité de charge qui importe, mais encore un arrangement régulier des groupements chargés ainsi qu'une conformation adéquate des polymères adsorbés sur une face cristalline particulière.**
Il est surprenant que ces glycoprotéines acides fassent davantage appel aux résidus aspartates qu'aux glutamates. Les premiers résidus comportent un seul groupement méthylène entre le carbone α et le groupement carboxylique, alors que le groupement glutamate en comporte deux. Cela devrait assurer davantage de flexibilité au groupement carboxylique et un meilleur ajustement de la distance entre deux COO^- voisins. Ceci reste une question encore irrésolue... mais en relation probable avec une tendance marquée des résidus aspartates à favoriser des conformations sous forme de feuillets β.
La situation est illustrée sur la *figure 11* pour l'interaction d'une protéine riche en aspartate avec la face (010) du fumarate de calcium [78].
Qu'en est-il de la disposition de ces protéines au sein du cristal formé ? Elles peuvent apparaître à deux niveaux : soit à l'intérieur du cristal (qui est donc un matériau composite), soit à la frontière entre le cristal et la matrice extracellulaire. Dans ce dernier cas, elles sont souvent adsorbées sur un film de chitine (le polymère le plus abondant dans la nature). Il a été démontré que la constitution d'un film mixte chitine-polyaspartate sur la surface d'une boîte de Pétri permettait de reproduire *in vitro* des feuillets de calcite tels que ceux représentés sur la *figure 1* [4]. Il est clair que dans tous les cas étudiés, ces protéines ne représentent jamais plus que quelques % en masse de l'ensemble du tissu minéralisé, ce qui suggère donc que leur action est importante plutôt à l'état adsorbé qu'à l'état libre en solution. Cela incite aussi à être prudent : ces expériences *in vitro* reproduisent-elles nécessairement les mécanismes qui ont lieu *in vivo*, c'est-à-dire en présence d'un mélange de protéines et de polysaccharides différents ?
Nous venons de voir que les protéines acides pouvaient inhiber, par épitaxie, la croissance de certaines faces spécifiques. Mais elles n'inhibent pas l'ensemble du processus car des cristaux sont bien observés ! Notons que même pour un polymorphe donné, l'aragonite par exemple, la forme des cristaux formés change d'un mollusque à l'autre (*figure 12*). C'est que la nature des glycoprotéines acides change ainsi que la façon dont ces protéines s'arrangent au sein de la matrice extracellulaire.

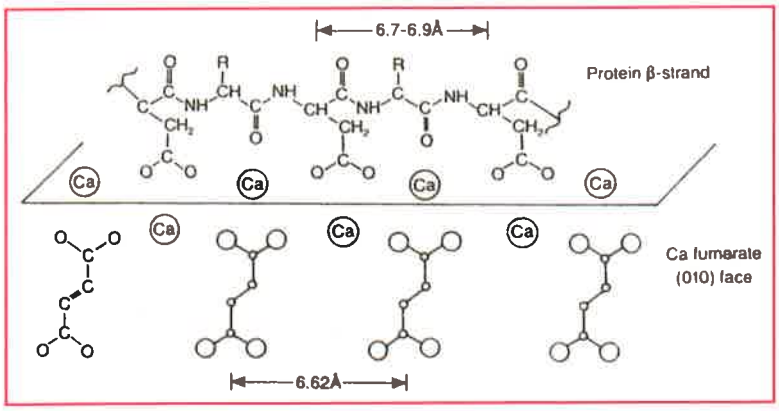


Figure 11 - Représentation schématique d'un feuillet β d'une protéine riche en acide aspartique, adsorbée sur la face (010) du fumarate de calcium (bas de la figure).
Le même motif structural a été identifié pour d'autres sels d'acides dicarboxyliques du calcium, pour la calcite et même pour des phosphates de calcium.

Il est remarquable que les protéines acides considérées sont non seulement spécifiques d'une espèce, mais également d'un polymorphe du carbonate de calcium. Ainsi, des protéines acides issues des couches aragonitiques de certains mollusques induisent spécifiquement la croissance du même polymorphe lorsque ces macromolécules sont adsorbées sur de la β-chitine ou de la fibroïne de soie après purification [79].
Les protéines acides considérées jouent non seulement sur le contrôle de la forme des cristaux et leur vitesse de croissance, mais favorisent également la nucléation des phases considérées par le biais d'un mécanisme coopératif (*figure 13*) entre les groupements aspartates et les polysaccharides sulfonés qui sont liés à certains acides aminés par le biais d'oligosaccarides. Ces groupements sulfonates semblent attirer les ions calcium vers les groupements carboxylates de la protéine adsorbée sur la matrice extracellulaire. Cela a été démontré de façon fort élégante [80]. Ainsi, la coopérativité des groupements sulfonates et carboxylates permet de nucléer une

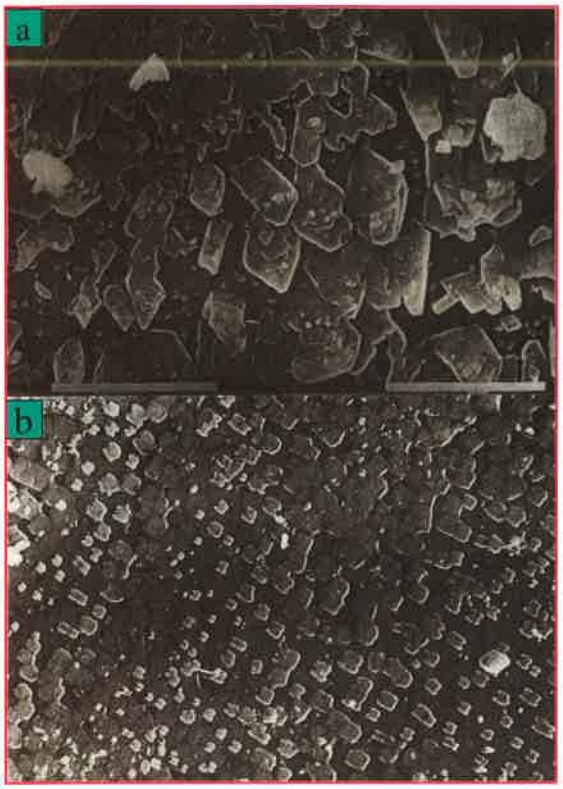


Figure 12 - Images de cristaux d'aragonite formés par les cavités internes de deux bivalves : **a)** *Eliptio complanata* et **b)** *Brachiodontus variabilis*.
La barre d'échelle horizontale représente 10 µm sur les deux parties de la figure (reproduit de [78]).

phase à partir d'une protéine adsorbée. Mais cette protéine existe aussi en solution ou à l'autre extrémité de la matrice extracellulaire : quand elle vient s'adsorber sur la face appropriée du cristal en croissance, elle joue alors son rôle d'inhibiteur de croissance cristalline. La même protéine joue donc les deux rôles fondamentaux en induisant la nucléation et l'inhibition contrôlée et stéoréosélective de la croissance. C'est ce double rôle qui justifie que l'on trouve ces protéines à la fois sur la surface de la matrice extracellulaire (rôle de nucléation) et entre les cristaux (inhibition).

Il semble aussi que les groupements acides ne doivent pas complexer le calcium avec une affinité trop élevée, mais doivent être disposés de façon ordonnée sur une surface afin de guider la disposition des cations de la phase minérale. S. Mann suggère également l'importance de la **concavité de la matrice extracellulaire** [35] : ainsi, une protéine acide déposée sur un substrat convexe n'a pas le même effet que la protéine identique dans un environnement concave. En effet, au sein d'un environnement concave, les ions sont piégés pendant une durée plus longue, ce qui optimise la probabilité de trouver le site d'interaction optimal. Notons que ce critère n'est pas absolu puisque l'on observe la croissance cristalline à la surface de monocouches lipidiques [36, 64]. Peut-être faut-il prendre en compte les ondulations de la membrane et la présence de défauts comme sites de nucléation potentiels ?

L'acide polyaspartique et l'acide polyacrylique en solution aqueuse inhibent fortement la nucléation et la croissance cristalline des carbonates de calcium [81], tandis que les mêmes polymères favorisent la nucléation hétérogène et la croissance cristalline lorsqu'ils sont adsorbés sur un film de chitosan.

Notons enfin qu'il n'est pas à exclure que les polymères hydrophobes des matrices extracellulaires participent également au processus de minéralisation. Ainsi Manoli et Dalas [32] ont montré que l'élastine, une protéine présente au sein des parois artérielles, hydrophobe et riche en glycine, pouvait induire la nucléation hétérogène et la croissance de calcite à partir de solutions faiblement sursaturées (sursaturation de l'ordre de 10 par rapport à la calcite). Qu'en est-il de la fibroïne et du chitosan qui sont fréquemment employés comme substrats d'adsorption pour les protéines acides ? Ils peuvent bien sûr jouer un rôle, mais celui-ci peut être masqué si le taux de couverture des protéines acides adsorbées est élevé...

Pour en finir avec ces aspects, qu'en est-il pour les phosphates de calcium ?

De nombreuses protéines acides et/ou phosphorylées sont connues pour leur rôle d'inhibiteur ou de promoteur de la croissance des phosphates de calcium. La première fut la phosphophoryne issue de la dentine [77]. Il est clair que la présence d'inhibiteur et d'activateur de croissance doit être modifiée au cours des différents stades de croissance de l'individu [26]. De nombreuses études de biologie du développement sont consacrées à ces aspects, mais nous ne pouvons nous y intéresser ici. Des mécanismes de réparation doivent également pouvoir être mis en œuvre et des pathologies telles que l'ostéoporose sont liées à des déficits en protéines inductrices. D'où l'importance d'identifier les principales protéines impliquées et leur mécanisme d'action. Il est ainsi connu que la sialoprotéine osseuse et la phosphophoryne de la dentine sont des activateurs de la nucléation des phosphates de calcium sans affecter la croissance cristalline ultérieure [59]. D'un autre côté, l'ostéopontine [58], l'ostéocalcine et l'ostéonectine ne jouent pas de rôle dans la nucléation mais sont des inhibiteurs efficaces de la croissance cristalline [59]. L'importance de l'ostéopontine semble reliée à la présence de résidus phosphorylés : en effet, l'action de la phosphatase alcaline permet d'hydrolyser 84 % des résidus phosphorylés de cette protéine et entraîne une réduction de son pouvoir inhibiteur d'un facteur 40 [58]. Les résidus portant des groupements carboxylates jouent également un rôle important puisque leur estérification (quasi quantitative)

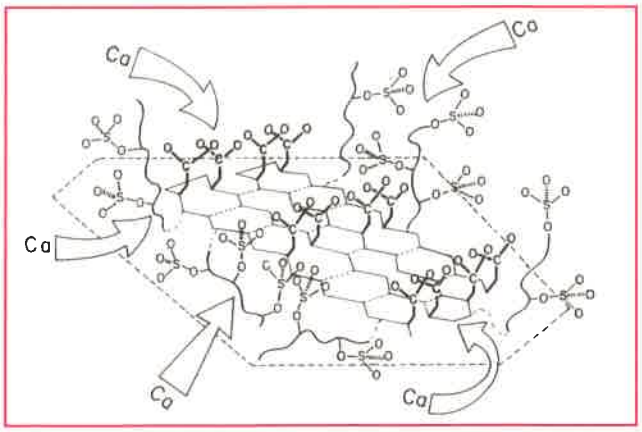


Figure 13 - Représentation schématique d'un site de nucléation d'une glycoprotéine acide adsorbée sur un substrat rigide.
Les groupements sulfonates servent à augmenter localement la concentration en ions Ca^{2+} au voisinage des groupements carboxylates présents dans les feuillets β de la protéine (reproduit de [76]).

entraîne une réduction supplémentaire du pouvoir inhibiteur d'un facteur 6 [58]. La phosvitine, également riche en acides aminés phosphorylés, joue aussi un rôle d'inhibiteur de la croissance cristalline [58]. L'effet de l'ostéonectine a été confirmé de façon indépendante par le groupe de K.G. Mann [25]. De même, l'acide poly-γ-carboxyglutamique issu de l'os a un rôle d'inhibiteur de croissance qui est réduit suite à une décarboxylation partielle [25]. Dans toutes ces études, l'activité inhibitrice est mesurée « à la façon des enzymologies », à savoir par la concentration en protéine nécessaire à la réduction de la vitesse de croissance d'un facteur 2 par rapport à la même solution sursaturée mais en l'absence de protéine.

Il a également été établi que l'acide polyaspartique jouait un rôle d'inhibiteur de croissance lorsqu'il est présent en solution aqueuse et ceci à une concentration aussi faible que $3{,}9.10^{-9}$ mol.L^{-1} [58]. De façon toute aussi intéressante, l'acide polyglutamique est un inhibiteur nettement moins efficace. Ceci est peut-être à relier à l'importance des résidus d'acide aspartique au sein des glycoprotéines acides de la matrice extracellulaire des coquillages et mollusques [76]. Il a également été démontré que dans une série de polymères phosphorylés, l'efficacité des groupements phosphonates dépendait de leur densité le long de la chaîne ainsi que de leur accessibilité au solvant [82]. Ainsi, seuls les groupements phosphonates accessibles aux ions calcium sont efficaces pour l'augmentation de la vitesse de précipitation.

Force est de reconnaître que la connaissance des mécanismes impliqués dans la croissance des phosphates de calcium est moins avancée que celle des carbonates de calcium. Ceci est dû au grand nombre de biopolymères impliqués et illustre bien que les vertébrés, qui minéralisent des phosphates de calcium, sont des organismes qui mettent en jeu des systèmes de régulation bien plus sophistiqués que les mollusques. Et il est loin d'être sûr que toutes les protéines impliquées aient été identifiées ! Elles sont en effet pour la plupart fortement liées au collagène et de ce fait très difficiles à purifier. Il est cependant établi que les protéines jouant un rôle inhibiteur de la croissance cristalline s'adsorbent sur l'hydroxyapatite [83-85]. Afin de clarifier la situation, de nombreuses recherches se concentrent sur l'effet d'acides aminés individuels en présence de cristaux d'hydroxyapatite [86-88]. L'influence de ces acides aminés sur la croissance cristalline à partir des germes d'OHAP introduits dans la solution sursaturée est ainsi corrélée à leur adsorption sur les cristaux. De façon très intéressante, le pouvoir inhibiteur est directement corrélé à l'hydrophobie des acides aminés [86] : leur parties polaires interagissent préférentiellement avec les faces chargées de l'OHAP, tandis que les groupes apolaires sont exposés au solvant dont ils modifient la structure locale et contribuent à réduire la concentration des ions libres au voisinage de l'interface cristal-solution. Ce mécanisme d'action rappelle celui des protéines « antigel » évoqué précédemment [18-19].

De nombreuses études récentes se focalisent sur l'influence de polymères diblocs amphiphiles sur la morphologie des phosphates de calcium [72, 89]. Le groupe de S. Mann a ainsi démontré l'influence du pH, et donc de la conformation du polymère utilisé (*figure 14*).

Quel est le rôle des fibres **collagène** au sein desquelles les cristaux d'apatite sont rangés dans l'os [90] ? Le collagène représente une fraction massique élevée au sein des tissus calcifiés. Rappelons que le collagène forme une triple hélice,

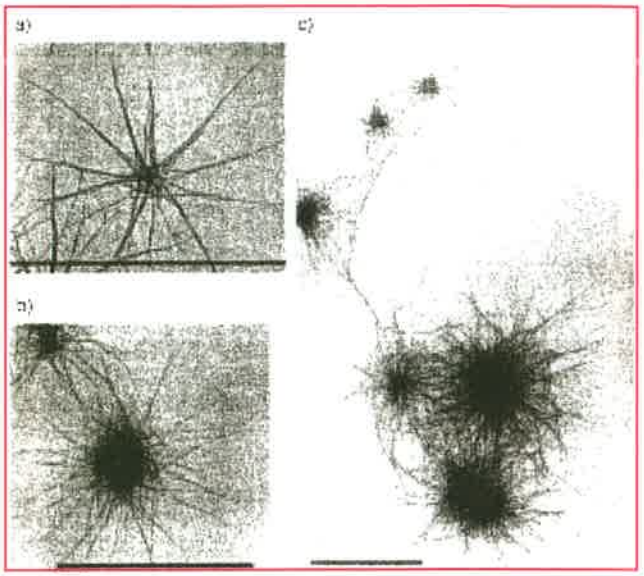


Figure 14 - Images de microscopie électronique en transmission de colloïdes constitués de l'association de polymères diblocs à base de poly(éthylène oxyde) et d'acide polyméthacrylique en présence d'ions Ca^{2+} et d'ions phosphates : **a)** morphologie obtenue à pH = 3,5 ; **b)** même valeur du pH mais à un temps ultérieur ; **c)** pH = 5,5. La barre horizontale représente 0,5 µm (reproduit de [72]).

formée de l'association de trois polypeptides par le biais de liaisons covalentes et très riche en unités répétitives du type Gly-X-Y, où Gly est la glycine, X et Y des acides aminés quelconques mais avec une forte proportion de proline. C'est cet acide aminé qui impose la tendance à l'hélicité, et le rôle de la glycine, dont la chaîne latérale est réduite à un simple atome d'hydrogène, est essentiellement stérique. Dans les tissus minéralisés, les fibrilles de collagène sont rangées parallèlement selon une direction parallèle à l'axe de symétrie principal des fibrilles. Elles sont également décalées de façon régulière les unes par rapport aux autres de sorte que l'ensemble de l'ultrastructure présente des orifices régulièrement espacés. Il semble que le rôle de ces orifices est de favoriser l'acheminement des ions Ca^{2+} et phosphates vers les sites de minéralisation. **Les protéines acides et/ou phosphorylées dont nous venons de décrire le rôle sont essentiellement associées au collagène** [91]. Il semble donc que le collagène synthétisé par les ostéoblastes joue surtout **un rôle de support mécanique** identique à celui de la chitine chez les invertébrés. L'étude récente du groupe de R. Kniep suggère cependant que la gélatine joue également un rôle de nature électrostatique [61]. Nous y reviendrons dans le chapitre suivant.

Pour la minéralisation de l'émail dentaire, une protéine appelée amélogénine, synthétisée par les améloblastes, constituée par une assemblée de plusieurs sous-unités en forme de nanosphères qui s'assemblent elles-mêmes sous forme de chaînette [92], joue un rôle essentiel dans la croissance directionnelle des cristaux constituant l'émail. Le contenu en amélogénine diminue brutalement lorsque le contenu en matériau inorganique atteint une valeur critique. Les stimuli moléculaires responsables de l'assemblage de l'amélogénine en chaînette et leur résorption ultérieure induite par protéolyse [93] ne sont pas encore connus. Voilà un problème bien intéressant, à l'interface de la physique, de la chimie et de la biologie.

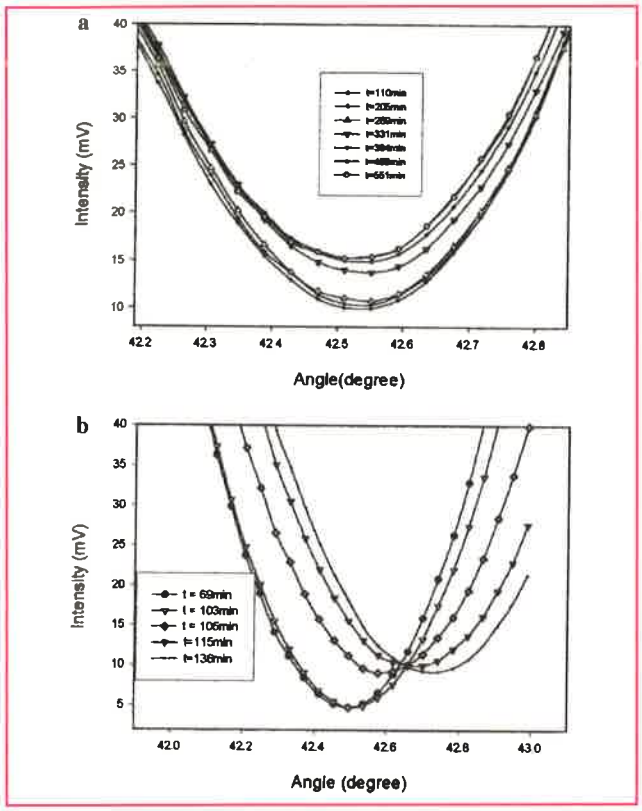


Figure 15.
a) Évolution des courbes de réflectivité, mesurées à l'aide d'un réflectomètre à balayage angulaire, en présence d'une solution tamponnée à pH = 6,85 (et de 150 mM NaCl) contenant des ions Ca^{2+} et phosphates (rapport 1:1) à 6,12 mM, pour différents temps de contact entre la solution et le film PEI-$(PSS\text{-}PAH)_2$-PSS adsorbé à la surface du prisme en silice.
b) Courbes identiques pour un film PEI-$(PSS\text{-}PAH)_2$ et pour une solution contenant des ions Ca^{2+} et phosphates à 6,75 mM.
PEI : poly(éthylène imine) ; PAH : poly(allyl amine) ; PSS : poly(styrène-4-sulfonate), sel de sodium (reproduit de [51]).

Influence sur les paramètres cinétiques

Implicitement, lorsque nous avons parlé de l'influence des polymères sur le contrôle morphologique, nous avons été amenés à discuter de cinétique chimique. Les études citées précédemment ont fait appel à la méthode de composition constante ou à l'effet direct de l'adsorption sur le blocage de sites et la modification de morphologie. Il nous semble intéressant de montrer de façon plus précise l'apport des méthodes optiques (voir techniques e) et des expériences de croissance en gel (voir techniques f) dans la compréhension des mécanismes de nucléation et de croissance cristalline.

Utilisation de la réflectométrie à balayage angulaire pour l'étude de l'influence de polyélectrolytes adsorbés à l'interface silice-eau dans la nucléation et la croissance de phosphates de calcium [51]

L'expérience a débuté par l'adsorption d'un film de polyélectrolyte selon la méthode de l'adsorption séquentielle alternée [94]. Le support est donc constitué de PEI-$(PSS\text{-}PAH)_2$ ou de PEI-$(PSS\text{-}PAH)_2$-PSS adsorbés sur la silice. Cette surface est alors mise en contact avec des solutions sursaturées en ions Ca^{2+} et phosphates à pH constant (6,8 ± 0,1) et en présence d'un sel de fond (NaCl 0,15 mol.L^{-1}). Le rapport Ca/P est maintenu constant et égal à 1 dans la solution mise en contact avec le substrat, mais la sursaturation est variée d'une expérience à l'autre dans le but de détecter la sursaturation critique sur chacune de ces surfaces (cf. *figure 3*). L'occurrence du phénomène de nucléation est détectée par l'augmentation de l'intensité réfléchie au minimum des courbes de réflectivité (voir techniques e pour le principe de la réflectométrie à angle variable autour de l'angle de Brewster) : *figure 15*. On peut ainsi déterminer le temps d'induction τ (*figure 16*) pour chacune des sursaturations employées. Enfin, des expériences de contrôle ont été effectuées avec les mêmes

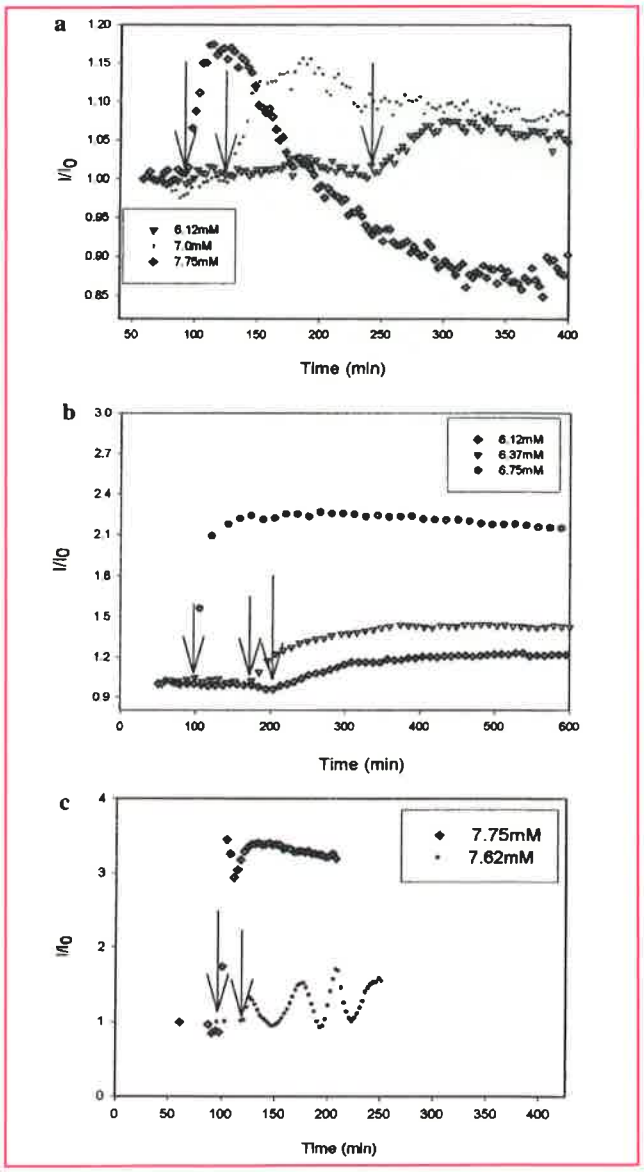


Figure 16 - Évolution des rapports I/I_0, déterminés à l'aide des courbes de réflectivité analogues à celles de la *figure 15*, en fonction du temps pour différentes concentrations en ions Ca^{2+} et phosphates (rapport 1:1).
I_0 représente l'intensité réfléchie en l'absence de croissance cristalline (à t = 0 où la solution sursaturée est introduite dans la cellule) pour un angle d'incidence donné. I est l'intensité réfléchie à l'instant t pour le même angle d'incidence.
Signaux obtenus : **a)** sur le film PEI-$(PSS\text{-}PAH)_2$-PSS ; **b)** sur un film PEI-$(PSS\text{-}PAH)_2$; **c)** sur la silice, en l'absence de polyélectrolyte adsorbé.
Les flèches verticales représentent le début du processus de nucléation (reproduit de [51]).

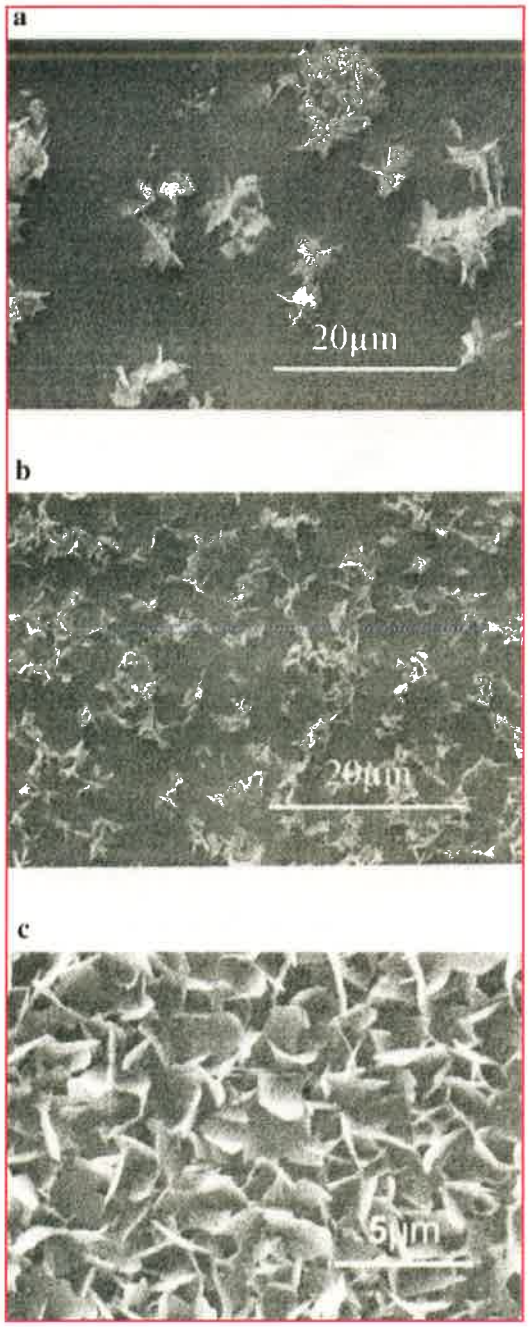


Figure 17 - Images de microscopie électronique à balayage de la surface de silice : **a)** recouverte d'un film PEI-(PSS-PAH)$_2$-PSS après mise en contact avec une solution d'ions Ca^{2+} et phosphates (6,75 mM) pendant 20 h ; **b)** recouverte d'un film PEI-(PSS-PAH)$_2$ après mise en contact avec une solution d'ions Ca^{2+} et phosphates (6,75 mM) pendant 20 h ; **c)** en l'absence de film de polyélectrolytes, après 20 h de mise en contact avec une solution d'ions Ca^{2+} et phosphates (7,62 mM).
Dans toutes ces expériences, le rapport Ca^{2+}/phosphates en solution aqueuse est égal à 1 (reproduit de [51]).

solutions sursaturées mises en contact avec des lames de silice soumises au même traitement avec des polyélectrolytes identiques. Cela a permis d'étudier la morphologie des cristaux formés (*figure 17*) et de démontrer qu'il s'agissait de phosphate octacalcique (OCP) ou d'hydroxyapatite (OHAP) (*figure 18*).

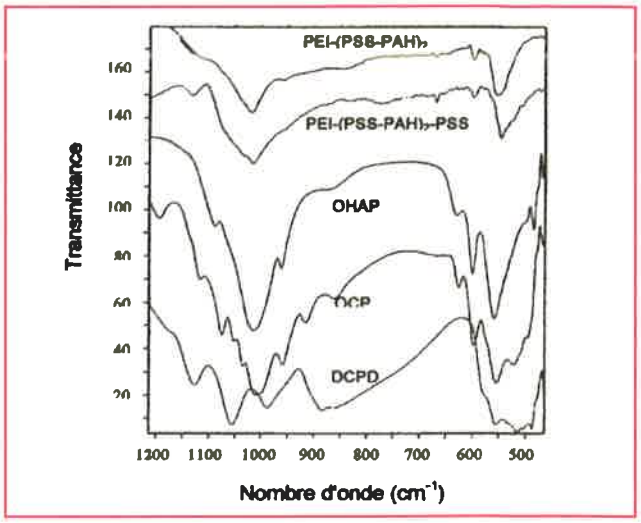


Figure 18 - Spectres infrarouge des cristaux de phosphates de calcium formés sur les films PEI-(PSS-PAH)$_2$, PEI-(PSS-PAH)$_2$-PSS adsorbés sur la silice.
A titre de comparaison, sont également fournis les spectres de l'hydroxyapatite (OHAP), du phosphate octacalcique (OCP) et de la brushite (DCPD) (reproduit de [51]).

De façon surprenante, les deux types de films, chargés positivement et négativement, induisent la nucléation et la minéralisation ; alors que l'on sait que les protéines et polymères impliqués dans les processus de minéralisation naturels sont essentiellement chargés négativement. Les sursaturations critiques ont été de 5,4 ± 0,4 mM et 5,9 ± 0,2 mM sur les films PEI-(PSS-PAH)$_2$-PSS et PEI-(PSS-PAH)$_2$ respectivement.
L'utilisation des tracés $\ln[S^{1/4}.(S-1)^{3/4}.\tau]$ en fonction de $1/(\ln S)^2$, c'est-à-dire l'utilisation des résultats de la théorie de la nucléation homogène (cf. les remarques faites au 1er chapitre), permet de calculer les tensions superficielles de l'interface polyélectrolyte-germe (*figure 19*). Ces valeurs sont égales à 32 mJ.m^{-2} et 37 mJ.m^{-2} pour les films se terminant par le PSS et le PAH respectivement. Elles sont du même ordre de grandeur que celles obtenues pour divers systèmes polyélectrolytes-phosphates de calcium [32].
Cette étude montre donc l'intérêt de méthodes optiques pour l'étude du rôle des polymères adsorbés sur l'induction de croissance cristalline à des interfaces. Nous envisageons de l'étendre à des polymères naturels ou des polymères recouverts de protéines connues pour jouer un rôle dans la cristallisation des phosphates de calcium.

Étude de l'influence d'un champ électrique uniforme sur la croissance de fluoroapatite au sein d'un gel de gélatine [61]

Le principe de l'expérience a déjà été décrit (voir techniques dans § f) et nous voulons simplement montrer ici que les cristaux précurseurs se développent parallèlement à la direction des fibres de gélatine (*figure 20*, en haut à gauche) et que la croissance ne devient isotrope qu'après union des demi-sphères droite et gauche (*figure 20*, en bas à droite). Une simulation numérique a permis de démontrer que les étapes intermédiaires de la croissance pouvaient être décrites par un mécanisme de croissance fractale (*figure 21*). De plus, les lignes de croissance suivent la direction des lignes du champ électrique émergeant des fibres de collagène. Il s'agit là d'un bel exemple de compréhension d'un mécanisme de biominéralisation.

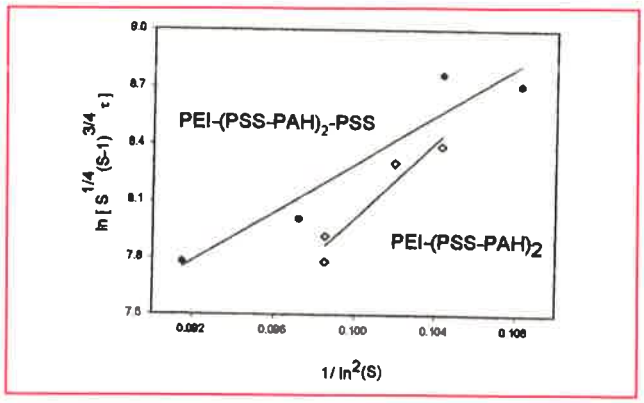


Figure 19 - Courbes représentant $\ln[S^{1/4}(S-1)^{3/4}\tau]$ en fonction de $1/(\ln S)^2$ pour un film de PEI-(PSS-PAH)$_2$-PSS (•) et de PEI-(PSS-PAH)$_2$ (◊) mis en contact avec des solutions sursaturés en ions Ca^{2+} et phosphates.
τ représente le temps de latence mesuré expérimentalement par réflectométrie à balayage angulaire (reproduit de [51]).

Perspectives : vers la synthèse contrôlée de nouveaux matériaux composites

Nous venons de décrire l'état des connaissances du rôle joué par les polymères et les biopolymères dans le contrôle de la nucléation et de la croissance cristalline de cristaux d'intérêt biologique. Les mécanismes moléculaires impliqués sont bien connus pour la régulation de la croissance des carbonates de calcium : **ce sont à la fois la structure et la conformation des glycoprotéines acides utilisées par les mollusques qui permettent le contrôle de la nucléation, de la croissance cristalline et donc aussi de la morphologie des cristaux formés**. Dans le domaine des phosphates de calcium, on peut distinguer **des protéines à caractère acide spécialisées dans le contrôle de la nucléation et des protéines de même nature impliquées dans le contrôle de l'inhibition de la croissance cristalline. Il existe clairement des messages cellulaires qui modulent l'expression des gènes associés à ces protéines au cours du développement de l'individu.**

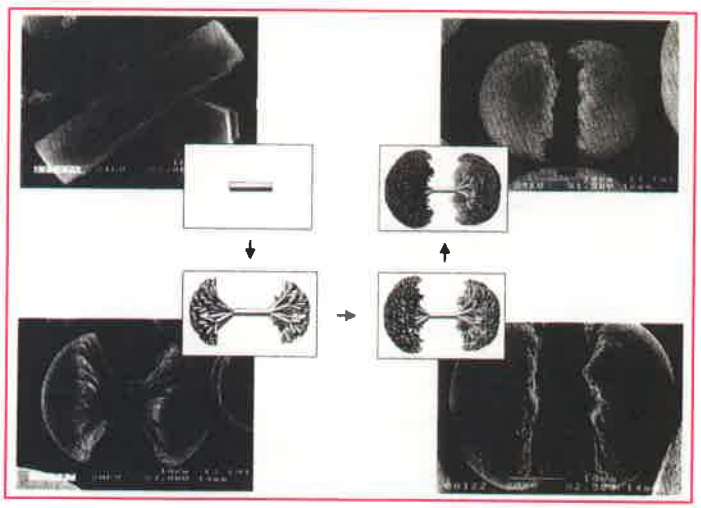


Figure 20 - Images de microscopie électronique à balayage de cristaux de fluoroapatite à différents stades de croissance et images de simulation numérique de croissance fractale (reproduit de [61]).

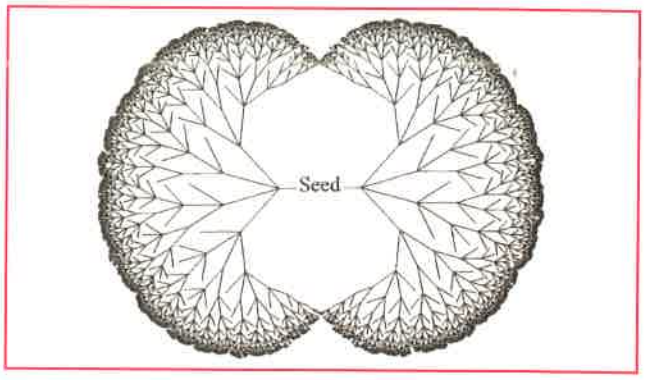


Figure 21 - Modèle de croissance fractale des cristaux de fluoroapatite en présence de fibres de collagène et d'un champ électrique uniforme (reproduit de [61]).
A chaque étape de croissance, il y a formation de 4 nouvelles branches. Les intersections entre branches sont interdites par les règles suivantes :
(i) toutes les branches individuelles croissent avec la même vitesse ;
(ii) les membres des générations d'ordre élevé sont supprimés si elles rencontrent des branches formées lors d'une génération antérieure ;
(iii) si les branches d'une même génération se rencontrent à un instant donné, l'une de ces branches est supprimée de façon aléatoire. Si la rencontre se fait avec une branche de même génération, mais déjà formée, c'est la dernière branche formée qui est détruite ;
(iv) pour simuler la croissance à l'intérieur de l'enveloppe, toutes les branches faisant un angle supérieur à 160 ° avec le noyau sont supprimées.

Il existe **un point commun fondamental** aux carbonates et aux phosphates de calcium : les biopolymères impliqués sont fonctionnels lorsqu'ils sont liés (essentiellement adsorbés) à un polymère rigide qui joue le rôle de **matrice organisatrice**. Dans le domaine des invertébrés (carbonates de calcium), il s'agit de la chitine et dans celui des vertébrés (phosphates de calcium), il s'agit du collagène.
Il reste clairement beaucoup de travail dans ce domaine, non seulement du point de vue fondamental (étude des phénomènes de nucléation, théorie de la nucléation hétérogène, développement de méthodes expérimentales), mais encore pour la mise au point de polymères mimant le rôle des biopolymères afin de pouvoir mettre au point des systèmes implantables favorisant la régénération de tissus osseux. De nombreux articles récents montrent ainsi que des matériaux composites associant l'hydroxyapatite et des polymères tels que les alginates, les acides polyhaluroniques et le collagène, la nacre et des protéines telles que la BMP (protéine de la morphogénèse osseuse) sont d'excellents systèmes ostéoinducteurs tant du point de vue de leurs propriétés chimiques que mécaniques [95-97].

Remerciements

Nous adressons nos remerciements les plus sincères au professeur P. Schaaf et aux docteurs B. Senger et F. Cuisinier pour leur collaboration. Leur contribution réelle apparaît dans les références de nos groupes respectifs.

Références

[1] Schenk R.K., Hunziker E., Herrmann W., *Biological Mineralization and Demineralization*, G.H. Nancollas (ed.), Dahlem Konferenzen, **1982**, p. 143.
[2] Williams R.J.P., The functional forms of biominerals, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), VCH, Weinheim, **1989**, p. 1.
[3] Nakahara H., *Biomineralization and Biological Metal Accumulation*, P. Westbroeck (ed.), P. de Jong, Amsterdam, **1983**, p. 225.
[4] Kato T., *Adv. Mater.*, **2000**, *12*, p. 1543.
[5] Garside J., *Biological Mineralization and Demineralization*, G.H. Nancollas (ed.), Dahlem Konferenzen, **1982**, p. 23.

[6] Davies C.W., *Ion association*, Butterworth, London, **1962**.
[7] Turnbull D., Fisher J.C., *J. Chem. Phys.*, **1949**, *17*, p. 71.
[8] Zettlemoyer A.C. (ed.), *Nucleation*, Marcel Dekker, New York.
[9] Volmer M., *Kinetik der Phasenbildung*, Teinkopf, Dresden und Leipzig, **1939**.
[10] Nancollas G.H., In vitro studies of calcium phosphate crystallisation, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), VCH, Weinheim, **1989**, p. 157.
[11] Sørensen J.S., Lundager Madsen H.E., *J. Cryst. Growth*, **2000**, *216*, p. 399.
[12] Verdoes D., Kashchiev D., Rosmalen G.H., *J. Cryst. Growth*, **1992**, *118*, p. 401.
[13] Félix O., Hosseini M.W., De Cian A., Fischer J., *Chem. Comm.*, **2000**, p. 281.
[14] a) Ball V., document de synthèse présenté en vue de l'obtention de l'habilitation à diriger des recherches, université Louis Pasteur, Strasbourg, **2001** ; b) Ball V., Planeix J.-M., Felix O., Hemmerle J., Schaaf P., Hosseini M.W., Voegel J.-C., *Cryst. Growth & Des.*, **2002**, *2*, p. 489.
[15] Lowenstam H., *Science*, **1981**, *211*, p. 1126.
[16] Harrisson P.M., Artymiuk P.J., Ford C.C., Lawson D.M., Smith J.M.A., Treffy A., White J.L., Ferritin: function and structural design of an iron-storage protein, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), VCH, Weinheim, **1989**, p. 257.
[17] Mann S., Frankel R.B., Magnetite biomineralization in unicellular microorganisms, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), VCH, Weinheim, **1989**, p. 389.
[18] Devries A.L., *Comp. Biochem. Physiol.*, **1982**, *73A*, p. 627.
[19] Lavalle P., Devries A.L., Cheng C.C.C., Scheuring S., Ramsden J.J., *Langmuir*, **2000**, *16*, p. 5785.
[20] Elliott J.C., *Structure and Chemistry of Apatites and Other Calcium Orthophosphates*, Elsevier, Amsterdam, **1994**.
[21] Combes C., Rey C., *L'Act. Chim.*, juillet **2003**, p. 16.
[22] Addadi L., Weiner S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1985**, *82*, p. 4110.
[23] Addadi L., Weiner S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1992**, *31*, p. 153.
[24] Aoba T., Moreno E.C., *J. Colloid Interface Sci.*, **1985**, *106*, p. 110.
[25] Romberg R.W., Werness P.G., Riggs B.L., Mann K.G., *Biochemistry*, **1986**, *25*, p. 1176.
[26] Burgess S.K., Carey D.M., Oxendine S.L., *Arch. Biochem. Biophys.*, **1992**, *297*, p. 383.
[27] Laasonen K., Wonczak S., Strey R., Laaksonen A., *J. Chem. Phys.*, **2000**, *113*, p. 9741.
[28] Senger B., Schaaf P., Corti D.S., Bowles R., Pointu D., Voegel J.-C., Reiss H., *J. Chem. Phys.*, **1999**, *110*, p. 6438.
[29] Tomson M.B., Nancollas G.H., *Science*, **1978**, *200*, p. 1059.
[30] Dalas E., Koutsoukos P.G., *Langmuir*, **1988**, *4*, p. 907.
[31] Dalas E., Kalitsis J.K., Koutsoukos P.G., *Langmuir*, **1991**, *7*, p. 1822.
[32] Manoli F., Dalas E., *J. Cryst. Growth*, **1999**, *204*, p. 369.
[33] Tang R., Wu W., Haas M., Nancollas G.H., *Langmuir*, **2001**, *17*, p. 3480.
[34] Deutscher R.L., Fletcher S., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1998**, *94*, p. 3527.
[35] Mann S., Crystallochemical strategies in biomineralization, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), VCH, Weinheim, **1989**, p. 35.
[36] Rajam S., Heywood B.R., Walker J.B.A., Mann S., Davey R.J., Birchall J.D., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1991**, *87*, p. 727.
[37] Küther J., Seshadri R., Knoll W., Tremel W., *J. Mater. Chem.*, **1998**, *8*, p. 641.
[38] Konopny L., Berfeld M., Popovitz-Biro R., Weissbuch I., Leiserowitz L., Lahav M., *Adv. Mater.*, **2001**, *13*, p. 580.
[39] Xu G., Yao N., Askay I.A., Groves J.T., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, p. 11977.
[40] Brisson A., Mosser G., Huber R., *J. Mol. Biol.*, **1991**, *220*,p. 199.
[41] Mikol V., Giegé R., The physical chemistry of protein cristallization, *Crystallisation of Nucleic Acids and Proteins. A. A practical Approach.*, A. Ducruix, R. Giegé (eds), Oxford University Press, **1996**, p. 219.
[42] Vekilov P.G., Ataka M., Katsura T., *Acta Cryst.*, **1995**, *D51*, p. 207.
[43] Kanzaki N., Onuma K., Treboux G., Tsutsumi S., Ito A., *J. Phys. Chem. B*, **2001**, *105*, p. 1991.
[44] McPherson A., Malkin A.J., Kuznetsov Y.G., Plomp M., *Acta Cryst.*, **2001**, *D57*, p. 1053.
[45] Schaaf P., thèse de doctorat, université Louis Pasteur, **1987**.
[46] Schaaf P., Déjardin P., Schmitt A., *Langmuir*, **1987**, *3*, p. 1131.
[47] Mann E.K., van der Zeeuw E.A., Koper G.J.M., Schaaf P., Bedeaux D., *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, p. 790.
[48] Huetz P., Schaaf P., Voegel J.-C., Mann E.K., Miras B., Ball V., Freund M., Cazenave J.-P., *ACS Symp. Ser.*, **1995**, *602*, p. 334.
[49] Ladam G., Schaad P., Voegel J.-C., Schaaf P., Decher G., Cuisinier F.J.G., *Langmuir*, **2000**, *16*, p. 1249.
[50] Ladam G., Schaaf P., Cuisinier F.J.G., Decher G., Voegel J.-C., *Langmuir*, **2001**, *17*, p. 878.
[51] Ngankam P.A., Lavalle P., Voegel J.-C., Szyk L., Decher G., Schaaf P., Cuisinier F.J.G., *J. Amer. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, p. 8998.
[52] Ngankam P.A., Schaaf P., Voegel J.-C., Cuisinier F.J.G., *J. Cryst. Growth*, **1999**, *197*, p. 927.
[53] Healy T.W., White L.R., *Adv. Colloid Interf. Sci.*, **1978**, *9*, p. 303.
[54] Tiefenthaler K., Lukosz W., *J. Opt. Soc. Am. B*, **1989**, *6*, p. 209.
[55] Ball V., Lustig A., Ramsden J.J., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **1999**, *1*, p. 3667.
[56] Riès-Kautt M.M., Ducruix A.F., *J. Biol. Chem.*, **1989**, *264*, p. 745.
[57] Hunter G.K., Goldberg H.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, *90*, p. 8562.
[58] Hunter G.K., Kyle C.L., Goldberg H.A., *Biochem. J.*, **1994**, *300*, p. 723.
[59] Hunter G.K., Hauscka P.V., Poole A.R., Rosenberg L.C., Goldberg H.A., *Biochem. J.*, **1996**, *300*, p. 59.
[60] Gafni G., Septier D., Goldberg M., *J. Cryst. Growth*, **1999**, *205*, p. 618.
[61] Busch S., Dolhaine H., DuChesnes A., Heinz S., Hochrein O., Laeri F., Podebrad O., Vietze U., Weiland T., Kniep R., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1999**, p. 1643.
[62] Bodier-Houllé P., Steuer P., Voegel J.-C., Cuisinier F.J.G., *Acta Cryst.*, **1998**, *D54*, p. 1377.
[63] Mann S., Skarnulis J., Williams R.J.P., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1979**, p. 1067.
[64] Mann S., Heywood B.R., Rajam S., Birchall J.D., *Nature*, **1988**, *334*, p. 692.
[65] Bohic S., thèse de doctorat d'Université, Université de Nantes, **1998**.
[66] Paschalis E.P., DiCarlo E., Betts F., Sherman P., Mendelsohn R., Boskey A.L., *Calcif. Tissue Int.*, **1996**, *59*, p. 480.
[67] Clark R.H., Campbell A.A., Klumb L.A., Long C.J., Stayton P.S., *Calcif. Tissue Int.*, **1999**, *64*, p. 516.
[68] Raj P.A., Johnsson M., Levine M.J., Nancollas G.H., *J. Biol. Chem.*, **1992**, *267*, p. 5968.
[69] Küther J., Seshadri R., Tremel W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, *37*, p. 3044.
[70] Bigi A., Boanini E., Panzavolta S., Roveri N., *Biomacromolecules*, **2000**, *1*, p. 752.
[71] Meunier A., *L'Act. Chim.*, juillet **2003**, p. 27.
[72] Mann S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, p. 3392.
[73] Walsh D., Mann S., *Nature*, **1995**, *377*, p. 320.
[74] Silve C., Lopez E., Vidal B., Smith D.C., Camprasse S., Camprasse G., Couly G., *Calcif. Tissue Int.*, **1992**, *51*, p. 363.
[75] Boskey A.L., *Calcif. Tissue Int.*, **1998**, *63*, p. 179.
[76] Addadi L., Weiner S., Stereochemical and structural relations between macromolecules and crystals in biomineralization, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), VCH, Weinheim, **1989**, p. 133.
[77] Veis A., Perry A., *Biochemistry*, **1967**, *6*, p. 2409.
[78] Weiner S., Addadi L., *Trends Biochem. Sci.*, **1991**, *16*, p. 252.
[79] Falini G., Albeck S., Weiner S., Addadi L., *Science*, **1996**, *271*, p. 67.
[80] Addadi L., Moradian J., Shay E., Maroudas N.G., Weiner S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, *84*, p. 2732.
[81] Zhang S., Gonsalves K.E., *Langmuir*, **1998**, *14*, p. 6761.
[82] Dalas E., Kallitsis J.K., Koutsoukos P.G., *Langmuir*, **1991**, *7*, p. 1822.
[83] Hay D.I., Moreno E.C., Schlesinger D.H., *Inorg. Pers. Biol. Med.*, **1979**, *2*, p. 271.
[84] Moreno E.C., Varughese K., Hay D.I., *Calcif. Tissue Int.*, **1979**, *28*, p. 7.
[85] Moreno E.C., Kresak M., Hay D.I., *J. Biol. Chem.*, **1982**, *257*, p. 2981.
[86] Koutsopoulos S., Dalas E., *Langmuir*, **2000**, *16*, p. 6739.
[87] Spanos N., Klepetsanis P.G., Koutsoukos P.G., *J. Colloid Interf. Sci.*, **2001**, *236*, p. 260.
[88] Benaziz L., Barroug A., Legrouri A., Rey C., Lebugle A., *J. Colloid Interf. Sci.*, **2001**, *238*, p. 48.
[89] a) Cölfen H., *Macromol. Rapid Comm.*, **2001**, *22*, p. 219 ; b) Wegner G., Baum P., Müller M., Norwig J., Landfester K., *Macromol. Symp.*, **2001**, *175*, p. 349 ; c) Qi L., Li J., Ma J., *Adv. Mater.*, **2002**, *14*, p. 300.
[90] Perry C.C., Biomaterials, *Chemistry of Advanced Materials. An Overview*, L.V. Interrante, M.J. Hampden-Smith (eds), Wiley-VCH, **1998**, p. 499.
[91] Veis A., Biochemichal studies of vertebrate tooth mineralization, *Biomineralization. Chemical and Biochemical Perspectives*, S. Mann, J. Webb, R.J.P. Williams (eds), Wiley-VCH, Weinheim, **1989**, p. 189.
[92] Moradian-Oldak J., Paine M.L., Lei Y.P., Fincham A.G., Snead M.L., *J. Struct. Biol.*, **2000**, *131*, p. 27.
[93] Bartlett J.D., Simmer J.P., *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, **1999**, *10*, p. 425.
[94] Decher G., *Science*, **1997**, *277*, p. 1232.
[95] Petite H., *Biofutur*, **2001**, *211*, p. 1.
[96] Liu L.-S., Thompson A.Y., Heidaran M.A., Poser J.W., Spiro R.C., *Biomaterials*, **1999**, *20*, p. 1097.
[97] Bakos D., Soldan M., Hernandes-Fuentes I., *Biomaterials*, **1999**, *20*, p. 191.

V. Ball

Vincent Ball
est maître de conférences à l'Institut Charles Sadron de Strasbourg*.

Jean-Claude Voegel
est directeur de recherche à l'INSERM**.

J.-C. Voegel

* Institut Charles Sadron, CNRS UPR 22, 6 rue Boussingault, 67083 Strasbourg Cedex.
E-mail : ball@ics.u-strasbg.fr
** Unité 595 INSERM, Fédération de Recherche Odontologie, 11 rue Humann, 67085 Strasbourg Cedex.

Études de bio-géomatériaux sous conditions extrêmes

François Guyot

Abstract **Biogeomaterials under extreme conditions**
In this lecture, we study a few examples which illustrate the importance of bio-minerals related to life under extreme conditions for the global dynamics of planet Earth.
The first example is taken from deep ocean hydrothermalism. The contribution of living organisms to the mineralogy and chemical dynamics of black smokers is studied and discussed. The characterization of nanometer-size sulphide minerals allows to show that some organisms dynamically maintain strong gradients in redox potential at the scale of few millimeters, thus operating like active chemical reaction units. This activity is intimately related to the presence of colonizing bacteria. Specificities of hydrothermal geomaterials are then briefly examined.
The second example deals with the biomineralization of carbonates under extreme conditions. Microorganisms able to drive the formation of carbonate minerals under the aridic conditions of a saharian soil are studied. Coupling between silicate alteration and formation of nanometer-size calcites by filamentous microorganisms colonizing the surface of ferromagnesian silicates is suggested. Then we discuss the relationships between these observations and putative traces of extra-terrestrial life found in martian meteorites. A few words will be said about the use of single-crystalline single-domain magnetites by magnetotactic bacteria as potential markers for tracing biological phenomena in extreme environments.
Mots-clés **Biominéralisation, géomicrobiologie, hydrothermalisme, sulfures, carbonates.**
Key-words **Biominerals, geomicrobiology, hydrothermalism, sulphides, carbonates.**

L'objectif de ce cours a été d'étudier, à partir d'exemples significatifs, quelques réactions chimiques d'importance géologique globale, et d'illustrer la spécificité des matériaux impliqués dans ces réactions. La géomicrobiologie est l'étude des interactions entre les micro-organismes et les objets géologiques. A ce titre, elle s'attache d'une part à comprendre les caractéristiques physiques, chimiques et isotopiques des interfaces entre micro-organismes et minéraux, d'autre part à étudier les conditions de synthèse, les structures et les propriétés des biominéraux produits par les micro-organismes. Par exemple, connaître les déterminismes qui conduisent une bactérie à métabolisme fer-oxydant à s'adapter à l'oxydation de sulfures enrichis en arsenic, ou élucider les mécanismes de biominéralisation de magnétites par une bactérie magnétotactique, relève de la géomicrobiologie. Pour compléter ce bref cours introductif, on pourra se reporter à deux ouvrages généraux : Banfield et Nealson [1] et Bauerlein [2] pour la géomicrobiologie et la biominéralisation, respectivement.

D'un point de vue global, les conditions physico-chimiques qui règnent sur Terre sont le résultat de processus couplés caractérisés par des flux et des forces. Par exemple, l'état d'oxydoréduction moyen de la surface planétaire est l'un des paramètres d'environnement global les plus importants, lié au bilan photosynthèse-respiration/combustion, c'est-à-dire à l'oxydoréduction de la matière organique symbolisée par :

$$6\ CO_2 + 24\ H^+ + 24\ e^- \leftrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O \qquad (1)$$

Dans la suite, on assimilera schématiquement la matière organique à $C_6H_{12}O_6$, ce qui revient à faire le choix de ne pas discuter les biogéochimies, pourtant fondamentales, de l'azote et du phosphore. A la surface de la Terre, le donneur principal de protons et d'électrons est l'eau (décomposition photochimique dans la photosynthèse), tandis qu'un accepteur important d'électrons est le di-oxygène, au travers de :

$$2\ H_2O \leftrightarrow O_2 + 4\ H^+ + 4\ e^- \qquad (2)$$

Donneur d'électrons : eau ; accepteur d'électrons : di-oxygène

qui se couple à (1) suivant :

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O \leftrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \qquad (3)$$

Dans le bilan (2), et dans ceux qui suivront, on prend soin de préciser le donneur et l'accepteur d'électrons, bien que ce soit évident, car ils interviennent indépendamment et peuvent se coupler à d'autres donneurs ou accepteurs. Ainsi, O_2 se comporte le plus souvent comme accepteur d'électrons dans des processus de respiration aérobie où la matière organique fait office de donneur d'électrons. On note également que tous les bilans présentés peuvent être liés à des processus biologiques ou à des réactions abiotiques, sauf ceux impliquant la production primaire de matière organique (à l'exception notable et discutée, pour ce dernier cas, de certaines conditions d'hydrothermalisme).
Les micro-organismes sont importants, d'une part parce qu'ils interviennent de manière significative dans le bilan photosynthèse-oxydation (3), d'autre part en raison de leur capacité à utiliser d'autres voies que la photosynthèse aérobie pour fabriquer de la matière organique par réduction du carbone inorganique, et aussi à utiliser d'autres accepteurs d'électrons que le di-oxygène pour oxyder la matière organique, en particulier en milieu anaérobie. Ces possibilités renvoient très probablement à un passé majoritairement anaérobie de la Terre et à des niches écologiques actuelles anaérobies dont l'importance géochimique est fondamentale (par exemple le bilan (1) dans le sens de l'oxydation de

matière organique pour lequel d'autres accepteurs d'électrons que le di-oxygène sont majoritaires à l'échelle globale). A ce titre, les réactions d'oxydoréduction du fer et du soufre jouent un rôle primordial, dans les deux sens de ce terme et dans les deux sens de réaction. Elles impliquent les bilans réactionnels suivants (écrits sans préjuger des mécanismes réactionnels effectifs) :

$$2\ FeO_{(minéraux)} \leftrightarrow Fe_2O_{3(minéraux)} + 2\ H^+ + 2\ e^- \quad (4)$$

Donneur d'électrons : Fe^{2+} des minéraux ; accepteur d'électrons : Fe^{3+} des minéraux

$$2\ Fe^{2+}_{(solution)} + 3\ H_2O \leftrightarrow Fe_2O_{3(minéraux)} + 6\ H^+ + 2\ e^- \quad (5)$$

Donneur d'électrons : Fe^{2+} en solution ; accepteur d'électrons : Fe^{3+} des minéraux

$$S^{2-}_{(minéraux)} + 4\ H_2O \leftrightarrow SO_4^{2-}{}_{(solution)} + 8\ H^+ + 8\ e^- \quad (6)$$

Donneur d'électrons : ion sulfure solide ; accepteur d'électrons : ions sulfate en solution

$$\text{ou } H_2S + 2\ OH^-_{(solution)} + 2\ O_2 \leftrightarrow SO_4^{2-}{}_{(solution)} + 2\ H_2O$$

Donneur d'électrons : H_2S ; accepteur d'électrons : ions sulfate en solution

Il faut ici remarquer que la notation du type $X_{(minéraux)}$ décrit le composant en solution solide dans une phase minérale complexe et ne constitue pas une réalité structurale (par exemple $FeO_{(minéraux)}$ peut représenter les atomes de fer dans un silicate de magnésium, orthopyroxène ou olivine, et $Fe_2O_{3(minéraux)}$, le fer dans un oxyhydroxyde de fer mal organisé très éloigné de l'hématite Fe_2O_3 pure bien cristallisée). Les couplages des bilans (4), (5) et (6) avec (1), *via* l'équilibre formel des électrons et protons, ainsi qu'avec les bilans :

$$H_2 \leftrightarrow 2\ H^+ + 2\ e^- \quad (7)$$

Donneur d'électrons : H_2 ; accepteur d'électrons : eau

$$CH_{4(\text{éventuellement hydrates de gaz})} \leftrightarrow CO_2 + 4\ H^+ + 4\ e^- \quad (8)$$

Donneur d'électrons : méthane ; accepteur d'électrons : CO_2

ont été effectivement observés dans les micro-organismes. Dans cette succession de bilans réactionnels, les équations (4), (5) et (6) jouent un rôle central pour le propos de ce cours dans la mesure où elles font intervenir des matériaux minéraux qui peuvent interagir directement avec l'activité biologique des micro-organismes. En termes de flux globaux, le fer à l'état d'oxydation formel +II et le soufre -II proviennent de la Terre profonde, du manteau terrestre, et sont transformés suivant les bilans (4), (5) et (6) lorsque la dynamique terrestre les amène au contact de la surface. Que l'on observe l'oxydation du fer II dans les basaltes océaniques ou celle des sulfures dans les fumeurs des fonds marins, des micro-organismes sont pratiquement toujours identifiés aux lieux de ces réactions, y compris dans des conditions physico-chimiques réputées hostiles à la Vie. Deux questions fondamentales, actuellement sans réponses, sont de savoir :

(a) si les êtres vivants influent sur la cinétique (taux de transformation, vitesse de réaction) à l'échelle globale des bilans (4), (5) et (6) ;

(b) si la biosphère profonde, vivant dans des conditions physico-chimiques inhabituelles pour la Vie, contribue pour des masses significatives aux bilans (4), (5) et (6).

Un second paramètre fondamental de la régulation des conditions physico-chimiques de la surface de la Terre est le contrôle global du dioxyde de carbone atmosphérique. Parmi de nombreux autres gaz à effet de serre (par exemple le méthane ou l'eau), le CO_2 revêt une importance particulière car l'essentiel en est stocké sous forme de carbonates solides qui constituent un réservoir énorme. Une expérience de pensée désormais classique illustre l'importance de ce point : si l'on décomposait complètement les carbonates terrestres suivant le bilan schématique :

$$CaCO_{3(minéraux)} \leftrightarrow CaO_{(minéraux)} + CO_2 \quad (9)$$

l'atmosphère terrestre aurait une pression de CO_2 de l'ordre de 100 bars, conduisant par effet de serre à des températures superficielles de 400 °C, des conditions proches de celles de Vénus, notre « planète sœur ». L'incorporation sur Terre, et pas sur Vénus, de l'essentiel du CO_2 dans des matériaux solides [3] est donc l'un des facteurs fondamentaux de l'habitabilité de notre planète. Corrélativement, des modulations du bilan (9) à l'échelle planétaire contribuent à la régulation des conditions thermiques de la surface. Parmi de nombreux bilans réactionnels pertinents, on peut citer celui qui sert de paradigme à une partie de la géochimie de la surface terrestre correspondant à l'altération aqueuse des silicates suivant :

$$CaSiO_{3(minéraux)} + H_2O + 2\ CO_2 \leftrightarrow 2\ HCO_3^- + Ca^{2+} + SiO_{2(colloïdal)} \quad (10)$$

altération aqueuse des silicates

Après transport fluvial vers l'océan, se produit la précipitation des carbonates suivant :

$$2\ HCO_3^- + Ca^{2+} \leftrightarrow CaCO_{3(minéraux)} + H_2O + CO_2 \quad (11)$$

précipitation des carbonates

Le bilan net (9) de ce processus d'altération chimique, de transport et de précipitation, est l'extraction ou la libération d'une molécule de CO_2 atmosphérique. Il est souvent supposé, et parfois démontré, qu'une augmentation de température pourrait favoriser la cinétique de réaction vers la droite des équations (10) et (11), favorisant l'extraction de CO_2 atmosphérique, diminuant l'effet de serre et offrant ainsi une boucle de régulation thermique planétaire. Le bilan (11) couple directement minéraux et solutions aqueuses ; les micro-organismes procaryotes, à côté de pluricellulaires (e.g. coraux) ou unicellulaires eucaryotes (e.g. cocolithophoridés), pourraient l'influencer d'une manière encore mal connue tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Il en va de même du bilan (8), qui couplé à la précipitation de carbonates, pourrait constituer un mécanisme de régulation thermique de la surface de la Terre [4], car le méthane est un puissant gaz à effet de serre. Outre leur rôle à la surface de la Terre, les réactions (10) et (11) ont un impact en profondeur dans la croûte, ce qui n'est pas sans importance pour les projets de stockage profond de CO_2, qui seront certainement un enjeu scientifique et technologique majeur des décennies à venir. L'interaction de micro-organismes avec les minéraux conduisant à la production ou à la décomposition de carbonates constitue donc une question géomicrobiologique de première importance dont on étudiera un exemple en seconde partie.

Il serait incomplet de présenter la géomicrobiologie sans évoquer le problème de la détection de micro-organismes dans les milieux minéraux. Cette question revêt une importance fondamentale dans le cadre de l'étude d'échantillons extra-terrestres ou provenant de la Terre très ancienne, ne serait-ce que pour en évaluer le degré de

contamination. Les applications en termes d'environnement, voire de santé publique, sont potentiellement considérables. Pour simplifier, on peut citer quelques objectifs majeurs de ce domaine pour la décennie à venir :
- apprendre à observer correctement des micro-organismes à surface de minéraux de notre environnement ;
- apprendre à caractériser leurs modes d'association avec la surface minérale, à toutes les échelles, y compris atomiques ;
- apprendre à identifier du point de vue de sa classification et de son métabolisme, un micro-organisme unique observé sur une surface minérale ;
- abaisser les limites de détection en termes de densité de micro-organismes d'une espèce donnée dans un milieu minéral réel ;
- parmi les nanominéraux rencontrés dans un milieu naturel, obtenir des critères morphologiques, chimiques, isotopiques ou structuraux permettant d'identifier une origine biogénique.

La deuxième partie, consacrée aux carbonates, permettra d'identifier certains des problèmes actuellement posés à la recherche fondamentale par ces questions de détection. On y évoquera la signification d'objets bactériomorphes et de magnétites monocristallines et mono-domaines magnétiques, rencontrés dans des carbonates de météorites et parfois interprétés comme des traces de Vie extra-terrestre.

Matériaux de l'hydrothermalisme océanique profond

L'hydrothermalisme est le résultat de la convection de l'eau entre surface et profondeur sous l'effet du gradient de température géothermique. Dans les régions à flux de chaleur élevé, cette convection est très active et l'eau, au contact des roches profondes, évolue en fluide fortement minéralisé suite aux interactions avec les roches encaissantes. Au fond des océans, à proximité des rides médio-océaniques, lesquelles correspondent aux courants chauds de la convection du manteau terrestre, l'hydrothermalisme est très actif et accompagné de manifestations spectaculaires telles que les fumeurs noirs, des cheminées de taille métrique qui se forment aux zones d'émergence de la convection hydrothermale. Le contraste chimique est énorme entre le fluide hydrothermal chaud (450 °C environ), réduit, riche en hydrogène et en éléments minéraux, en particulier Fe^{2+}, Zn^{2+} et S^{2-}, et l'eau de mer froide, et oxydante (en particulier par oxygénation au contact de l'atmosphère). L'émergence du fluide hydrothermal s'accompagne de précipitation massive de sulfures, principalement de sulfures de fer, qui expliquent la coloration du fluide (fumeur) et habillent littéralement la colonne de fluide chaud, donnant ainsi naissance à la cheminée. Pour plus de références sur l'hydrothermalisme océanique, on pourra se reporter aux nombreux ouvrages existant, par exemple le volume 26 de la revue *Canadian Mineralogist* [5].

La zone de mélange entre le fluide hydrothermal et l'eau de mer est fascinante, et de grande importance géologique et biologique. Elle est un lieu privilégié de synthèse de matériaux. Les réactions (4) à (8) s'y produisent dans le sens d'une oxydation massive du fer, du soufre et de l'hydrogène. Elle joue donc un rôle de premier plan pour les cycles globaux du fer et du soufre, et surtout, est une des composantes régulatrices à long terme de l'oxygène atmosphérique au travers des bilans (4) et (8), éventuellement couplés au bilan (2). D'autre part, le couplage des réactions (4) à (8) avec le bilan (1) joue un rôle biologique fondamental en permettant la production primaire de matière organique. Ces réactions couplées peuvent schématiquement s'écrire :

$$24\ Fe^{2+}_{(solution)} + 6\ CO_2 + 30\ H_2O \leftrightarrow C_6H_{12}O_6 + 12\ Fe_2O_{3(minéraux)} + 48\ H^+ \quad (12)$$

$$3\ S^{2-}_{(minéraux)} + 6\ CO_2 + 6\ H_2O \leftrightarrow 3\ SO_4^{2-}{}_{(solution)} + C_6H_{12}O_6 \quad (13)$$

$$\text{ou } 3\ H_2S + 6\ OH^-_{(solution)} + 6\ CO_2 \leftrightarrow 3\ SO_4^{2-}{}_{(solution)} + C_6H_{12}O_6$$

$$12\ H_2 + 6\ CO_2 \leftrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O \quad (14)$$

Elles représentent les processus de chimiosynthèse litho-autotrophe qui permettent aux producteurs primaires, des organismes unicellulaires procaryotes, de réaliser la synthèse de matière organique en absence de photosynthèse et d'être à la base d'une chaîne alimentaire florissante loin de la surface terrestre. Il convient de noter de nouveau que les équations (12), (13), (14) sont des bilans, pas des mécanismes. Ainsi, aucun micro-organisme ne peut réaliser un passage direct du soufre au degré d'oxydation -II à celui au degré +VI ; plusieurs espèces pourraient s'associer, parfois en consortiums bactériens, chacune d'elles effectuant le passage entre degrés intermédiaires. La découverte de la riche faune hydrothermale, il y a plus de vingt ans, a eu une importance scientifique considérable dans la mesure où le champ des possibles pour une Vie élaborée se trouvait d'un coup étendu à des conditions tout à fait inhabituelles. Cette découverte a ouvert de nombreuses perspectives dans les domaines de recherche sur l'origine de la Vie et de l'astrobiologie.

Comme toute région de gradient d'oxydoréduction, la zone de mélange du fluide hydrothermal et de l'eau de mer constitue une niche écologique toutefois difficilement accessible. En effet, pour que les conditions d'oxydoréduction soient intéressantes, il est souhaitable de s'approcher au plus près du fluide hydrothermal et donc de s'adapter à des températures élevées. Le record actuel de température pour un être vivant, 113 °C, appartient à un micro-organisme qui se construit à partir du bilan (14). Des organismes plus complexes approchent aussi ces conditions extrêmes. Sur la ride océanique de l'est de l'océan Pacifique (East Pacific Rise, EPR), les annélides de la famille des *Alvinella* (du nom du sous-marin américain Alvin qui, le premier, plongea sur les champs hydrothermaux profonds) s'approchent très près de la zone de mélange, vivent à 40-50 °C et peuvent ponctuellement supporter des jets très chauds (80 °C ou plus, voir revue [6]). Ces organismes collent littéralement leurs tubes protéiques aux sulfures de la cheminée hydrothermale (*figure 1*), et sont couverts par une pluie de sulfures précipités (d'où le nom de ver de Pompéi donné à l'une des espèces). La densité de tubes de ces animaux est telle que la cheminée hydrothermale peut véritablement, dans son ensemble, être considérée comme un bio-géomatériau complexe (*figure 1*). Plus ou moins près des cheminées, avec de grandes variations suivant l'océan considéré, une faune variée se développe dans la zone de mélange, profitant de réactions, principalement (13), effectuées par des producteurs de matière organique ; cette faune est étroitement associée aux micro-organismes par des relations complexes qui vont de la simple commensalité à de véritables symbioses. Les questions géomicrobiologiques fondamentales à ce sujet sont de comprendre comment les flux réactionnels des bilans (4), (5) et (6) sont modifiés par la présence de ces écosystèmes complexes

Figure 1 - Détail d'une cheminée hydrothermale illustrant l'importance des tubes protéiques d'*Alvinella* (au centre de la photo) dans la construction de l'édifice.
Un individu de taille centimétrique, sorti de son tube, donne l'échelle. Image : Françoise Gaill ; campagne HOT96.

(rôle actif ou passif des êtres vivants ?), et quelle est la sensibilité de l'ensemble de ce système bio-géochimique à des variations de conditions physico-chimiques. Pour répondre à ces questions, il est nécessaire de bien comprendre les matériaux, d'une part pour prédire les réactions et évolutions en réponse à des perturbations, d'autre part pour apprendre à reconstituer de tels systèmes anciens fossilisés à partir des enregistrements géologiques et se donner ainsi les moyens d'explorer l'évolution sur des temps longs.

A titre d'exemple, la contribution de l'espèce *Alvinella pompejana* à la dynamique chimique des fumeurs noirs a été étudiée par Magali Zbinden dans sa thèse sous la direction de Françoise Gaill du Laboratoire de biologie du développement de l'université Paris VI ; les principaux résultats sont donnés dans deux articles [7-8]. Ce ver de taille centimétrique vit à l'intérieur d'un tube protéique d'épaisseur millimétrique. L'animal s'accole aux sulfures de la cheminée hydrothermale par son tube et M. Zbinden montre que l'animal maintient dynamiquement des gradients d'oxydoréduction très élevés à l'échelle du millimètre, agissant ainsi physiquement et chimiquement sur les conditions de la réaction (6) dans la cheminée hydrothermale. L'intérieur du tube, constitué de couches et sous-couches concentriques de protéines de structure (*figure 2*) contient essentiellement du soufre au degré 0. Qu'il soit produit par des micro-organismes présents à l'intérieur de l'animal ou par l'ingestion de tels micro-organismes, ce soufre est vraisemblablement le produit d'une réaction de type (13), reliant les degrés -II et 0 du soufre suivant :

$$12\ S^{2-}_{(minéraux)} + 6\ CO_2 + 24\ H^+ \leftrightarrow 12\ S + C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O \qquad (15)$$

Le soufre au degré 0 serait excrété lors de la sécrétion du tube qui aurait ainsi également une fonction de détoxification. La réalité de ce mécanisme et la localisation des micro-organismes responsables restent toutefois à étudier. Une caractéristique importante du tube est la présence de bactéries intercalées entre les couches protéiques (*figure 2*). A ces bactéries sont spatialement associés des précipités de sulfure de zinc et de fer mis en évidence par microscopie électronique analytique en transmission (*figure 2*). Leur composition $(Zn_{0,88}Fe_{0,12})S$ est constante quel que soit le tube considéré et la localisation dans le tube, malgré les grandes fluctuations de température et de composition des fluides environnants. Comme ils sont produits sur la face interne du tube lors de sa sécrétion ou juste après, cette constance de la composition suggère un contrôle biologique du milieu interne par l'organisme lui-même, ou bien par les bactéries associées. Ce sulfure est donc un biomatériau dont la fonction pourrait être la détoxification du zinc ; il faut en effet remarquer qu'outre les pics de température déjà mentionnés, ces animaux sont exposés à des concentrations normalement létales en métaux lourds, notamment en zinc. La structure de ce sulfure découvert dans l'intérieur des tubes est remarquable : des cristaux polydisperses de taille de 2-3 nm environ, bien cristallisés, constitués d'empilements désordonnés intermédiaires entre les polymorphes sphalérite (réseau de soufre cubique à faces centrées) et wurtzite (réseau de soufre hexagonal compact), s'organisent en agrégats de 100 à 300 nm environ qui se disposent en fines couches entre les feuillets protéiques marquant différentes générations de sécrétion (*figure 2*). Cet arrangement crée des alignements qui pourraient être mis à profit pour la recherche de biosystèmes hydrothermaux fossiles. Enfin, l'extérieur du tube est couvert d'une fine couche de sulfure de fer FeS_2, principalement le polymorphe marcassite, alors que les sulfures de la cheminée contiennent un mélange complexe de sulfures de fer et de zinc de compositions variées avec du sulfure de fer principalement sous forme pyrite [8]. Il est probable que cette minéralisation de marcassite est contrôlée par la présence du tube, *via* une réaction entre d'une part le sulfure d'hydrogène et le fer du fluide hydrothermal, d'autre part le soufre du tube suivant :

$$H_2S + Fe^{2+} + S \leftrightarrow FeS_2 + 2\ H^+ \qquad (16)$$

Les bas pH ainsi engendrés pourraient expliquer l'orientation de la réaction vers le polymorphe marcassite plutôt que pyrite. Ce mécanisme reste largement à élucider. L'exemple

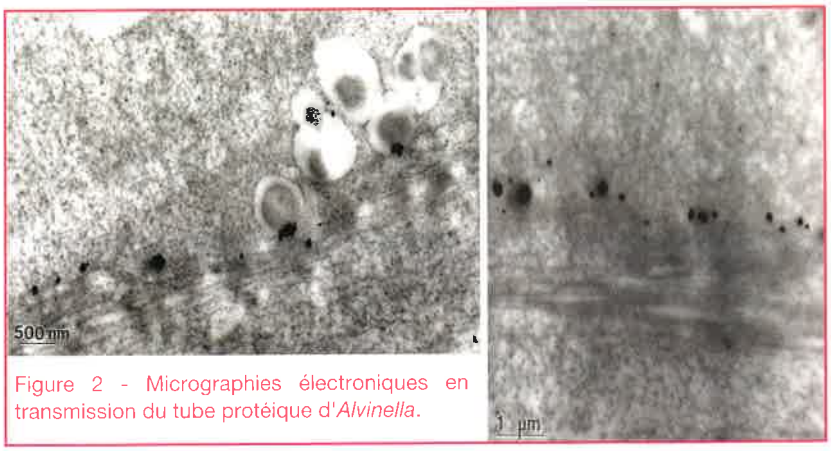


Figure 2 - Micrographies électroniques en transmission du tube protéique d'*Alvinella*.

On distingue les couches protéiques dans les parties inférieures des micrographies et des cellules bactériennes dans la partie supérieure droite du cadre de gauche. On observe des minéralisations de sulfure de zinc et de fer matérialisées par des zones noires denses aux électrons. Chaque particule de sulfure est un cluster de nanocristaux (tailles 1-3 nm) de structure intermédiaire entre les polymorphes wurtzite et sphalérite. Images : Magali Zbinden.

d'*Alvinella* montre donc la richesse, en termes de chimie des matériaux, de cette zone de gradient d'oxydoréduction que représente la région de mélange entre le fluide hydrothermal et l'eau de mer. Il serait souhaitable :
(a) de mieux déterminer la structure fine de ces matériaux pour les caractériser précisément ;
(b) de tenter de reproduire en laboratoire leur synthèse par voie inorganique puis en présence de micro-organismes pertinents, voire à terme d'enzymes ou de systèmes lipidiques spécifiques, afin de déterminer leur spécificité en tant que biomatériaux ;
(c) de tester le pouvoir catalytique de sulfures hydrothermaux bien caractérisés structuralement et chimiquement, en particulier sur les réactions de synthèse organique, ces dernières questions touchant les questions d'origine de la Vie et d'exobiologie ;
(d) d'être capable de localiser les différents micro-organismes *in situ* dans ces milieux fortement minéralisés.
Même s'ils en constituent la manifestation la plus spectaculaire, l'hydrothermalisme océanique ne se limite pas aux fumeurs. A proximité des dorsales océaniques, la cellule de convection hydrothermale pénètre la croûte océanique sur plusieurs kilomètres et l'eau altère les laves basaltiques et les roches mantelliques (péridotites) sur tout son trajet. Rappelons que la croûte océanique (épaisseur moyenne 8 km) est formée par l'accumulation des produits de fusion partielle du manteau silicaté de la Terre qui lui s'étend jusqu'à 2 900 km de profondeur. Les bilans (4) et (5) sont alors les principales réactions d'oxydoréduction qui accompagnent cette altération. Les forages effectués dans la croûte océanique, quelles que soient leurs profondeurs, ont systématiquement révélé la présence de micro-organismes associés à ces réactions d'altération. Quelle est la nature de ces micro-organismes ? Quel est le rôle des contaminations associées au forage ? (effectuer un forage stérile de grande ampleur est très difficile). Sont-ils réellement associés aux réactions d'altération observées ? Quelle est l'importance effective de cette biosphère profonde dans les bilans globaux (4), (5), (7), (10) et (11) ? Comment a-t-elle évolué au cours de l'histoire de notre planète ? De telles questions exigeront des progrès dans la visualisation et la détermination des micro-organismes présents à la surface et à l'intérieur même des minéraux.
En termes de matériaux, citons, parmi d'autres, deux points intéressants. Tout d'abord, dans le cas de l'altération par l'eau des roches du manteau, les bilans principaux peuvent être schématisés par :

$$Mg_2SiO_{4(\text{minéraux})} + n\ H_2O \leftrightarrow Mg_2SiO_4,\ n\ H_2O_{(\text{minéraux})} \quad (17)$$

$$Fe_2SiO_{4(\text{minéraux})} + H_2O \leftrightarrow Fe_2O_{3(\text{minéraux})} + SiO_{2(\text{minéraux})} + H_2 \quad (18)$$

Les silicates hydratés fabriqués dans ces réactions (dans la réalité minéralogique, le bilan (17) s'accompagne aussi de modifications du rapport Mg/Si), appelés serpentines (la réaction correspondante est appelée serpentinisation), sont finement divisés et ont des topologies extrêmement intéressantes (l'amiante chrysotile est une serpentine, voir par exemple [9]). Comme les zéolites, les serpentines ont potentiellement des propriétés de catalyse acido-basique et d'oxydoréduction relativement peu explorées, en tout cas *in situ* dans le milieu naturel. Elles pourraient être ou avoir été le siège de réactions d'intérêt prébiotique dans la mesure où elles sont traversées par des flux de di-hydrogène (réaction (18)) et de dioxyde de carbone venant du manteau terrestre.
L'étude de cette biosphère profonde devra s'accompagner d'un effort expérimental en physique et chimie des matériaux, visant à mieux connaître les propriétés des fluides aqueux qui circulent en profondeur dans la croûte océanique et le manteau supérieur. Les grandeurs pertinentes à mesurer en fonction de la pression et de la température sont l'équation d'état du fluide aqueux, sa structure, sa constante diélectrique, ses propriétés de transport (par exemple viscosité, conductivité électrique) et les solubilités dans le fluide des divers ions présents dans les roches. En outre, il serait important de suivre directement optiquement et chimiquement *in situ* le comportement de micro-organismes dans ces conditions géologiques. De telles mesures sont maintenant possibles dans des cellules hydrothermales dotées de fenêtres de diamant ou d'autres matériaux inertes et durs (e.g. carbure de silicium, zircones), voir par exemple [10-11].
L'étude des interactions bio-géologiques dans l'hydrothermalisme du fond de l'océan et de la croûte océanique profonde est donc riche de questions :
- extension de cette biosphère profonde ?
- quels sont les micro-organismes en jeu ?
- quels sont leurs métabolismes ?
- quels sont leurs relations structurales avec les minéraux dans ces milieux fortement minéralisés ?
- quels biominéraux spécifiques produisent-ils ?
- ces biominéraux ont-ils des fonctions spécifiques de détoxification ou autres ?

Ces interrogations seraient également légitimes dans la croûte continentale profonde, encore moins bien connue sur le plan géomicrobiologique. Des développements dans l'étude des bio-géomatériaux sont nécessaires pour tenter de répondre à ces questions.

Quelques aspects de la géomicrobiologie des carbonates

A la surface de la Terre, les carbonates sont les bio-géomatériaux les plus répandus. Par les bilans (9), (10) et (11), ils jouent un rôle fondamental dans la régulation de la teneur en CO_2 de l'atmosphère, et donc de l'effet de serre naturel, comme discuté dans l'introduction. Classiquement, la biominéralisation des carbonates est envisagée dans le cadre d'organismes pluricellulaires (par exemple les coraux ou les mollusques gastéropodes), ou unicellulaires eucaryotes (par exemple les cocolithophoridés) et une littérature considérable a exploré les mécanismes de biominéralisation dans ces organismes (voir un résumé dans [2]). Les micro-organismes procaryotes, essentiellement les bactéries, peuvent également induire des biominéralisations de carbonates (voir par exemple [12-13] parmi une abondante littérature couvrant presque un siècle) ; cet aspect est particulièrement important pour la régulation du CO_2 dans des contextes de conditions extrêmes, étant donnée l'aptitude de certains procaryotes à explorer des environnements variés de la Terre, et potentiellement d'autres planètes.
Dans ce cours, je présenterai un exemple de bactérie associée à des précipitations de carbonates en contexte aride chaud. Cette bactérie a été découverte à proximité de silicates, des pyroxènes, provenant d'une météorite initialement stérile et restée pendant une soixantaine d'années dans le sable du désert de la localité de Tataouine (Tunisie) [14-15]. L'état initial de la météorite a pu être étudié grâce à des débris ramassés par un officier français quelques heures

après la chute, en 1931, et conservés depuis au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris. A la surface des pyroxènes restés dans le désert, on a observé des efflorescences de carbonates associées à des objets bactériomorphes extrêmement petits, typiquement des bâtonnets de 200 nm de long et de 50 nm de diamètre, ou des sphères de 80 nm de diamètre [16]. Ces objets, qui ne sont pas sans rappeler les nanobactéries souvent observées dans des carbonates sédimentaires [17], sont liés à l'activité biologique et sont, comme l'a démontré Karim Benzerara de l'école doctorale des sciences de la Terre Paris VII-IPGP, des calcites monocristallines à morphologies inhabituelles. Leur relation avec des bactéries ou des produits de lyse bactérienne reste à préciser [18]. La remise en culture du sol de Tatahouine a permis aux chercheurs du Laboratoire d'écologie microbienne de la rhizosphère de Cadarache, animé par Thierry Heulin, de mettre en évidence une bactérie d'espèce nouvelle dotée d'un cycle cellulaire très particulier alternant une forme bâtonnet active avec une forme ovoïde également active et seule susceptible de divisions cellulaires [19]. Cette bactérie présente des interactions avec les pyroxènes (*figure 3*) et une structure d'altération particulière caractérisée par une couche amorphe plus épaisse qu'en absence de micro-organisme, qui se développe à l'interface micro-organisme minéral. La découverte des objets bactériomorphes à la surface des pyroxènes de la météorite de Tataouine s'est révélée particulièrement importante dans la mesure où des objets très similaires avaient été proposés comme traces potentielles de Vie martienne dans des carbonates situés à la surface d'une météorite SNC d'origine martienne collectée dans la glace de l'Antarctique (météorite ALH 84001, [20]). Il est donc fort probable que ces premières traces proposées de Vie martienne étaient en fait de la contamination terrestre par un système analogue à celui observé ici, qui impliquerait des précipitations de carbonates dans des environnements à très faibles teneurs en eau liquide (cas du désert tunisien ou de l'inlandsis antarctique). Toutefois, d'autres observations ont été faites depuis [21], révélant la présence, au sein des carbonates de la même météorite, de magnétites monocristallines et *a priori* mono-domaines magnétiques, sans défauts cristallins, de formes euhédriques et de tailles variant de 10 à 100 nm. De telles magnétites répondent aux critères habituellement utilisés dans les échantillons terrestres pour la reconnaissance de magnétites bactériennes. On peut énumérer, à titre indicatif, la liste de ces critères :

(1) pureté chimique ;
(2) perfection cristallographique, même si une fraction d'environ 10 % présente des macles ;
(3) morphologies euhédriques (le plus souvent cubo-octaédriques ou pseudo-hexagonales) ;
(4) une certaine monodispersité des tailles et des rapports d'aspect dans la population.

Toutefois, même si les magnétites martiennes répondent à ces critères et semblent ne pas pouvoir s'expliquer par de la contamination terrestre, il n'est pas certain que des processus purement inorganiques ne pourraient pas produire des magnétites aux caractéristiques similaires (par exemple [22]). Ainsi, dans le cadre des travaux de thèse d'Aude Isambert dirigés par Jean-Pierre Valet à l'Institut de Physique du Globe de Paris, nous étudions la décomposition thermique de carbonates riches en fer suivant la réaction :

$$3\ FeCO_{3(carbonate)} + \tfrac{1}{2}\ O_2 \leftrightarrow Fe_3O_{4(magnétite)} + 3\ CO_2 \quad (19)$$

qui permet de former des magnétites ayant certaines caractéristiques structurales et chimiques suffisantes pour être considérées comme biogéniques [23]. Plus de critères permettant de définir sans ambiguïté la nature biogénique d'une magnétite seront donc nécessaires pour résoudre l'énigme des magnétites martiennes et de la Vie extra-terrestre. Ces critères pourront être structuraux, chimiques, mais peut être surtout isotopiques (isotopes stables du fer et de l'oxygène). Il est intéressant et intellectuellement stimulant de constater que lorsqu'un minéral semble présenter des critères incontestables de biogénicité, un processus inorganique est souvent proposé, qui conduit à des caractéristiques similaires.

L'association magnétite-carbonates est donc un objet important de la géomicrobiologie. Pour terminer ce cours, et bien que ce problème ne relève pas à proprement parler de conditions extrêmes, il est intéressant de dire très brièvement un mot du matériau « magnétite bactérienne » car il représente l'archétype du nanobiominéral et permet de bien poser les problèmes actuels de ce type de recherche et les développements qui devront être effectués en science des matériaux pour étudier correctement ces objets. Un certain nombre d'espèces bactériennes précipitent des minéraux magnétiques mono-domaines à l'intérieur de vésicules intracellulaires appelées magnétosomes. Les magnétosomes sont alignés en chaînes à l'intérieur des cellules, ce qui confère à l'organisme un moment magnétique suffisant pour qu'il puisse s'orienter suivant le vecteur champ magnétique terrestre. L'avantage évolutif le plus évident associé à ce moment permanent est de transformer une nage tridimensionnelle à la recherche de conditions d'oxydoréduction favorables en une nage unidimensionnelle plus efficace. De fait, tant dans les milieux marins que dans les eaux douces, la densité de micro-organismes magnétotactiques est importante, surtout dans les zones de gradients d'oxydoréduction élevés (par exemple à proximité de l'interface eau-sédiment). Les minéraux magnétiques précipités sont le plus souvent des magnétites cristallographiquement quasi-parfaites (à l'exception de quelques joints de macles) et chimiquement très pures (Fe_3O_4) et parfois des greigites (Fe_3S_4). Ces minéraux sont ensuite retrouvés dans les sédiments (*figure 4*) et constituent donc un marqueur potentiel encore

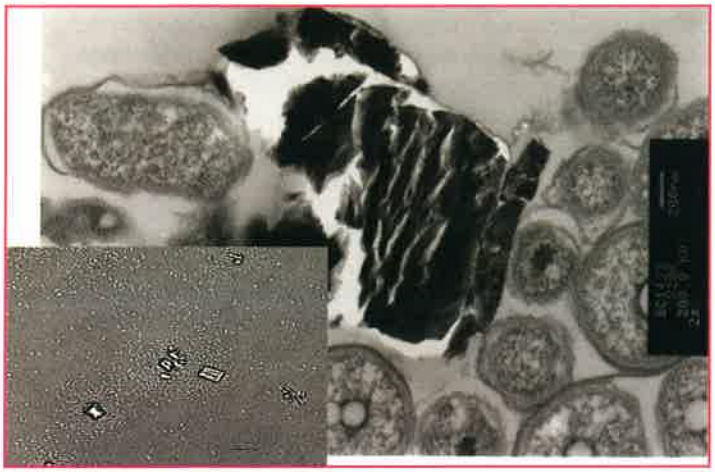


Figure 3 - Micrographie électronique en transmission d'une coupe ultramince de bactéries en contact avec un cristal de pyroxène (en noir).
Barre d'échelle verticale : 200 nm. Encart bas gauche. Image en microscopie optique montrant les cristaux de pyroxènes (formes géométriques), entourés de bactéries (coques). Entre les colonies de coques, on distingue des bacilles qui se déplacent vers les cristaux. Images : Karim Benzerara.

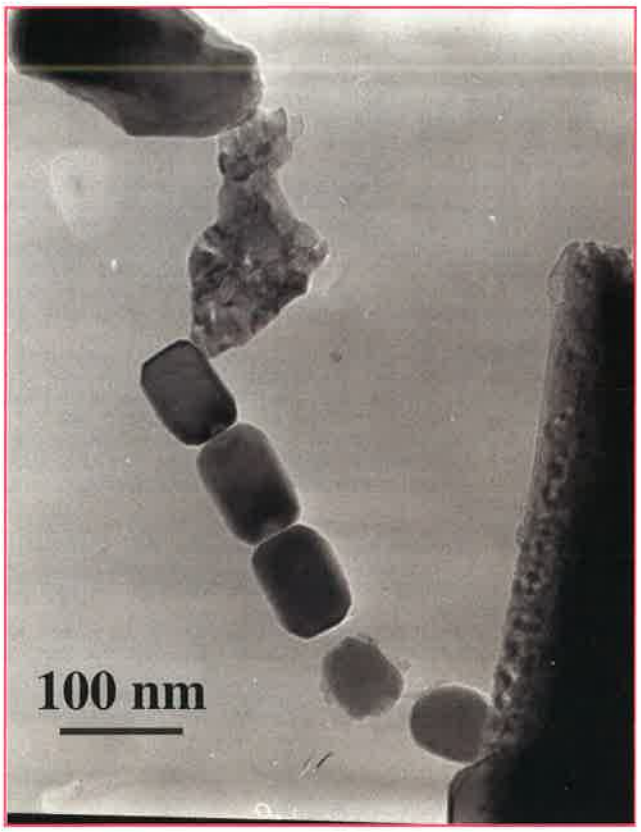


Figure 4 - Micrographie électronique à transmission. Alignement de magnétites biogéniques dans un sédiment océanique.
Image : Alexandre Gloter, Aude Isambert.

peu exploité des conditions de sédimentation ou de l'évolution post-sédimentation du milieu. Bien qu'abondamment étudié, on ne peut pas dire que le mécanisme de formation des magnétites bactériennes ait été à ce jour élucidé, ne serait-ce qu'en raison de la diversité phylétique et métabolique des bactéries magnétotactiques. La magnétite est composée à la fois de fer 2+ soluble et de fer 3+ très insoluble. Chez l'espèce *Magnetospirillum magnetotacticum*, le fer 3+ est transporté à travers la membrane par un complexe spécifique, puis réduit dans le cytoplasme, et partiellement réoxydé dans le magnétosome, en couplage avec une réduction d'ions nitrate (dénitrification, voir [2]). La coexistence d'ions fer 2+ et fer 3+ en proportions inconnues mais probablement proches de la stœchiométrie conduit à la formation des monocristaux de magnétite. Le rôle des protéines membranaires du magnétosome, qui ont été purifiées et pour lesquelles les gènes correspondants sont connus, semble être surtout important pour l'association mutuelle des magnétosomes et leur alignement dans la cellule. Il faut noter que la formation de magnétites nécessite normalement des pH élevés (> 9) et des taux de sursaturation en fer également élevés. Que se passe-t-il réellement dans les magnétosomes ? Des mesures de pH et de microchimie *in situ* dans ces vésicules, ainsi que des expériences biomimétiques de synthèses de magnétites, seraient d'un grand intérêt pour répondre à cette question.

Conclusion

La géomicrobiologie est une discipline ancienne aux limites de la géologie, la géochimie, la minéralogie, la microbiologie, la biologie moléculaire et la chimie. De nouveaux outils couplant les progrès de la physique et la chimie des matériaux à ceux de la biologie moléculaire révolutionnent ce domaine. L'objectif de ce cours a été, d'une part d'en présenter l'esprit au travers de la définition de problématiques importantes essentiellement liées à des biominéralisations en conditions extrêmes, d'autre part de montrer comment des développements en science des matériaux pourraient contribuer à faire progresser cette discipline.

En termes de matériaux, ce cours a été illustré par l'étude des biominéralisations de sulfures par des organismes extrêmophiles. La structure originale d'un biosulfure de fer et de zinc a été décrite. On a ensuite présenté les problèmes posés par l'étude des interactions bio-géochimiques dans la croûte océanique profonde et le manteau terrestre et évoqué, d'une part les caractéristiques intéressantes des matériaux serpentines, d'autre part le potentiel des cellules haute pression haute température dérivées des cellules à enclumes de diamant pour étudier la physico-chimie des fluides, et potentiellement les micro-organismes circulant à grandes profondeurs. On a ensuite présenté un exemple de formation de carbonates par des bactéries adaptées aux environnements arides et chauds. Le problème de la détection de traces de Vie dans ce type de matériau a été évoqué, entre autres à la lumière de l'interprétation d'objets bactériomorphes associés à des carbonates. On a enfin abordé la question des magnétites monocristallines et monodomaines magnétiques qui peuvent s'interpréter soit comme des produits de décomposition thermique de carbonates riches en fer, soit comme des objets biogéniques. Le cours s'est terminé en discutant la question générale des magnétites bactériennes.

La science des matériaux, couplée à la biologie moléculaire, a beaucoup à apporter à l'étude des bio-géomatériaux en conditions extrêmes. Parmi les développements prometteurs attendus au cours des prochaines années, mentionnons quelques points particulièrement importants :

(a) l'établissement réel et complet de chaînes allant d'un groupe de gènes au biominéral (l'« opéron » de biominéralisation), ce qui autorisera la recherche spécifique de ces gènes dans l'environnement et des expériences de mutagenèse ;

(b) le développement d'expériences de synthèses de biominéraux réels *in vitro* en présence des biomolécules adéquates ;

(c) le développement accru des méthodes déjà existantes de marquages spécifiques, immunologiques ou autres, pour la microscopie optique ou électronique, fonctionnant bien en milieux fortement minéralisés de l'environnement naturel ;

(d) la détection et la caractérisation complètes d'organismes uniques présents à la surface ou à l'intérieur de minéraux réels ;

(e) l'étude de micro-organismes uniques *in situ* en conditions physico-chimiques extrêmes ;

(f) l'étude à haute résolution de la physique et de la chimie de l'interface complexe entre micro-organisme et solide minéral.

Remerciements

Ce cours a été en partie illustré par des exemples scientifiques empruntés à trois jeunes chercheurs en cours de thèse ou qui viennent de la soutenir : Magali Zbinden au Laboratoire de biologie du développement à Paris VI (équipe de Françoise Gaill), Karim Benzerara au Laboratoire de

minéralogie cristallographie de Paris, et Aude Isambert au Laboratoire de paléomagnétisme de l'Institut de Physique du Globe de Paris (Jean-Pierre Valet directeur de thèse). Les résultats obtenus sur les pyroxènes et les carbonates du milieu aride tunisien sont le fruit d'une collaboration avec le groupe de Thierry Heulin à Cadarache (Laboratoire d'écologie microbienne de la rhizosphère). Le choix du système remarquable de Tataouine est dû à l'intuition scientifique de Philippe Gillet et à des travaux antérieurs de Jean-Alix Barrat, Maurice Lesourd et Philippe Gillet.

Références

[1] Banfield J.F., Nealson K.H, Geomicrobiology: interactions between microbes and minerals, *Reviews in Mineralogy, vol. 35*, Mineralogical Society of America, Washington DC, **1997**.

[2] Bauerlein E., *Biomineralization*, Wiley-CCH, Weinheim, **2000**.

[3] Lécuyer C., Simon L., Guyot F., Comparison of carbon, nitrogen and water budgets on Venus and the Earth, *Earth Planet. Sci. Lett.*, 2000, *181*, p. 33.

[4] Boetius A., Ravenschlag K., Schubert C.J., Rickert D., Widdel F., Glesecke A., Amman R., Barker Jorgensen B., Witte U., Pfannkuche O., *Nature*, **2000**, *407*, p. 623.

[5] Seafloor hydrothermal mineralization, *Canadian Mineralogist*, **1988**, *vol. 26*.

[6] Gaill F., Hunt S., The biology of Annelid worms from high temperature hydrothermal vent regions, *Reviews in Aquatic Sciences*, **1991**, *4*, p. 107.

[7] Zbinden M., Martinez I., Guyot F., Cambon-Bonavita M., Gaill F., Zinc-iron sulphide mineralization in tubes of hydrothermal vent worms, *Eur. J. Mineral.*, **2001**, *13*, p. 653.

[8] Zbinden M., Le Bris N., Compère P., Martinez I., Guyot F., Gaill F., Mineralogical gradients associated with alvinellids at deep-sea hydrothermal vents, *Deep Sea Res.*, **2003**, *1(50)*, p. 269.

[9] Amelinckx S., Devouard B., Baronnet A., Geometrical aspects of the diffraction space of serpentine rolled microstructures: Their study by means of electron diffraction and microscopy, *Acta Crystallographica*, **1996**, *A52*, p. 850.

[10] Sanchez-Valle C., Martinez I., Daniel I., Philippot P., Bohic S., Simionovici A., Dissolution of strontianite at P-T conditions in cold subducting slabs: an *in situ* Synchrotron X-ray fluorescence study, *American Mineralogist*, **2003**, *88*, p. 978.

[11] Anderson A.J., Jayanetti S., Mayanovic R., Bassett W.A., Chou I.M., X-ray spectroscopic investigations of fluids in the hydrothermal diamond anvil cell: the hydration structure of aqueous La^{3+} up to 300 °C and 1 600 bars, *American Mineralogist*, **2002**, *87*, p. 262.

[12] Drew G.H., The action of some denitrifying bacteria in tropical and temperate seas, and the bacterial precipitation of calcium carbonate in the sea, *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **1911**, *9*, p. 142.

[13] Castanier S., Le Metayer-Levrel G., Perthuisot J.-P., Bacterial roles in the precipitation of carbonate minerals, *Microbial Sediments*, R.E. Riding, S.M. Awramik (eds), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2000**, p. 32.

[14] Lacroix A., Sur la chute récente (27 juin 1931) d'une météorite asidérite dans l'Extrême Sud tunisien, *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris*, **1931**, *193*, p. 305.

[15] Lacroix A., La météorite (diogénite) de Tataouine, Tunisie (27 juin 1931), *Bulletin de la Société Française de Minéralogie*, **1932**, *55*, p. 101.

[16] Gillet P., Barrat J.-A., Heulin T., Achouak W., Lesourd M., Guyot F., Benzerara K., Bacteria in the Tatahouine meteorite: nanometric-scale life in rocks, *Earth and Planetary Science Letters*, **2000**, *175*, p. 161.

[17] Folk R.L, SEM imaging of bacteria and nanobacteria in carbonate sediments and rocks, *Journal of Sedimentary Petrology*, **1993**, *63*, p. 990.

[18] Benzerara K., Menguy N., Guyot F., Dominici D., Gillet P., Nannobacteria-like calcites at the surface of the Tatahouine meteorite, *PNAS*, **2003**, *100*, p. 589.

[19] Heulin T., Barakat M., Christen R., Lesourd M., Sutra L., de Luca G., Achouak W., *Ramlibacter tataouinensis* gen. nov., sp. nov. and *Ramlibacter henchirensis* sp. nov., cyst-producing bacteria isolated from sub-desert soil in Tunisia, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **2003**, *53*, p. 589.

[20] McKay D.S., Gibson E.K., Thomas-Keprta K.L., Vali H., Romanek C.S., Chillier X.D.F., Maechling C.R., Zare R.N., Search for past life on Mars: possible relic biogenic activity in Martian meteorite ALH84001, *Science*, **1996**, *273*, p. 924.

[21] Thomas-Keptra K.L., Clemett S.J., Bazylinsky D.A., Kirschvink J.L., McKay D.S., Wentworth S.J., Vali H., Gibson Jr. E.K., McKay M.F., Romanek C.S., Truncated hexa-octahedral magnetite crystals in ALH84001: presumptive biosignatures, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **2001**, *98*, p. 2164.

[22] Barber D.J., Scott E.R.D., Origin of supposedly biogenic magnetite in the Martian meteorite Allan Hills 84001, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, *99*, p. 6556.

[23] Isambert A., Gloter A., Valet J.-P., Guyot F., Stable mn-magnetite derived from siderite by heating in air, *J. Geophys. Res.*, **2003**, *108, n° B6*, p. 2283.

François Guyot
est professeur de géologie à l'université Denis Diderot, chercheur en minéralogie au Laboratoire de minéralogie-cristallographie de Paris VI* et à l'Institut de Physique du Globe de Paris.

* Laboratoire de minéralogie-cristallographie de Paris, UMR 7590 CNRS-Paris VI, Tour 16, case 115, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05.
E-mail : guyot@lmcp.jussieu.fr

XVIIIe Forum Horizon Chimie

28-29 janvier 2004
Paris

En association avec l'Association Bernard Gregory (ABG) et l'UIC-Ile de France, la SFC sera présente à la Maison de la Chimie pour vous aider dans votre recherche d'emploi (présentation de l'industrie chimique, ateliers techniques de recherche d'emploi, relectures de CV, simulations d'entretiens d'embauche).

Venez retrouver également l'équipe de *L'Actualité Chimique* sur le stand de la SFC !

• Maison de la Chimie, 28 bis rue Saint-Dominique, Paris 7e.
Entrée libre à partir de 10 h.
infos@forum.espci.fr
http://www.forum.espci.fr

L'année de la chimie en Allemagne

Les politiques au secours de l'industrie chimique européenne

Gilbert Schorsch

Le bicentenaire de la naissance de Liebig

Pour redorer le blason de la chimie, autorités fédérales et sociétés savantes allemandes, avec à leur tête la Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh), avaient pris l'initiative de faire de 2003, année du bicentenaire de la naissance de Justus von Liebig, « l'année de la chimie » en Allemagne. Commencées à Giessen, où Liebig avait effectué une grande partie de ses recherches et où se trouve toujours le Musée Liebig, les cérémonies et expositions se sont succédées pour démontrer la place de la chimie dans notre vie quotidienne. Elles se termineront lors de l'assemblée annuelle de la GDCh, en octobre à Münich.

L'industrie chimique allemande ne pouvait rester absente de ces manifestations. Coup sur coup, en l'espace d'une semaine, deux manifestations complémentaires se sont tenues pour rappeler la contribution prépondérante de l'industrie chimique à l'économie européenne.

Le symposium international de Wacker : « Il y a encore tant à inventer » (Münich, 23 juin 2003)

Wacker tenait à célébrer aussi son centenaire : celui du « Consortium für elektrochemische industrie » (voir *encadré 1*), le groupement de recherche de base de l'entreprise, avec des conférenciers de premier plan (Jean-Marie Lehn et Richard R. Ernst, prix Nobel de chimie et Ernst-Ludwig Winnacker, président de la « Deutsche Forschungsgemeinschaft », entre autres). Organisée à l'Université Technique de Münich, avec laquelle le groupe collabore depuis longtemps, la manifestation avait rassemblé plus de 600 participants (partenaires, clients et collaborateurs de Wacker). Recherche et innovation, expériences vécues et perspectives, étaient au centre des débats, conduits par le professeur Johann Weis, directeur actuel du Consortium. La boucle vertueuse évoquée par le Dr Wilhelm Sittenthaler (membre du Directoire et

Encadré 1

Le « Consortium pour l'industrie électrochimique » à l'origine du développement et de la réussite de Wacker

Vers la fin du XIXe siècle, Alexander Wacker dirigeait une société spécialisée dans le développement de l'énergie électrique en Europe. A ce titre, il participa à la mise en place de fours de carbure de calcium à proximité de centrales électriques hydrauliques en Norvège, Bosnie et Suisse entre autres. Ce carbure de calcium, obtenu à partir de chaux et de carbone, devait servir à la production d'acétylène utilisé pour l'éclairage domestique et public. Malheureusement, trop rapidement, l'éclairage fut assuré directement par le courant électrique lui-même. Il fallut vite trouver des utilisations pour consommer l'acétylène fabriqué par la batterie de fours à carbure. Tel fut l'objectif initial assigné à la petite équipe de recherche mise en place le 25 mars 1903 à Nuremberg.

Rapidement, de la chimie de l'acétylène à la pétrochimie, des procédés de fabrication de tétrachloro-acétylène – *base de la gamme des solvants chlorés ininflammables, tri et perchloro...* –, d'acétaldéhyde par addition directe d'eau sur l'acétylène et d'acide acétique, d'anhydride acétique à partir de cétène – *bases du développement de l'acétate de cellulose* –, d'acétate de vinyle – *base des polyacétates de vinyle, les Vinnapas, utilisés comme colles ou liants, ainsi que des alcools polyvinyliques* – virent le jour dans les laboratoires du Consortium. Plus près de nous, un procédé d'oxydation directe en phase aqueuse de l'acétylène par catalyse homogène – *qui s'est imposé comme le procédé de référence d'accès à l'acétaldéhyde, connu sous le nom du procédé Wacker-Hoechst* – a également été mis au point par les laboratoires du Consortium.

Dès 1914, la Société Wacker a vu le jour pour développer les procédés issus du Consortium. C'est un cas unique de fille plus âgée que la mère ! C'est dire que le personnel a répondu rapidement, et au-delà de toute espérance, aux objectifs assignés par le fondateur. Par la suite, le Consortium a travaillé, entre autres, sur les produits de protection des plantes – *dont les activités ont été cédées entre-temps à Dow* –, et sur le développement du silicium polycristallin ultra pur – *à la base du développement actuel de Wacker dans la micro-électronique.*

Le Consortium fait actuellement office de Laboratoire central de recherche de Wacker.

A une époque où la majorité des grandes sociétés chimiques annoncent, les unes après les autres, la décentralisation de leurs activités de recherche vers les divisions ou départements pour se rapprocher des besoins des clients, il est réjouissant de voir que les sociétés intermédiaires – *Wacker aujourd'hui, le Finlandais Kemira visité hier* –, ne craignent pas de se montrer « scientifiquement incorrectes », en affichant ostensiblement une activité de recherche de base, à la croisée de la recherche universitaire et des besoins des activités.

Dirigé depuis 2002 par le professeur Johann Weis – *dont toute la carrière s'est déroulée chez Wacker et qui a été nommé, en 2000, professeur honoraire à l'université de Würzburg où il enseignait depuis 1998* -, le groupe comprend environ 200 chercheurs actuellement. Il est organisé autour de thématiques transversales telles que procédés et catalyse, matériaux et polymères hybrides, biotechnologies – *un procédé d'accès à des cyclodextrines a été monté récemment aux États-Unis* –, synthèse organique et chirale – *pour le développement de cystéine, utilisable pour le pétrissage du pain et en cosmétique pour la fixation des permanentes.*

L'organisation du symposium est la preuve de la confiance de Wacker dans la recherche et l'innovation. Il n'est donc pas étonnant que le groupe se classe au 10e rang mondial des sociétés chimiques pour l'effort de recherche, exprimé en pourcentage par rapport au CA !

responsable de la R § D de Wacker) : « *La recherche transforme l'argent en connaissances, et l'innovation transforme ces connaissances en argent* » traduit parfaitement la philosophie de l'entreprise. Mais dans leurs discours respectifs, Peter-Alexander Wacker et Wilhelm Sittenthaler se sont surtout appliqués à démontrer combien l'innovation chimique est vitale pour l'économie allemande en général. L'industrie chimique ne vend-elle pas 80 % de ses produits à des industries en aval qui les intègrent pour le développement de leurs propres innovations ? Le chiffre d'affaires annuel des produits industriels nouveaux basés sur des produits chimiques se chiffre à plus de 10 milliards d'euros. Avec un budget de recherche annuel de 4 milliards d'euros, la seule recherche chimique représente 10 % du budget total de la R § D en Allemagne. L'industrie chimique est bien une industrie clef !

L'Assemblée générale du CEFIC (Hambourg, 26-27 juin 2003)

Fort opportunément, le VCI « der Verband der Chemische Industrie », l'UIC allemande, avait proposé d'organiser l'Assemblée générale en Allemagne, arguant de l'année de la chimie... et profitant de la présence à la tête du CEFIC d'Eggert Voscherau, n° 2 de la BASF. Occasion pour les professionnels des pays membres de la Communauté européenne de partager leurs préoccupations actuelles. Celles-ci sont nombreuses et difficiles, avec les contraintes législatives à venir en matière de politique des produits chimiques (le *Livre blanc*) et des rejets de gaz à effet de serre (protocole de Kyoto). Occasion aussi pour la presse technique de s'intéresser aux activités industrielles de la région de Hambourg (*encadré 2*).

Une composante politique commune aux deux manifestations

Le contenu technique des contributions a été, une fois n'est pas coutume, quelque peu relégué au second plan. Les deux manifestations avaient un point commun, la présence de politiques de premier plan, avec un objectif clair, la défense de la compétitivité de l'industrie chimique européenne.

A Münich, le Dr Alexander Wacker, face à Edmund Stoeber, et à Hambourg, le Dr Eggert Voscherau, face à Gerhard Schröder, ont réaffirmé haut et fort le rôle-clé de l'industrie chimique européenne (voir ci-dessus). Celle-ci reste encore leader mondial – *avec 30 000 entreprises et 1,7 millions d'emplois, un chiffre d'affaires et un excédent commercial de 519 milliards d'euros et de 67 milliards d'euros en 2001*. Mais les régulations, en cours de préparation à Bruxelles, risquent de nuire à la compétitivité de l'industrie chimique et de l'économie européenne en général. Toutes les études en cours – *Arthur Little en Allemagne, Mercer en France...* – confirment l'impact négatif sur l'emploi dans l'industrie des futures obligations du projet REACH (Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals pour les produits vendus à plus d'une tonne) : de 150 000 à 2 350 000 postes en Allemagne, de 350 000 à 670 000 postes en France, selon le scénario envisagé. L'Europe ne peut se payer une telle hémorragie !

Figure 2 - Gerhard Schröder défend l'industrie chimique européenne au podium du CEFIC.

Par leur seule présence déjà, mais aussi dans leurs interventions respectives, les deux opposants politiques se sont montrés unis pour partager ces inquiétudes. A Münich, Edmund Stoeber, pour préserver le rôle moteur de la recherche et de l'industrie bavaroise et allemande, s'est engagé à faire son possible pour aboutir à une réglementation pratique. A Hambourg, face à Erkki Likkanen, Commissaire

Encadré 2

La conférence du professeur Winnacker au symposium Wacker

Le Dr Winnacker a profité du cinquantenaire de la publication de Watson et Crick (décidément les anniversaires sont nombreux en 2003). Il est parti de la structure en hélice des ADN, « la Mona Lisa des biologistes » car aussi élégante et mystérieuse, pour discuter les avantages de cette structure et revenir sur le fonctionnement des gènes et sur l'intérêt du décryptage récent du génome humain. Il a abordé le fonctionnement et les fonctions des systèmes complexes, cerveau et langage en particulier. Il faut lire l'intégralité de cette contribution, la plus intelligente et stimulante des conférences présentées. Retenons, entre autres, l'analogie originale qu'il a développée entre les systèmes biologiques et les systèmes techniques complexes. Leur structuration et leur fonctionnement sont basés sur leur robustesse, leur modularité et leur redondance. Exemple ? Un Airbus 340 est constitué de plus de 150 000 sous-systèmes et piloté par environ 1 000 calculateurs. La coupure d'un câble quelconque d'un des sous-systèmes n'aura aucune incidence sur le vol. De même, il a été montré que l'absence de plus de 80 % des gènes d'une souris n'aura aucun effet sur le comportement et les réactions de celle-ci. C'est dire que nous sommes loin de maîtriser encore ces types de systèmes. Il y a même un paradoxe évident entre la masse et la qualité de l'information véhiculée par les systèmes biologiques et la connaissance actuelle que nous en avons. Il y a encore de beaux jours pour la recherche, à condition de trouver des moyens pour la financer ou des arguments pertinents pour en fixer les priorités.

Figure 1 - Simulation du vol de l'Airbus 380. © Airbus.

Encadré 3

La « logistique » au cœur de la compétition industrielle

Je reconnais qu'en prenant connaissance du programme des visites organisées à l'occasion de l'Assemblée générale du CEFIC, je m'étais réellement interrogé sur l'opportunité d'y participer. Certes, la visite du site fondateur de Wacker à Burghausen, avec plus de 10 000 emplois, était de circonstance. Mais pourquoi le CEFIC tenait-il à promener la presse chimique chez Beiersdorf – *le producteur de cosmétiques, objet actuellement de nombreuses convoitises...* –, chez Airbus et dans le port de Hambourg ? Que peut-il y avoir de commun entre la formulation de l'emblématique crème Nivéa, l'assemblage de la ligne des Airbus A318 à 321, et la visite détaillée du 8e port mondial sur l'Elbe qui, comme ses concurrents, a dû s'adapter à l'évolution rapide du transport maritime, passant très rapidement il y a une vingtaine d'années, du transport en vrac à celui par containers... pour livrer « *just in time* » ? Réponse : la démonstration du rôle déterminant de la logistique dans toute activité industrielle. L'innovation ne sert à rien si la société qui la met au point ne la livre pas à temps et au moindre coût.

Mais il y a aussi une analogie technique entre les diverses activités visitées. Dans une crème Nivéa, chacun des 18 produits chimiques qui la composent n'a, seul, qu'un intérêt limité. Les propriétés d'usage recherchées par le consommateur résultent à la fois du choix des ingrédients et de la technologie utilisée pour les formuler ensemble. De même, dans le futur Airbus 380, objet d'une belle coopération européenne, l'aileron et le réacteur participent, chacun avec leur fonction spécifique, à la réussite et aux performances globales de l'avion. Le procédé de formulation de la crème Nivéa (*figure 3*), nous a été commenté en détail chez Beiersdorf. Chez Wacker, à Burhausen, nous avons vu l'optimisation de la gestion de tout un site chimique qui, avec un nombre limité de matières premières, est arrivé à optimiser ses coûts de production (*figure 4*). Ces deux figures nous livrent une illustration parfaite de la rigueur technologique nécessaire à l'élaboration et à l'utilisation des produits chimiques. La production des divers composants de l'Airbus 380 (*figure 5*) et son assemblage final prochain à Toulouse procèdent des mêmes contraintes technologiques et... logistiques.

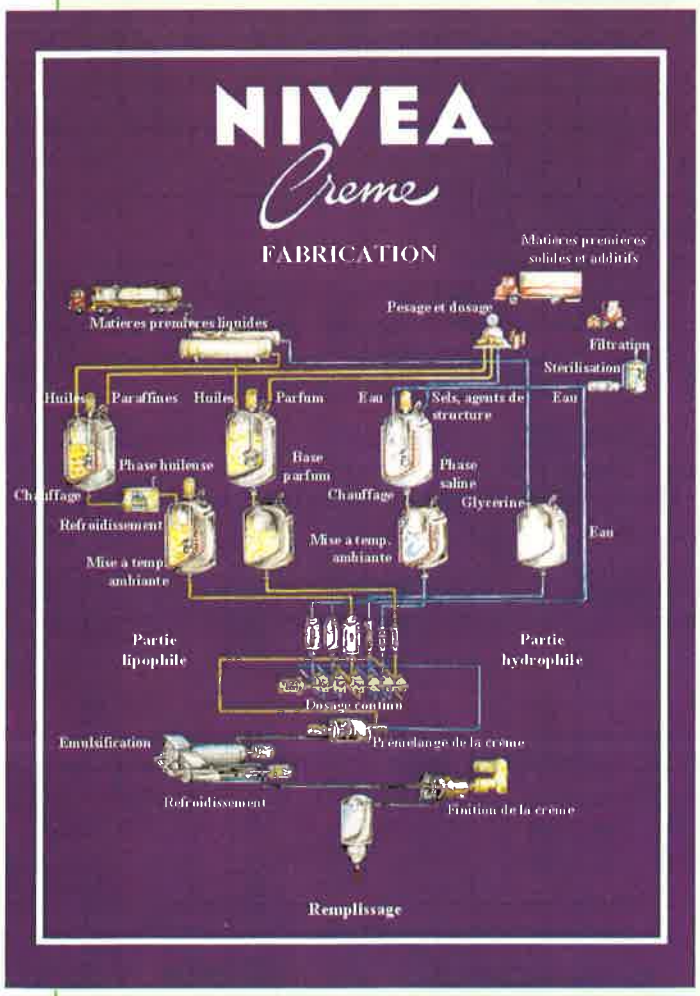


Figure 3 - Le schéma de **formulation** de la crème Nivéa. © Beiersdorf.

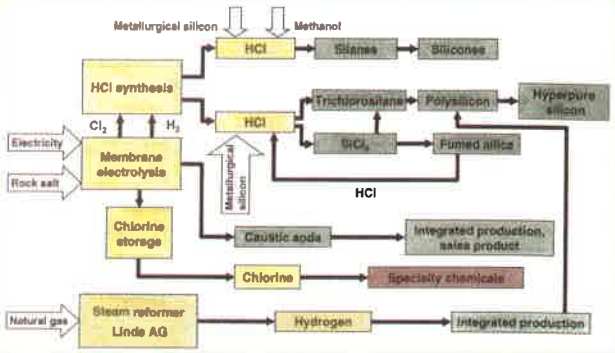


Figure 4 - Optimisation du flux des matières premières et des utilités à l'usine de Burghausen. © Wacker.

Figure 5 - Le hall d'**assemblage** de l'usine Airbus de Hambourg. © Airbus.

Puisse d'ailleurs l'exemple de cette collaboration dans l'aéronautique, où Airbus dépasse actuellement Boeing, inspirer l'industrie chimique européenne pour qu'elle défende sa position mondiale. Ce n'est donc pas par hasard que le CEFIC a proposé la création d'une Agence chimique européenne. Son rôle ? Défendre d'abord, développer ensuite, une industrie qui, sous la pression actuelle, n'a guère le temps d'innover !

européen, responsable de la thématique « Entreprise et société de l'information », Gerhard Schröder a souligné la nécessité de ne pas entraver le dynamisme et la compétitivité de l'économie européenne et de veiller à aboutir à des mesures raisonnables. Il s'est déclaré fidèle à la lettre, qu'avec Tony Blair et Jacques Chirac, il avait transmise à la présidence grecque de la Commission il y a trois mois : « *L'industrie européenne ne peut être utilisée comme laboratoire pour expérimenter des régulations qui augmentent les coûts et pénalisent les employeurs* ».

Eggert Voscherau a plaidé pour une réglementation sur les produits chimiques plus opérationnelle et « *moins bureaucratique, c'est-à-dire simplifiée, rapide et moins coûteuse pour les entreprises et les administrations* ». Il a simultanément proposé la mise en place d'un « Comité consultatif européen pour les produits chimiques », à l'image de celui qui fonctionne dans l'aéronautique.

Dans son intervention, comme pour se défendre, le représentant de la Commission a commencé par rappeler son intention de faire réexaminer l'ensemble des politiques européennes (industrielle, sociale, environnementale...) pour que les obstacles à la compétitivité soient corrigés. Il a aussi signalé que la Commission entendait les appels de ses interlocuteurs pour adapter les dispositions : exclusion de la liste de la moitié des polymères, délais d'évaluation prolongés... Bref, les fils sont renoués. Suite au *Livre blanc*, les propositions d'application de la Commission (un rapport de 1 200 pages !) ont été soumises, pour avis et réaménagement éventuel, aux entreprises et aux administrations nationales. Le texte définitif est attendu d'ici octobre.

Conclusion

L'initiative de nos collègues de la GDCh, de faire de 2003 l'année de la chimie, aura au moins fait ressortir le rôle déterminant de la chimie pour l'économie et la convergence des politiques sur ce point qui, au-delà de leurs oppositions, se sont montrés responsables de l'avenir de l'Europe. Edmund Stoeber s'est engagé pour préserver le rôle moteur de la Bavière, avec son triangle chimique englobant Burghausen (Wacker), Gendorf (Clariant, Dyneon...) et Trostberg (Degussa...). Gerhard Schröder en a fait de même pour la chimie allemande (BASF, Bayer, Degussa...) et européenne, au sein de laquelle l'Allemagne tient, et de loin, la première place. Puissent leurs mots se concrétiser en actes !

Gilbert Schorsch
est conseiller Recherche-Innovation à l'UIC Ile-de-France et ancien rédacteur en chef de *L'Actualité Chimique*.

Contact : *L'Actualité Chimique*,
250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris.
E-mail : ac@sfc.fr

CENTRE DE RESSOURCES TECHNOLOGIQUES
CRT
Procédés Plasma Laser

Le CRT Plasma Laser

Le CRT Plasma Laser est une structure associative (loi 1901) créée en 1995 par des partenaires du monde de la recherche et du monde de l'industrie. Basé à Orléans, le CRT PL agit sur tout le territoire français. **Sa vocation** est la promotion et le développement des technologies Plasma et Laser et leurs applications.

Sa mission :
- Assurer pour tous ses partenaires, une veille scientifique et technologique et proposer des actions structurantes de développement technologique de produits et de procédés.
- Aider ses clients et ses partenaires – de grands groupes industriels et PME/PMI- à améliorer leur compétitivité et leurs performances par l'intégration de nouvelles technologies.

Le CRT Plasma Laser intervient tout au long du cycle de vie d'un projet : de l'idée (veille technologie, tests, études de faisabilité technico-économiqe, expertise globale en ingénierie financière) à sa concrétisation (conception, développement, mise en œuvre et validation de solutions...).

Le CRT PL mène actuellement des travaux de conception et de mise en place du projet EOLIAN. **EOLIAN** est une plateforme Européenne pour le développement et la validation de procédés innovants de traitement des effluents gazeux polluants par des procédés plus performants à base de **technologies combinées.** Dans ce domaine, la mission d'EOLIAN est d'aider à l'émergence de procédés nouveaux de traitement de l'air en tenant compte de l'efficacité d'abattement des procédés, leur encombrement, leur coût d'investissement, leur coût de fonctionnement et leur caractère évolutif avec les procédés industriels des entreprises.

Contacts au CRT Plasma Laser

Xavier LAUNAY
Ingénieur Chargé d'Affaires
Tél. : 02 38 49 48 88
Mail : launay.crt.plasma-laser@univ-orleans.fr

Philippe ARNOULD
Directeur Technique
Tél. : 02 38 49 48 89
Mail : arnould.crt.plasma-laser@univ-orleans.fr

MSD La Vallée

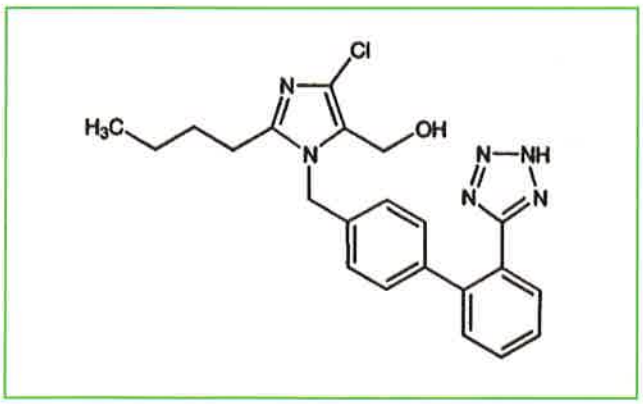
Une usine de chimie fine en plein cœur de l'Auvergne

Séverine Bléneau-Serdel

En mars dernier, Gilbert Schorsch nous avait présenté la société pharmaceutique américaine Merck Sharp & Dohme (MSD), à l'occasion de la visite du site de production de Mirabel (voir *L'Act. Chim.*, mars 2003, p. 17). MSD a renouvelé son invitation à la presse scientifique et technique en nous ouvrant les portes de l'usine de chimie fine de La Vallée, située à 7 km du Puy-en-Velay (22 000 hab., agglomération : 50 000 hab.), préfecture dynamique de la Haute-Loire.
C'est en effet dans cette région dépaysante, que ne dessert ni autoroute ni TGV, et qui est plus connue pour son agriculture (élevage bovin, lentilles...) et ses dentelles que pour son industrie, que le groupe a choisi de s'installer.

La Vallée : la chimie fine de demain

L'usine de La Vallée est l'une des rares usines de chimie fine implantées en France (moins d'une dizaine) et une des neuf de MSD de part le monde.
Située sur une vaste zone de 55 hectares, elle a été inaugurée en 1985, a connu une forte automatisation à la fin des années 90 et a nécessité un investissement de 110 millions d'euros. Elle fonctionne 24 heures sur 24, 7 jours sur 7.



Formule du **losartan**.
Pour la synthèse, voir Carini D.J. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, p. 2525.

La Vallée produit 6 principes actifs qui sont expédiés dans le monde entier pour y être formulés (comprimés, gélules...) et conditionnés. Avec un volume de 200 t/an, elle est surtout le fournisseur principal du losartan, anti-hypertenseur majeur du groupe (Cozaar/Hyzaar®, ventes prévisionnelles en 2002 : 2,2 milliards de dollars, 12 millions de patients, près de 5 000 publications).
Guidés par Benoît Leleu, directeur du site, et Frédéric Pech, chef du service ressources humaines et formation, nous avons visité différentes unités : magasin de stockage des matières premières et produits finis, parcs à solvants, station d'épuration, laboratoire d'analyses (qui intervient avant, pendant et après la synthèse), laboratoire de R & D, ateliers de production... ; l'ensemble est supervisé et contrôlé depuis différents postes répartis dans toute l'entreprise. Trois éléments principaux en ressortent :
- la haute technologie (avec notamment 50 automates programmables). Tout se passe dans les 40 réacteurs (d'une capacité de 800 à 10 000 L). On peut y gérer 4 étapes de synthèse à la fois. La logistique est simple : environ 150 matières premières et 6 produits finis, mais la fabrication d'un médicament nécessite un parcours sans faute ;
- la sécurité, intégrée dès le stade d'étude d'un projet, et la propreté où ressort l'influence américaine ;
- et l'importance de « l'homme » aux commandes. « *Nous tenons à garder l'homme près de la machine* » souligne Philippe Bourhis, chef du service automatisme et informatique.

Qui travaille à La Vallée ?

Sur les 2 450 personnes employées par le groupe en France, 230 travaillent à La Vallée, pour la plupart chimistes de formation supérieure (66 % du personnel a un niveau supérieur au bac), dont 45 cadres (principalement ingénieurs ou ingénieurs-docteurs chimistes). « *Être chimiste, c'est la condition pour entrer à la Vallée* » précise F. Pech. La moyenne d'âge y est de 35 ans, avec 50 % de femmes.
La main d'œuvre est bien formée, motivée et dynamique. Chaque salarié bénéficie en moyenne de 60 heures de formation par an, l'objectif étant notamment de maintenir et faire évoluer le niveau technique.
Au départ, le personnel était constitué à 95 % de « locaux », pour 85 % maintenant, et F. Pech ne cache pas qu'il est

Réacteur du losartan. © MSD.

L'importance de la sécurité est donnée dès l'entrée.

assez difficile de faire venir des gens étrangers à cette région peu accessible et industrialisée : si le cadre de vie est privilégié, il offre néanmoins peu de possibilités d'embauche pour les conjoints des futurs collaborateurs.
Cependant, les formations de chimistes y sont nombreuses, avec l'IUT de chimie, un BTS et une licence au Puy-en-Velay, et d'autre part, l'École de Chimie de Clermont-Ferrand…
Si toute fantaisie est bannie dans la production, la recherche de stratégies novatrices pour plus de performances dans la productivité intervient à plusieurs niveaux (laboratoire de développement, R & D en procédés et amélioration des procédés…). B. Leleu est d'ailleurs fier de l'augmentation de 30 % de la productivité due à la « matière grise » : meilleure utilisation des compétences et du matériel, amélioration importante du recyclage des solvants… D'autre part, un bureau d'étude interne conçoit avec anticipation de nouvelles « chaînes » de production.
A cette recherche d'une productivité supérieure viennent s'ajouter d'autres valeurs : sécurité, qualité et respect de l'environnement.
Concernant la sécurité, comme mentionné plus haut, elle est partout et les mêmes règles sont imposées à tous les niveaux de la hiérarchie. Un grand nombre de salariés sont pompiers bénévoles et ont leur propre caserne. D'autre part, l'usine ferme un mois en été pour maintenance et 300 personnes de l'extérieur entrent alors sur le site.
On retrouve à La Vallée les trois principes fondamentaux de MSD : rigueur, fiabilité et éthique, et les salariés sont fiers de l'engagement économique (*gagner de l'argent mais pas n'importe comment*) et éthique de MSD (avec plusieurs programmes dont le Mectizan® et la lutte contre le SIDA – voir *L'Act. Chim.*, mars 2003, p. 17).
Une constatation cependant : les Français ne sont pas acteurs des grandes décisions du groupe.

Une entreprise citoyenne

La Vallée occupe une place prépondérante dans l'industrie régionale car c'est l'une des principales industries de la région (avec les équipementiers automobiles…). Acteur économique donc, mais aussi acteur du développement local. En effet, le personnel de l'usine s'engage dans la vie locale, régionale, et crée des relations solides avec les politiques, le voisinage, les écoles, les industriels locaux.
La Vallée fait de gros effort au niveau local par souci de clarté et pour promouvoir l'image de la chimie (et pas seulement celle de Merck). L'objectif est également de ré-attirer les jeunes vers les métiers de la chimie pour combler le trou d'effectifs prévu au niveau national vers 2006.
En octobre 2002, l'usine a notamment ouvert ses portes au public durant trois jours dans le cadre de « A la rencontre de la chimie », opération nationale organisée par l'UIC. Le public a bien répondu à l'invitation puisque près de 2 200 personnes s'y sont succédées, preuve de l'intérêt suscité par ce type d'initiative !
Autre fierté de l'entreprise : la création d'un diplôme de CAP « opérateur dans le recyclage des déchets », subventionné par MSD, en partenariat avec l'Institut Catholique des Sciences de la Vie et de la Terre et le lycée Anne-Marie Martel du Puy-en-Velay. D'autre part, La Vallée accueille de nombreux stages en alternance.

Concernant l'avenir de La Vallée, B. Leleu est confiant car le losartan a encore de beaux jours devant lui. De plus, le pipeline de MSD compte aujourd'hui 11 nouveaux produits (dont 5 sont en fait des améliorations de produits déjà existants), produits dont certains pourraient être fabriqués à La Vallée lorsque le brevet du losartan arrivera à son terme.

Merci aux différents interlocuteurs pour leur disponibilité, au Dr Muriel Haïm, directrice des relations extérieures, des affaires économiques et de la communication de MSD France, et à Claude Rouleau de l'agence Together, pour l'organisation de ce déplacement.

• La Vallée
Laboratoires Merck Sharp & Dohme-Chibret
Zone industrielle Blavozy - St-Germain Laprade
43700 Brives Charensac
Tél. : 04 71 01 60 00.

Séverine Bléneau-Serdel
est rédactrice en chef adjointe de *L'Actualité Chimique**.

* 250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris.
Tél. : 01 40 46 71 64. Fax : 01 40 46 71 61.
E-mail : sbleneau@sfc.fr

Une usine chimique à la campagne.

De l'analyse de terrain à l'analyse en laboratoire

Application à l'analyse d'hydrocarbures dans un échantillon d'eau

Marie-Christine Morel-Fourcade, Claudine David et Christine Pernelle

Abstract **On site characterization by field measurements and comparison with laboratory analysis. Application on analyses of polluted sample with hydrocarbure**
The physico-chemistry department has developed a training course concerning chemistry analysis for environment control. Student's levels range from bachelor + 4 years up to engineers. Ages, professional experiences, origins are different. Following oral teaching and exercises, practical exercises are proposed in each session. One example is detailed to highlight how students are made sensitive to difficulties and traps to be overcome on site and then in laboratory analysis. Students are given two samples: one polluted with BTEX at low concentrations and the other with diesel fuel. On site analysis is simulated using colorimetric tests. In-lab analysis uses solid phase microextraction gas chromatography with flame ionisation detector. Students have to address different issues regarding deterioration/loss of sample, samples contamination, interferences, choice of the most appropriate detectors, explanation of differences between on site and in lab analyses, main factors impacting costs and safety.

Mots-clés **Chromatographie en phase gazeuse, analyse de terrains, tubes colorimétriques, analyse pour l'environnement, micro-extraction en phase solide.**

Key-words **Chromatography, environmental chemistry, laboratory instructions, field testing techniques, solid phase microextraction.**

La chaire de Génie Analytique du Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM) de Paris a développé une formation de niveau bac + 4 de 60 heures, concernant le génie analytique pour l'environnement. Présenté sous la forme de cours, d'exercices dirigés et de travaux pratiques, cet enseignement a pour but de former les auditeurs provenant de milieux industriels, de bureaux d'études, de laboratoires d'analyses à l'analyse chimique appliquée à l'environnement.

Les rejets (d'eau, d'air), les pollutions, la mise en place de chaînes de fabrication conformes aux nouvelles réglementations européennes concernant l'environnement, passent obligatoirement par une phase analytique. Cette dernière peut être décomposée en 4 étapes (*figure 1*) [1].
Cette formation a pour but d'enseigner l'importance de toutes ces étapes, en montrant à l'aide d'exemples concrets, les difficultés qu'il peut y avoir à réaliser chacune d'entre elles de façon optimale.
18 heures sont consacrées aux séances de travaux pratiques dont voici détaillée l'une des manipulations effectuées par les élèves au cours de l'année. La durée de chaque séance est de 4 heures et demie. Celle que nous avons choisie de vous détailler porte sur la détermination d'hydrocarbure aromatique (benzène, toluène, o-xylène) et diesel dans une eau. Elle est constituée de deux parties : l'une utilisant une technique sur site (tube réactif et extraction liquide), et l'autre, une technique d'analyse en laboratoire (chromatographie en phase gazeuse associée à un détecteur à ionisation de flamme (FID, « flame ionisation detector »), en utilisant la méthode de micro-extraction en phase solide.
Deux échantillons pollués, l'un contenant du benzène, toluène, xylènes, et l'autre des hydrocarbures (diesel), sont analysés.

Matériels

Instrumentation de terrain
Mallette de détection DLE Dräger :
- tubes réactifs toluène 0,2 - 5 mg.L^{-1} (réf. : toluène 5/b n° 8101661),
- tubes réactifs gasoil 0,5 - 5 mg.L^{-1} (réf. : hydrocarbures d'essence 10/a n° 8101691).

Figure 1 - Les différentes étapes d'une analyse physico-chimique.

Instrumentation de laboratoire

- chromatographe en phase gazeuse (CPG) HP série II n° 5890,
- détecteur à ionisation de flamme (FID),
- colonne capillaire : Alltech phase stationnaire EC5, (longueur 30 m, diamètre interne 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm),
- débit de la colonne : 0,8 $mL.min^{-1}$,
- mode d'injection Split : débit de fuite 30 $mL.min^{-1}$,
- température du détecteur : 250 °C, injecteur 250 °C, programme de température 100 °C (5 min), puis 30 °C/min jusqu'à 300 °C,
- fibre SPME : Supelco 30 µm polydiméthylsiloxane (réf. : 57300-U).

Réactifs utilisés pour préparer les solutions A et B

- benzène, toluène, o-xylène pour analyse,
- diesel (prélevé dans une station service).

Préparation des solutions A et B

On essaye de simuler de vraies solutions que l'on pourrait avoir prélevées dans un bassin de rétention d'eau par exemple. Les composés sont introduits directement dans l'eau et on ne cherchera pas à les solubiliser au préalable avec un autre solvant.

- Solution A : on introduit dans une fiole d'un litre, préalablement remplie aux 2/3 d'eau, quelques microlitres de toluène, benzène et o-xylène. L'ensemble se fait sur une balance de précision afin d'estimer la quantité du mélange introduit. On complète à l'eau du robinet, en prenant soin de ne pas faire dégazer ce mélange.
- Solution B : la procédure est identique à la solution A. On introduit de la même manière quelques gouttes de diesel.

De nouvelles solutions sont effectuées pour chaque nouveau groupe d'élèves.

Partie expérimentale

Simulation d'analyse sur le terrain

Les élèves ont à leur disposition l'équipement complet pour la recherche de composés de la famille des hydrocarbures et hydrocarbures aromatiques. Les deux solutions sont analysées sur les deux tubes colorimétriques. Le principe est le suivant : un tube gradué en verre (*figure 2*) contient un réactif chimique qui va réagir en présence du composé ou de la famille de composés recherchés. Ce sera une réaction colorimétrique. La longueur du changement de couleur (*figure 3*) indiquera la quantité du produit recherché. Dans le cas du kit d'extraction liquide utilisé lors de cette manipulation, une quantité d'air déterminée est introduite à l'aide d'une pompe manuelle. Cet air va être rejeté dans le flacon contenant la solution. Un bullage va se produire, les composés volatils extraits vont être aspirés et vont passer à travers le tube réactif tout juste ouvert. Le volume d'air introduit puis aspiré est précis et soigneusement déterminé en fonction de la nature des composés recherchés. Les élèves auront à suivre pas à pas la notice fournie par le fabricant [2]. Pour chaque solution étudiée, ils relèvent sur le tube colorimétrique une valeur de concentration correspondant à la longueur du changement de couleur du tube réactif. Les *figures 2* et *3* représentent le tube hydrocarbure d'essence 10/a après mesure de la solution B. La valeur lue avoisine les 250 ppm en volume. Après calcul, elle se trouve être supérieure à la limite de détection (5 $mg.L^{-1}$) donnée par le fabricant. L'élève est alors amené à effectuer une dilution de moitié pour se trouver dans la gamme de mesure. A ce propos, une attention particulière est demandée aux élèves lors du nettoyage du flacon d'extraction et de l'ensemble du système afin d'éviter tout risque de contamination lors des analyses suivantes. Pour cela, il leur est demandé avant chaque nouvelle analyse d'effectuer une mesure à blanc avec de l'eau distillée afin de vérifier la propreté du matériel. A l'aide du rapport fourni par le constructeur, il calcule la concentration de toluène et de diesel des deux échantillons. Le rapport de mesure permet d'évaluer la concentration des composés, d'indiquer l'écart type, ainsi que l'ensemble des observations faites en cours de manipulation. De plus, il est demandé aux élèves d'évaluer le coup financier de cette manipulation (achat mallette, utilisation des tubes réactifs, eau distillée, temps passé par analyse...).

Figure 2 - Résultat d'une mesure effectuée par un élève après analyse de la solution B. ©Christian Morel.
Tube réactif gasoil 0,5 - 5 $mg.L^{-1}$ (réf. : hydrocarbure d'essence 10/a n° 8101691).

Figure 3 - La valeur lue avoisine 250 ppm.
Une dilution va être nécessaire pour se trouver dans la gamme de mesure.
©Christian Morel.

Afin de simuler le plus possible la réalité, les élèves effectuent les mesures à l'extérieur des locaux de travaux pratiques. Ils prennent en compte les difficultés du travail à l'extérieur du cadre d'un laboratoire. Ils doivent prévoir l'ensemble du matériel dont ils auront besoin (papier, pipettes, eau distillée...), sans quoi sur le terrain leur analyse sera retardée, voire ne pourra pas être réalisée. Il faut qu'ils puissent s'adapter à un environnement différent du laboratoire comme par exemple :

- une intervention en extérieur (prise en compte des conditions climatiques : température, humidité...),
- une intervention au sein même d'une entreprise (rencontre d'un public, locaux non adaptés...).

Analyse en laboratoire

Sur le chromatographe en phase gazeuse (CPG), on demande aux élèves d'effectuer l'analyse qualitative et de comparer les résultats obtenus par la technique de terrain. A

noter que les élèves qui suivent cet enseignement possèdent de bonnes bases en analyses séparatives ; on leur conseille cependant de consulter différents documents mis à leur disposition et développés par le laboratoire [3-5]. Ils doivent vérifier les réglages de l'appareil en mesurant par exemple le débit du Split ainsi que celui de la colonne au début de la manipulation.

La première étape consiste à utiliser la méthode de micro-extraction en phase solide (SPME). Le principe est le suivant : un système de SPME est constitué d'une fibre de silice fondue imprégnée d'un film de phase (dans ce travail, une fibre en polydiméthylsiloxane de 30 µm). Cette fibre est fixée à un piston en acier inoxydable, dans un support protecteur. L'étape d'échantillonnage consiste à immerger pendant 15 min à température ambiante la fibre dans la solution soumise à une agitation soutenue. La fibre est ensuite introduite dans son support protecteur. L'étape d'analyse s'effectue par introduction de la fibre dans l'injecteur du CPG (T : 250 °C) pendant 5 min. Les composés adsorbés sur la fibre sont ainsi désorbés dans l'appareil de CPG, séparés sur la colonne capillaire et détectés par ionisation de flamme. Les élèves vont suivre pas à pas le mode opératoire donné par la fiche technique du fabricant [6]. Une séance d'exercice dirigé effectuée avant la séance de travaux pratiques a permis d'expliquer le principe de cette méthode par une démonstration préalable du matériel. Par exemple, nous avons mis en évidence le problème de fragilité de ce type de fibre et notamment lorsque l'on est en présence d'une solution parfaitement inconnue. En effet, en fonction de la nature de la fibre utilisée, certains composés sont à proscrire car ils entraînent immédiatement une dégradation de cette dernière. Par exemple, la présence de méthanol dans la solution A ou B présentée aux élèves serait critique pour la fibre en polydiméthylsiloxane qu'ils utilisent. Dans ce cas, on préconise l'utilisation d'un autre procédé d'extraction, comme l'extraction en phase solide. Cette méthode fait l'objet d'une application lors d'une autre manipulation de travaux pratiques [7]. Une fois la phase d'adsorption terminée, les élèves procèdent à l'étape de désorption en insérant la seringue contenant la fibre dans l'injecteur du CPG. Tout au long de la séance, ils devront effectuer plusieurs injections et se familiariseront ainsi avec le système. A nouveau, des recommandations au niveau de la rigueur de la mesure sont demandées aux élèves. Ils devront avant chaque phase d'adsorption s'assurer que la fibre utilisée ne largue pas de produits. Pour cela, ils sont amenés à faire avant chaque mesure (A et B) une injection à blanc de la seringue dans le chromatographe et vérifier que

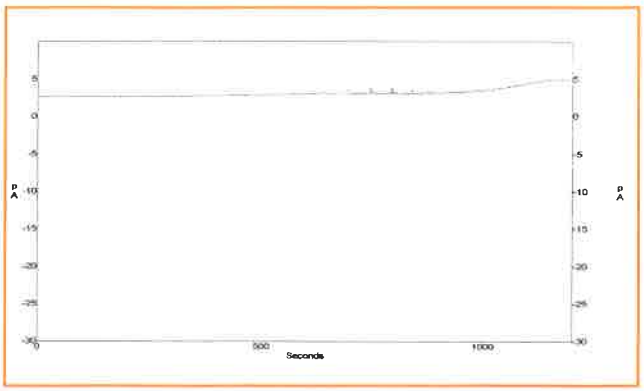


Figure 4 - Vérification de la propreté de la fibre.

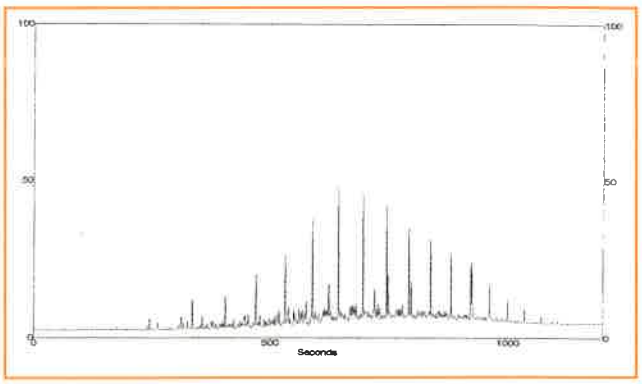


Figure 5 - Cas d'une fibre larguant encore des composés.

le chromatogramme ne présente pas de pics tout au long de la durée des temps de sorties des composés recherchés (une vingtaine de minutes) (*figures 4* et *5*). Afin de pouvoir réaliser cette manipulation en 4 h 30, ces injections se feront en parallèle des analyses avec les tubes réactifs colorimétriques. Ensuite, les élèves injectent les solutions A et B, puis effectuent une identification des composés présents dans ces deux solutions par comparaison de chromatogrammes fournis au laboratoire (*figures 6* et *7*). L'ensemble des bonnes pratiques de laboratoire est enseigné aux élèves qui doivent travailler sous hotte avec des lunettes et des gants et prendre conscience que les solutions que l'on prélève sur le terrain peuvent être dangereuses.

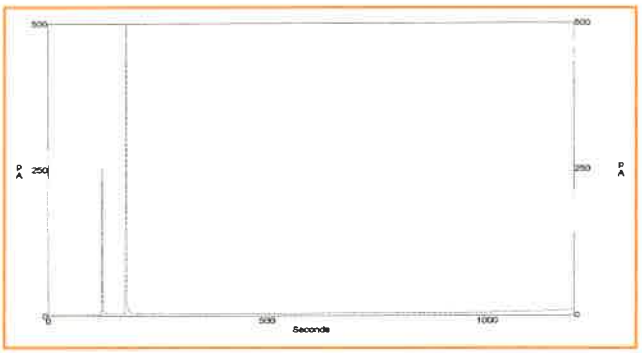


Figure 6 - Solution A (toluène, o-xylène).

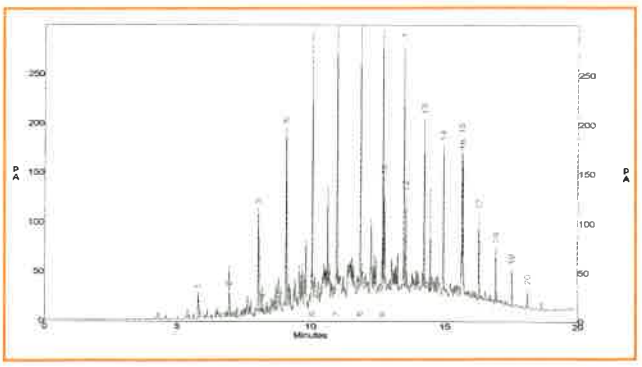


Figure 7 - Solution B (diesel).

Résultats

Le *tableau I* regroupe les résultats obtenus par les élèves par colorimétrie et CGP.

Tableau I - Résultats des analyses qualitatives.

	Colorimétrie		Chromatographie en phase gazeuse	
Échantillon	réponse tube réactif toluène 0,2 - 5 mg.L^{-1}	réponse tube réactif gasoil 0,5 - 5 mg.L^{-1}	BTEX	gasoil
A	oui	oui	oui (absence de benzène)	non
B	oui	oui	non	oui

Différentes réflexions sont demandées aux élèves aux cours de la manipulation et pour la rédaction de leur compte rendu. Les points suivants doivent être vus lors de l'étude des résultats pendant la séance :

Prélèvements

Les solutions inconnues A et B ont été volontairement préparées dans de l'eau afin de simuler au mieux les prises d'échantillons sur le terrain. La première étape est une phase d'observation. Les élèves doivent décrire l'aspect de la solution. La solution A ne comportant pas de diesel est limpide. La solution B est blanchâtre et sa surface est légèrement irisée. Elle a également une odeur prononcée d'hydrocarbure. Dans ce cas, il est rappelé qu'une grande prudence doit être observée lorsque la solution ne présente pas d'odeur. Il faut absolument travailler de la même façon ! La seconde étape consiste à nous proposer une méthodologie pour prélever les 100 mL nécessaires à la dilution des solutions lors de la mesure avec les tubes réactifs diesel. Cette étape simule une prise d'échantillon. Les questions suivantes sont posées :

Faut-il homogénéiser la solution ? Et comment ?

Où faut-il prélever ? En surface pour récupérer les gouttes non solubles ?

Les élèves réfléchissent et proposent leur méthodologie. A la fin de la séance, l'ensemble des résultats des élèves et le mode opératoire réalisé pour effectuer les solutions A et B sont fournis. Ces résultats doivent être commentés et critiqués sur le compte rendu.

Perte d'échantillon

On peut remarquer que sur le chromatogramme de la solution A, seuls deux pics apparaissent : toluène et o-xylène. Le benzène, composé très volatil, a disparu au cours des différentes manipulations. A la fin de la séance, nous indiquons aux élèves les composés qui étaient présents à l'état initial dans leur solution. Ce résultat les met en garde sur ce type de difficulté. Nous leur indiquons également que les polluants se trouvent par familles et que la présence d'un seul des composés (par exemple toluène seul) lors d'une analyse est très rare et sous-entend, dans la majorité des cas, la présence de benzène en plus faible concentration. Lorsque l'on recherche des produits, il faut donc travailler par famille et trouver une technique qui puisse au moins en révéler un.

Interférences

La réponse du tube colorimétrique diesel est positive dans le cas de la solution A. Ceci est dû à une interférence provoquée par les hydrocarbures aromatiques sur le tube réactif diesel. Cette interférence est signalée par le fabricant. Cette étape montre aux élèves qu'il faut savoir noter l'ensemble des observations effectuées pendant l'analyse. Dans ce cas, une attention particulière est demandée aux élèves dans le relevé de la valeur marquée sur le tube. Les réponses provoquées par des produits qui interfèrent sont souvent de couleurs atténuées, par rapport à la réponse du produit incriminé. A noter que dans le cas de cette manipulation, les tubes colorimétriques utilisés ont le même réactif pour déceler des BTEX ou hydrocarbures aliphatiques. C'est l'étude approfondie de la notice située dans la boîte de tubes réactifs qui nous l'indique et non la notice générale de la mallette. Il est donc important encore une fois d'étudier avant chaque campagne d'analyse le choix des outils les plus appropriés.

Problème de contamination

La *figure 5* représente le chromatogramme d'une injection à blanc. Ce dernier ne doit pas contenir d'hydrocarbure. On peut remarquer qu'il existe des pics caractéristiques des hydrocarbures. Ces derniers proviennent de contamination due à un mauvais nettoyage de la seringue ou du matériel mis à disposition des élèves. Il est montré ainsi l'importance d'un travail soigneux et de la vérification régulière du matériel afin de s'affranchir de ce genre de doute. Une injection dans ces conditions de la solution A aurait amené un résultat erroné (présence d'hydrocarbure aliphatique dans une solution n'en contenant pas).

Critique des résultats

L'ensemble des remarques précédentes et les questions posées pendant les manipulations demandent aux élèves d'acquérir un esprit critique.

Coût d'une analyse

L'ensemble du matériel (papier, réactifs, solvant, gaz...) qui a été utilisé pendant la séance doit être recensé par l'élève. Ce dernier devra fournir dans son compte rendu le coût de cette manipulation. Il devra estimer le temps passé, les moyens utilisés...

La rédaction du compte rendu consiste dans une première partie à rendre les résultats sous la forme d'un procès verbal d'analyse, puis dans une deuxième partie nous demandons aux élèves d'effectuer un travail de réflexion sur des situations qu'ils seront susceptibles de rencontrer dans leur vie professionnelle.

Exemple d'une situation

Je suis sur le terrain et viens d'obtenir les résultats d'analyse du tableau I, *colonne (analyse sur site). J'envoie mes solutions à analyser dans un laboratoire agréé afin qu'il confirme la présence des deux composés dans mes échantillons. Le laboratoire m'indique l'absence d'hydrocarbure dans la solution A, et leur présence dans la solution B. Que dois-je en conclure ? Comment puis-je prouver qu'il n'y a pas eu de problèmes dans l'étape de :*

- Prélèvement ?

- Conditionnement ?

- Conservation ?

Est-ce seulement la présence d'une autre famille de composés qui m'a donné une réponse incorrecte ?

Par l'utilisation du cours et des différents documents, les élèves doivent pouvoir répondre à ces questions.
Il faut, lors de la campagne d'analyse sur le terrain, prévoir le doublement des échantillons afin de renvoyer l'échantillon au laboratoire si un problème a eu lieu lors du transport.
Dans cette manipulation, on remet aux élèves l'ensemble de la procédure qui décrit les phases de prélèvements, conditionnement et envoi au laboratoire, procédure et rapport qu'ils devront suivre s'ils sont amenés à effectuer ce type de travail. Dans notre cas, l'analyse sur le terrain par des tubes colorimétriques a donné pour les deux échantillons une réponse similaire en hydrocarbure. Les échantillons ont été prélevés et envoyés de la même façon au laboratoire. Une dégradation de la solution (perte des hydrocarbures) aurait due être identique pour les deux composés. Grâce à un suivi précis et au rapport de toutes les opérations effectuées, il est possible d'envisager dans ce cas que la présence d'hydrocarbure aromatique dans la solution a induit une réponse positive sur le tube d'hydrocarbure. Par ce travail, l'élève est donc sensibilisé aux problèmes d'interférences très fréquents lors d'utilisation de tubes réactifs. Lors d'une campagne sur le terrain, il devra tenir compte de ce problème pour effectuer un choix judicieux des tubes réactifs.

Conclusion

Les objectifs de cette manipulation de travaux pratiques sont :
- d'apprendre aux élèves l'utilisation des techniques colorimétriques,
- de connaître afin d'appréhender au mieux le choix des tubes réactifs,
- d'acquérir un esprit critique vis-à-vis des résultats d'analyses,
- d'optimiser l'envoi des analyses en laboratoire (nombre d'échantillons, nature de l'analyse demandée),
- de comprendre et de réagir face aux résultats des analyses des laboratoires.

Cette manipulation fait partie d'une des quatre manipulations proposées aux élèves qui abordent les thèmes et techniques d'analyses suivants :
- Analyse du Cu, Zn, Mn dans un sol par des réactifs colorimétriques et comparaison à l'analyse de laboratoire (norme X31-102) ;
- Étude de la qualité d'une eau (nitrates, chlorure, pH, conductivités...), à l'aide de réactifs colorimétriques, et recherche de pesticides en utilisant la technique de préparation d'échantillon (SPE), extraction en phase solide et analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) ;
- Analyse de l'eau de ruissellement de la rue Saint-Martin (Paris 2e) : recherche de plomb, cadmium et zinc, techniques colorimétriques et comparaison par analyse en spectrométrie d'absorption atomique Four, initiation à l'analyse de « trace ».

Les élèves qui suivent cette formation sont donc sensibilisés aux différents problèmes qu'ils peuvent rencontrer dans le cadre de leurs différentes missions.

Remerciements

Nous tenons à remercier tout particulièrement Loïc Fataccioli de la Société Gaudriot. En nous faisant profiter de son expérience professionnelle et en mettant à notre disposition des outils de diagnostic de terrain, il nous aura aidées à rendre cette séance de travaux pratiques la plus proche possible des expérimentations de terrain.

Références

[1] Fourcade M.-C., *Étude de faisabilité : unité mobile de diagnostics de pollutions. Choix des techniques analytiques permettant d'analyser les polluants hydrocarbonés*, rapport interne, Société Gaudriot (anciennement Geotherma), **1997**.
[2] Dräger Society, *Dräger Liquid-Extraction Method*, notice d'utilisation, **2000**.
[3] Fougnion J.-M., David C., Genty C., *Dimeta, Les méthodes d'étalonnages*, enseignement à distance, CNAM, Paris, **1995**.
[4] Dalmeyda V., Fougnion J.-M., David C., Genty C., *ChromGaz, Chromatographie en phase gazeuse*, enseignement à distance, CNAM, Paris, **1999**.
[5] Dalmeyda V., David C., La chromatographie en phase gazeuse : le chromatographe, *Méthodes physico-chimiques d'analyse*, production audiovisuel du CNAM, Paris, **2000**.
[6] Supelco, note n° 81, *Monitor BTEX compounds and fuels in water, using solid phase microextraction and capillary GC*, **1995**.
[7] Fourcade M.-C., David C., Travaux pratiques Génie analytique pour l'environnement, *Description des manipulations*, CNAM, Paris, **2002**.

M.-C. Morel-Fourcade

Marie-Christine Morel-Fourcade est maître de conférences et **Claudine David** est ingénieur au Laboratoire de génie analytique du CNAM*, dirigé par le Professeur **Christine Pernelle**.

* Laboratoire de Génie Analytique, Conservatoire National des Arts et Métiers, 292 rue Saint-Martin, 75141 Paris Cedex 03. E-mails : fourcade@cnam.fr; david@cnam.fr; pernelle@cnam.fr

Complétez votre collection !

Les numéros de 2000, 2001 et 2002 de *L'Actualité Chimique* sont accessibles, dans la limite des stocks disponibles, **au prix exceptionnel de** :

- **11 euros** (frais de port compris) pour les **numéros spéciaux**
- **9 euros** (frais de port compris) pour les **autres numéros**

Les sommaires des numéros « à rubriques » de 2001 et 2002 et de tous les numéros spéciaux sont accessibles via le site Internet. Les autres sommaires sont consultables dans la base de données.

Commande : Nadine Colliot, SFC, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 66. Fax : 01 40 46 71 61. E-mail : adhesion@sfc.fr
Offre valable jusqu'au 31 décembre 2003

Évolution des pratiques hygiène et sécurité dans les laboratoires de chimie (1982-2002)

Florence Kotzyba-Hibert

Abstract **Evolution of safety practices in chemistry laboratories (1982-2002)**
This article presents the analysis of a survey that was achieved with chemists working in public research laboratories (CNRS-University). The purpose of this survey was to compare past and present laboratory practices in chemistry to evaluate the influence of prevention on its evolution. Over the last two decades, the use of individual and collective protections has increased, the knowledge of first aid practice has spread and the management of toxic waste has been improved. However, other practices still have to be changed concerning the use and management of carcinogenic compounds and material, the habit to work alone and the insufficient use of incident's logbook. This local investigation might be extended to laboratories working on others topics (biology, physics, radioactivity) in different public laboratories and might represent a useful tool of risk assessment for chemists during experiments, with the aim of adopting preventive measures.

Mots-clés **Hygiène et sécurité, laboratoire de chimie, évolution des pratiques, évaluation des risques, prévention.**
Key-words **Safety, chemical laboratory, practice evolution, risk assessment, preventive measures.**

Un questionnaire [1] a été soumis à des chimistes expérimentés dans le but de comparer les pratiques d'hier et d'aujourd'hui en matière d'hygiène et sécurité, et de mesurer la prise en compte de la prévention sur l'évolution des pratiques de laboratoire.
Les thèmes suivants ont été abordés, chaque thème étant étayé par plusieurs questions (105 au total) :
- le chimiste dans son laboratoire : les protections collectives,
- le chimiste dans son laboratoire : les protections individuelles,
- le chimiste face à la mise en œuvre de toute expérience,
- le chimiste et les solvants utilisés lors des expériences,
- le chimiste et les produits chimiques utilisés lors des expériences,
- le chimiste face à une situation d'urgence,
- le chimiste face à l'élimination des déchets chimiques.

Cet article fait le bilan, point par point, des réponses obtenues et analyse l'évolution des pratiques au cours des vingt dernières années dans des laboratoires de chimie organique répartis sur différents campus universitaires de Strasbourg.

Le chimiste dans son laboratoire : les protections collectives

- Malgré un réel effort, les bureaux de la moitié des expérimentateurs sont encore situés dans les salles d'expérimentation (55/93) [2]. Il subsiste encore quelques chimistes qui fument (3/64) et mangent (11/31) dans les laboratoires.
- Pour réaliser ses expériences, le chimiste dispose d'une paillasse (83/80) et d'une sorbonne personnelle (72/64) [3]. Lorsque l'expérience présente un risque, il manipule plus qu'avant sous sa sorbonne pour réaliser les colonnes de chromatographie liquide (82/55), les distillations (86/76) et autant qu'avant pour réaliser les réactions à chaud (90/90).
- Il stocke davantage ses produits chimiques dans des locaux spéciaux ventilés (60/11) ou des armoires ventilées (80/4). Ce stockage est effectué, comme par le passé, en fonction des caractéristiques physico-chimiques des produits : acide/base (81/74), froid ou température ambiante

Isolation d'espaces bureaux par rapport aux salles d'expérimentation.
Un espace bureau, isolé de la salle d'expérimentation, a été créé par cloisonnement de la partie fenêtre du laboratoire. Le cloisonnement permet une isolation phonique et atmosphérique par rapport à l'activité chimique. A noter que les cloisons et ouvertures doivent être réalisées selon les normes de sécurité incendie en vigueur et que cette solution est à adopter lorsque l'exiguïté des locaux ne permet pas de consacrer une pièce séparée aux bureaux des expérimentateurs.
La vitre de la sorbonne, baissée pendant les manipulations à 40 cm de hauteur, est remontée sur ce cliché pour des raisons techniques de meilleure visibilité de l'opération en cours.

(96/89), milieu anhydre ou non (81/72). Par contre, seulement un quart des chimistes prend en compte le caractère CMR [4] du produit pour le stockage (27/15). Il reste encore des produits chimiques stockés sur les paillasses (46/70) et sous les sorbonnes où le manipulateur travaille (69/83).
- Le chimiste pèse toujours ses produits sur une balance située sur la paillasse (89/100), même s'il est plus vigilant lorsque les produits sont toxiques (sous sorbonne : 66/65).
- Les réfrigérateurs et congélateurs sont plus souvent sécurisés (84/45), les bouteilles de gaz sont attachées presque en totalité (97/81).
- L'évaporation des solvants à l'évaporateur rotatif se fait toujours sur la paillasse (73/75), mais on commence à les sécuriser contre les risques d'implosion/explosion (27/4) : ajouts de filets ou inclusion d'office à l'achat (film plastique).
- En cas de risque d'explosion, certains chimistes, mais pas tous, disposent d'un écran mobile de protection (63/56).

L'environnement du chimiste dans son laboratoire : protections individuelles

- La blouse est portée presque systématiquement dans la salle d'expérimentation (87/77), ainsi que les lunettes de protection (94/45).
- Pour les personnes porteuses de verre de correction, peu portent des surlunettes (16/0) ou des lunettes de protection équipées de verres correcteurs (16/20) [5].
- Pour manipuler, on utilise plus souvent des gants de protection (80/64), majoritairement en latex (95/86) [6]. En 2002, les autres types de gants utilisés alternativement sont les gants nitriles (26 %) et les gants de ménage (74 %, largement utilisés pour laver la verrerie). On change souvent de gants (75/68).
- Pour manipuler des produits pulvérulents, on n'utilise pas suffisamment de masques anti-poussières (38/23).
- Pour transvaser des solvants usagés dans des cuves, avant enlèvement par une entreprise spécialisée, on n'utilise pas suffisamment de masques à cartouches adaptées (28/6) et la vérification de la validité de la cartouche est insuffisante (46/16).

Protections collectives (sorbonne) et individuelles (blouse, gants, lunettes).
L'expérimentatrice réalise une extraction sous la sorbonne peu encombrée et ventilée selon les normes en vigueur (protection collective).
Elle porte une blouse, des lunettes de protection avec coques latérales et des gants nitriles, conseillés pour la plupart des manipulations en chimie (protections individuelles).
La vitre de la sorbonne, baissée pendant les manipulations à 40 cm de hauteur, est remontée sur ce cliché pour des raisons techniques de meilleure visibilité de l'opération en cours.

Le chimiste face à la mise en œuvre de toute expérience

- Avant de réaliser une nouvelle expérience, le manipulateur dégage son poste de travail (80/77), il note ses expériences au préalable dans un cahier (100/93) et son collègue le plus proche est informé (96/100). La plupart des chimistes identifient les expériences en cours par affichage au-dessus du poste de travail (73/45).
- Les expériences qui se poursuivent la nuit sont signalées sur le plan de travail (65/35), mais très peu à l'entrée de la salle (26/15). Elles sont insuffisamment sécurisées par contrôle des organes de coupure des fluides (26/19).
- Même si le phénomène décroît, certains chimistes manipulent encore seuls au laboratoire (38/80) pour réaliser des expériences à risques comme des distillations (44/72), des réactions à chaud (44/78) et l'évaporation des solvants (62/96).

Le chimiste et les solvants utilisés lors des expériences

- Le chimiste utilise encore ponctuellement le chloroforme (54/87), le benzène (43/69), le méthanol (82/97) et l'hexane (82/87). Cependant, il les remplace quand c'est possible : le chloroforme par le chlorure de méthylène (76/64) et le benzène par le toluène (76/71), en particulier comme éluant de chromatographie liquide. Le remplacement du méthanol (par l'éthanol) (40/25) et de l'hexane (par l'heptane) (26/7) reste plus difficile en raison de propriétés physico-chimiques différentes et du coût de l'heptane.
- Les manipulateurs savent, pour un tiers d'entre eux seulement, que la quantité de solvant autorisée dans la salle d'expérimentation est limitée (30/3), mais ne savent pas quelle est cette quantité. Ils fractionnent moins leurs solvants (28/43) et le font plus couramment dans des récipients correctement étiquetés (82/65).
- Ils lavent leur verrerie eux-mêmes (90/96) et le tiers des usagers dispose maintenant d'un évier ventilé (36/6) (voir *photo* page suivante).
- L'évaporation des solvants se fait toujours en grande majorité à la trompe à eau (95/100) ou à la pompe à palettes (52/77) lorsque nécessaire. Des pompes à membrane spéciales ont fait leur apparition dans les laboratoires (50/5) permettant d'économiser l'eau et de condenser plus efficacement les solvants.

Le chimiste et les produits chimiques utilisés lors des expériences

- Lorsque le chimiste utilise un nouveau produit, il lit les consignes sur l'étiquette (87/77), il consulte un peu moins sa fiche pratique de sécurité (60/45), ainsi que les phrases de risques R et conseils de prudence S (53/35). Il choisira, à rendement équivalent, le protocole qui utilise les solvants et produits chimiques les moins dangereux (93/76).
- Il fractionne peu les produits chimiques (22/12) et le fait dans des récipients correctement étiquetés (66/30).
- Il connaît peu les reprotoxiques manipulés au laboratoire (35/11). La chimiste, en tant que femme, connaît mal les risques dus à la manipulation des reprotoxiques (37/22) et

L'évier ventilé.
L'expérimentatrice lave sa verrerie sous un évier ventilé. Elle est équipée de protections individuelles (blouse, lunettes, gants type « ménage » peu onéreux et résistants à l'acétone) et déverse ses solvants de rinçage dans un bidon situé sous l'évier grâce à un entonnoir placé au fond de la sorbonne.
La vitre de la sorbonne, baissée pendant les manipulations à 40 cm de hauteur, est remontée sur ce cliché pour des raisons techniques de meilleure visibilité de l'opération en cours.

n'avertit pas automatiquement son médecin en cas de grossesse (40/43).
- Même si l'on observe une forte diminution, on utilise encore des matériaux en amiante dans les laboratoires (25/72) comme des chauffe-ballons (25/89), des plaques de bec bunsen (9/75) ; les gants isolants en amiante ont cependant disparu (0/50).

Le chimiste face à une situation d'urgence

- Dans les salles d'expérimentation, les règles et procédures d'urgence sont davantage affichées (61/36). En cas de feu, le chimiste sait qui alerter (93/97) et sait utiliser les extincteurs appropriés (86/83) : il connaît mieux les consignes à appliquer avant l'évacuation (83/61).
- En cas de malaise ou d'accident d'un collègue, plus d'expérimentateurs connaissent les premiers gestes à faire pour le secourir (58/38). Le nombre de chimistes possédant la formation SST (sauveteur secouriste du travail) est cependant encore trop faible au regard des risques encourus dans les laboratoires (38/34) et ceux formés ne sont pas suffisamment recyclés (24/8).
En cas de projections oculaires, le chimiste dispose plus souvent d'un rince-œil à proximité (76/52). En cas de brûlure thermique ou chimique, il dispose d'une douche (93/91), mais encore trop peu disposent d'une douche tempérée à proximité (45/30).
- En cas de déversement accidentel d'un produit, l'expérimentateur connaît un peu mieux le protocole pour décontaminer et nettoyer (57/46).
- Lorsque surviennent des incidents et accidents au laboratoire, ils sont plus régulièrement notés dans un registre de sécurité (58/10), mais c'est encore insuffisant.
- La majorité des chimistes savent qu'ils doivent être convoqués périodiquement par leur médecin de prévention (89/79), et ceci à raison d'une visite tous les ans (84/67).

Le chimiste face à l'élimination des déchets

Le chimiste gère ses déchets comme suit :
- Les produits chimiques inutilisés ne sont plus jetés à l'évier (8/48), mais détruits quand c'est possible (68/38) et surtout collectés et éliminés par une société spécialisée (96/46) [7].
- Les solvants usagés ne sont pratiquement plus jetés à l'évier (8/61), mais collectés et éliminés par une société spécialisée (100/52).
- Les phases aqueuses acide/base sont encore jetées à l'évier (46/83) après neutralisation (81/69), peu collectées et éliminées par une société spécialisée (4/0).
- Les résidus de colonne de chromatographie sont moins souvent jetés à la poubelle directement (25/78), mais encore dans des récipients spéciaux (88/77), et peu sont collectés et éliminés par une société spécialisée (10/0).
- Les emballages des produits CMR sont jetés à la poubelle après rinçage des emballages (39/58) et également collectés et éliminés par une société spécialisée (52/25).
- Les bouteilles en verre vides sont jetées à la poubelle après rinçage (74/87) et, quand c'est possible, collectées dans des containers spéciaux (76/28).
- Les objets piquants, coupants et tranchants ne sont plus jetés à la poubelle tels quels (13/58), mais dans des récipients spéciaux (93/71), très peu collectés et éliminés par une société spécialisée (13/0).
- La verrerie ébréchée est encore réutilisée au laboratoire (13/29) et beaucoup moins réparée, même si c'est possible (8/96).

Conclusion

Le but de cette étude était de mettre en avant la prise en compte de la prévention et de la connaissance des risques sur l'évolution des pratiques de laboratoire.
De réels efforts ont été réalisés dans les laboratoires. Ainsi, on peut noter que le chimiste manipule essentiellement sous une sorbonne, que la majorité dispose d'une sorbonne personnelle, que les produits chimiques sont stockés dans des armoires ou locaux ventilés, qu'on utilise beaucoup plus les protections individuelles (blouse, lunettes, gants), qu'on identifie mieux ses expériences à risques, qu'on maîtrise mieux les consignes et gestes de premiers secours, qu'on gère mieux l'élimination de ses déchets.
Certaines pratiques sont à revoir, en particulier concernant les cancérogènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR) qui sont encore utilisés (matériaux en amiante ou solvants comme le benzène, le chloroforme), ou dont le manipulateur évalue mal le risque (pesée, stockage des produits chimiques CMR, reprotoxicité pour les jeunes expérimentatrices...). La nouvelle réglementation concernant les CMR doit être mise en place rapidement dans les laboratoires de recherche publics [8].
La moitié des manipulateurs ont leur bureau encore localisé dans les salles d'expérimentation. Le travail isolé, en particulier le soir et le week-end, existe encore largement pour réaliser des expériences à risque. Les expériences de nuit sont mal balisées et mal sécurisées. Le registre de sécurité est sous-employé, même si la moitié des expérimentateurs l'utilise régulièrement. Le nombre de chimistes formés au secourisme est encore insuffisant, même s'il est en progression.
Cette étude réalisée sur un petit nombre de chimistes n'est représentative que des pratiques locales : elle n'a pas l'ambition de refléter la réalité dans tous les laboratoires de recherche de chimie organique. Dans cette optique, elle devrait être élargie à un plus grand nombre de chimistes et à d'autres sites. Elle reflète néanmoins les grandes tendances que l'on retrouve dans les laboratoires de recherche publics, lorsque l'on discute avec différents acteurs de la prévention [9].
Dans tous les cas, ce questionnaire dans sa version 2003 [10] peut être un outil d'évaluation des risques pour les acteurs de la prévention dans les laboratoires de chimie, en particulier pour les ACMO [11]. Il peut en effet servir à améliorer les conditions de travail, à changer certaines pratiques dangereuses qui subsistent dans les laboratoires et, *in fine*, à prévenir incidents et accidents pour le bénéfice de tous.

Remerciements

Je tiens à remercier André Picot et Jean Ducret pour la dynamique qu'ils ont su créer au cours de l'école thématique « le risque chimique en laboratoire de recherche » (Dolleren, 16-23/06/2000), où différents acteurs de la prévention en matière d'hygiène et sécurité (inspecteurs et ingénieurs hygiène et sécurité, médecins de prévention, infirmières et ACMO CNRS, université) ont pu se rencontrer et échanger leurs expériences.
Un remerciement aux préventeurs qui m'ont aidée à optimiser ce questionnaire au cours de l'action nationale de formation du CNRS « le risque chimique en laboratoire de recherche » (La Londe les Maures, 19-23/11/2001).
Un grand merci à tous les chimistes strasbourgeois qui ont bien voulu consacrer un peu de leur temps pour répondre aux 105 questions avec franchise.

Notes

[1] Les résultats d'une première enquête (2001) ont été exposés lors de « l'action nationale sur les risques chimiques en laboratoire » (La Londe les Maures, 19-23/11/2001). Un travail collectif au cours de cette formation a permis de compléter et d'essayer d'optimiser ce questionnaire. Il a été soumis à un échantillonnage de chimistes strasbourgeois expérimentés (35 de plus de 15 ans d'ancienneté) travaillant dans différents laboratoires de recherche publics (CNRS-université). Les résultats de cette deuxième enquête (2002) sont exposés dans cet article.

[2] (X/Y) correspond à X : pourcentage de réponses positives à la question posée pour les pratiques en 2002, Y : pourcentage de réponses positives à la question posée pour les pratiques en 1982.

[3] Les sorbonnes utilisées doivent être contrôlées périodiquement pour s'assurer que les mesures de confinement sont aux normes (la mesure de la vitesse d'air extrait doit être de 0,5 m/s et en aucun point inférieure à 0,4 m/s).

[4] CMR : cancérogènes, mutagènes et reprotoxiques (anciennement génotoxiques). Pour information, consulter le dossier sur les « risques liés à la manipulation des produits cancérogènes » réalisé avec l'aide du classement du CIRC de Lyon (Centre International de Recherche sur le Cancer), dans le cadre de l'association Toxicologie-CNAM par André Picot, Jean-Claude Zerbib, Marcel Castegnaro et Josyane Guéry (réactualisation mars 2002, téléchargeable sur le site atctoxicologie.ifrance.com).

[5] Les lunettes de vue représentent des protections insuffisantes face aux risques de projections accidentelles : la protection englobante assurée par des surlunettes est indispensable.

[6] L'utilisation systématique et presque toujours inappropriée des gants latex est préoccupante. Une information nuancée doit être réalisée auprès des utilisateurs pour leur indiquer quel type de gants utiliser pour quelle type d'expérience. Par ailleurs, le port de gants doit être réservé aux expériences présentant des risques réels de contact pour le manipulateur et en aucun cas être porté sans discernement du matin au soir : risques d'allergie et de contamination chimique au laboratoire si les gants ne sont pas changés régulièrement.

[7] La société spécialisée qui collecte et élimine les déchets doit fournir à son client producteur de déchets un bordereau de suivi des déchets indispensable en cas de contrôle.

[8] Décret du 1er février 2001 (CMR).

[9] Les différents acteurs de la prévention peuvent se regrouper au sein de l'ADHYS (Association de Développement de l'Hygiène et la Sécurité) dans les organismes de recherche publics ; à consulter : www.adhys.org.

[10] La version 2003 est disponible sur demande à kotzyba@bioorga.u-strasbg.fr. Une enquête du même type pourrait être réalisée sur l'évolution des pratiques dans les laboratoires de biologie, sachant que de nouveaux risques sont apparus, en particulier avec la biologie moléculaire.

[11] ACMO : agent chargé de la mise en œuvre des règles d'hygiène et de sécurité au CNRS et/ou à l'université.

Florence Kotzyba-Hibert
est chargée de recherche CNRS, ACMO [11] de l'UMR 7514 et présidente du CHS de l'université Louis Pasteur*.

* Laboratoire de chimie bioorganique, UMR 7514 CNRS, Faculté de pharmacie, Université Louis Pasteur, BP 24, 67401 Illkirch Cedex.
E-mail : kotzyba@bioorga.u-strasbg.fr

Devenez Hygiéniste du travail et de l'environnement

L'Institut d'Hygiène Industrielle et de l'Environnement (IHIE) du Cnam vous propose une formation multidisciplinaire validée par un diplôme (niveau Bac+5) du Conservatoire national des arts et métiers (Cnam).

C'est une **formation professionnalisante** de 1363 heures comprenant :
- Des enseignements théoriques et pratiques organisés en 5 modules capitalisables totalisant 663 heures et dispensés par des enseignants universitaires et professionnels,
- Une mission en entreprise (stage pratique) de 700 heures assurant un bon apprentissage de la mise en œuvre des connaissances acquises.

Niveau requis pour accéder à la formation Hyten de l'IHIE :
- Bac + 4 scientifique ou technique minimum, ou
- Bac + 2 scientifique et validation des acquis de l'expérience.

Renseignements et inscriptions :

Cnam - Ihie Nord
Avenue des Facultés
80025 AMIENS cedex 01
Tél. 03 22 33 65 68
dossanto@cnam.fr

Cnam – Ihie Ouest
122 rue de Frémur
BP 240
49002 ANGERS cedex 01
Tél. 02 41 66 10 60
ihie@cnam-paysdelaloire.fr

Cnam – Ihie Rhône Alpes
181 av. J. Jaurès
BP 7058
69348 LYON cedex 07
Tél. 04 78 61 95 62
Catherine.ygnace@cnam.fr

Cnam – Ihie Paca
Place des Abattoirs,
360 Chemin de la Madrague Ville,
13344 Marseille Cdx 15
Tél. 04 91 60 79 02
cosserat@cnam.fr

Cnam - Ihie Paris
292 rue St-Martin
75141 PARIS Cedex 141
Tél. 01 53 01 80 62
Ihie@cnam.fr
http://www.cnam.fr/instituts/ ihie

CONSERVATOIRE NATIONAL DES ARTS ET MÉTIERS

I.H.I.E.

Justus Liebig (1803-1873)

Tout est chimie

Marika Blondel-Mégrelis

A la mémoire de mon ami, Wilhelm Lewicki, arrière, arrière, arrière-petit-fils de Justus Liebig, parti dans un crépitement de feux d'artifice. Ils clôturaient la belle fête qu'il avait organisée, pour la dernière fois.

Justus Liebig, 1840.

Justus Liebig est né le 12 mai 1803, il y a donc 200 ans. A cette occasion, plusieurs commémorations ont eu lieu, en particulier à Giessen, la ville où il a travaillé durant 28 ans (1824-1852), où vient de se tenir une jolie journée de fête et d'étude, organisée par la Justus Liebig Gesellschaft zu Giessen et la Gesellschaft Deutscher Chemiker, et où la Société Française de Chimie était à l'honneur (voir *L'Act. Chim.*, juin 2003, p. 54).

Il est bien connu que, à Giessen, le tout jeune « ausserordentliche Professor » a fondé le premier laboratoire de **recherche expérimentale**, où se formaient des chimistes provenant du monde entier. Il faut cependant nuancer : il s'était bien formé lui-même chez Thénard à la technique très délicate d'analyse des substances organiques, et avait poursuivi, dans le laboratoire de Gaultier de Claubry, ses essais de jeunesse autour des fulminates. Quant à l'**internationalisme**, il était pratiqué en particulier dans le laboratoire accueillant de Berzélius, à Stockholm, où jeunes chimistes mais aussi chimistes chevronnés faisaient des séjours de quelques jours à quelques années. Il n'empêche que le laboratoire de Giessen, surtout après 1840, date de parution de la *Chimie agricole*, sera le lieu de rencontre de chimistes de toute l'Europe, mais aussi de plus loin, des Américains en particulier. Lieu de rencontre et donc source à partir de laquelle s'organisera une diffusion, jusqu'alors inédite, des méthodes, des idées, des travaux et des connaissances chimiques. Déjà en 1839, Wöhler se moquait : « *Tu es un homme célèbre. Les foules déboulent de tous les coins de la Terre pour venir te voir, de Russie, de Norvège, d'Angleterre, d'Islande et de Chine. Le Russe ne m'a rendu visite que parce que Göttingen est sur le chemin qui va de la Chine et de la Russie à Giessen. Est-il vrai qu'il y a chez toi, en ce moment, un Groenlandais qui fait de l'analyse organique ?* ».

Activité des chimistes au laboratoire d'analyse de Giessen aux alentours de 1840.

Il est très connu, aussi, que Liebig aurait fondé la **critique expérimentale**. C'est pourtant Geiger qui, le premier, a vérifié les travaux des auteurs étrangers par ses propres expériences, avant de les publier dans son journal, et a engagé Liebig dans cette voie. Celui-ci semble avoir pris le plus grand plaisir à contrôler les assertions chimiques des autres, s'attirant ainsi des inimitiés durables dont celle de Mitscherlich. Il n'empêche que la qualité scientifique des publications s'en est trouvée sensiblement améliorée, mais aussi le niveau des *Annalen der Pharmacie*, journal que Liebig reprend à la mort de Geiger, en donnant davantage d'importance aux questions chimiques.

La carrière scientifique de Liebig, « fils d'un modeste épicier de Darmstadt », anobli en 1845, a bénéficié de nombreuses circonstances heureuses qui ont contribué à un démarrage fulgurant. Grâce à la protection de Kastner, son maître à Erlangen, Liebig se voit accorder par le Grand-Duc de Hesse une bourse de 330 guldens (plus que ses premiers salaires à Giessen) et part pour Paris à la fin de 1822. Il se forme auprès de Gay-Lussac et Thénard à leur technique d'analyse organique, suit les cours de physique de Gay-Lussac et de chimie de Thénard, puis les cours de Biot et de Dulong, enfin le cours de chimie appliquée aux arts de Nicolas Clément dont il apprécie beaucoup le caractère concret et l'utilité pour la vie pratique, l'industrie et le commerce. Mais c'est dans le laboratoire de Gaultier de Claubry, que Thénard lui a ouvert, que Liebig poursuit les fameux travaux sur les fulminates qui seront présentés par Gay-Lussac à l'Académie des sciences, cependant que le jeune homme conduit la démonstration expérimentale. Il fait une forte impression à quelqu'un de l'assistance, qu'il ne remarque pourtant absolument pas, Humboldt, à qui il devra d'être nommé professeur dès son retour de Paris, et bien que son mémoire de doctorat n'ait jamais sans doute été écrit. Il a alors tout juste 21 ans.

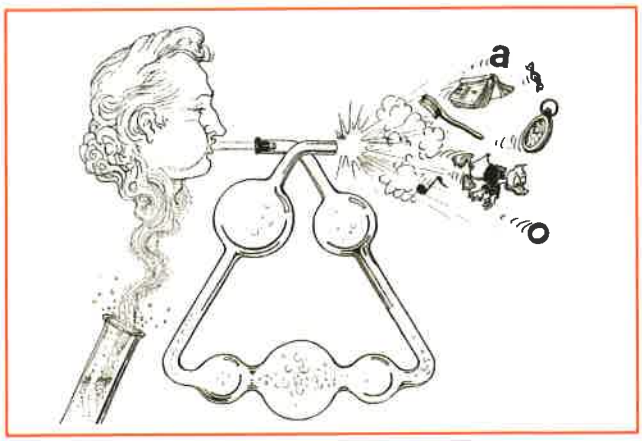
« *Je n'oublierai jamais les heures passées dans le laboratoire de Gay-Lussac. Lorsque nous avions terminé avec succès une analyse, il me disait : Maintenant il nous faut danser. Nous dansons toujours ensemble, Thénard et moi, lorsque nous venons de découvrir quelque chose de nouveau. Et nous dansions* ».

Fronton de l'ancien laboratoire de Liebig, devenu Musée Liebig à Giessen.

La nomination de Liebig à Giessen fait partie d'un plan qui voulait rendre attractive cette petite université de Hesse-Darmstadt, composée des facultés traditionnelles de philosophie, médecine, droit et théologie. Elle était pourtant l'une des premières universités allemandes à avoir une chaire de chimie, que Liebig n'occupera qu'à la mort du Pr. Zimmermann, devant se contenter jusque-là d'enseigner la pharmacie. Liebig y trouve un tout petit laboratoire et un public d'une dizaine d'élèves. L'auditoire augmentera rapidement, le laboratoire sera étendu et un amphithéâtre sera construit en annexe par l'architecte Hofmann, père du futur élève de Liebig.

On peut dire que les premiers travaux de Liebig sont placés sous le sceau des détonations : depuis la fabrication de pétards pour la boutique de son père, en passant par les travaux parisiens sur les fulminates d'argent et de mercure, qui se prolongeront par ceux sur l'acide cyanurique, croiseront alors ceux de Wöhler, et le conduiront aux célèbres travaux sur l'acide urique, à l'amer d'indigo, qu'il appelle acide carbazotique, et qui mèneront vers le radical benzoyl. Mais c'est le procédé d'analyse organique qu'il met au point en 1829, à l'occasion du nouvel acide (hippurique) mis en évidence dans l'urine de cheval, qui attirera la célébrité sur son laboratoire ; et des élèves, peu à peu plus nombreux, commencent à arriver de France, de Suisse, d'Angleterre et d'ailleurs, pour apprendre la méthode et se familiariser avec l'appareillage. La technique très délicate de combustion au chlorate de potassium mise au point par Gay-Lussac et Thénard en 1810, remplacé par l'oxyde de cuivre, avait déjà été rendue moins dangereuse et plus simple par Berzélius qui disposait le tube à l'horizontale. Liebig présente un « nouvel » appareil qui permet « *de brûler non pas quelques décigrammes de substances mais toute la quantité que l'on veut* », et d'obtenir « *directement et sans la moindre perte* », en poids, l'eau et le gaz carbonique produits. Certes, Liebig avait appris à Paris à travailler le verre, mais la réalisation du tube à cinq boules, pesé avant et après la combustion, requiert une dextérité toute particulière. Tout juste mentionné dans les premiers mémoires, parmi les différentes parties « réunies par de petits cylindres de caoutchouc » constituant l'appareil de verre, ce tube contenant une solution concentrée de potasse caustique destinée à absorber le gaz carbonique sera plus précisément décrit dans les publications ultérieures [1]. Il semble qu'il était fabriqué par son assistant Ettling, jamais mentionné, qui fera la démonstration de sa maîtrise technique à Glasgow, en 1840, devant un maître-verrier [2]. Le tube à cinq boules deviendra l'emblème et la fierté de la ville de Giessen. Des résultats plus rapides et fiables, une habileté moins spécifiquement nécessaire, l'analyse organique semble devenir accessible à tous. Ce que Berzélius voit comme une arme à double tranchant, car quiconque fera un peu d'analyse se croira chimiste et les chiffres produits remplaceront le contenu scientifique des mémoires !

« *Pour mes analyses, je me suis vu obligé de bricoler un appareil qui permet comme à l'ordinaire, non plus la combustion de quelques décigrammes de substance, mais la quantité la plus importante soit-elle. Le gaz carbonique est retenu dans un récipient construit à cet usage, dans lequel l'absorption est complète, et dans lequel on peut le peser directement et sans la moindre perte* » [3].

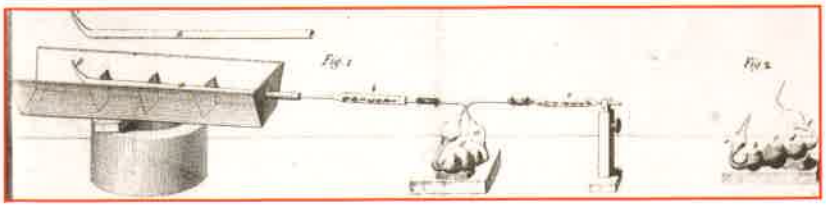


Caricature par Rolf Mank de Vries du célèbre tube à cinq boules.

Mais le mémoire de 1831 donnait, à côté de la nouvelle manière de doser le carbone, un appareil et une méthode pour déterminer l'azote, de manière séparée : « *parmi les méthodes défectueuses, c'est celle qui l'est le moins* ».

La chimie pure

La question de la **constitution** des composés, question centrale de la chimie organique, a agité Liebig : « *Après la recherche des proportions numériques, la question de savoir de quelle manière les éléments se trouvent groupés dans une combinaison, est certes la plus importante pour le développement de la science* » [4]. En 1829, Liebig avait fini par reconnaître l'identité de l'acide (cyan)urique obtenu par Wöhler par chauffage de l'urée, de l'acide cyanique de Sérullas et de l'acide pyro-urique de Scheele. Par ailleurs, l'identité de composition du cyanate d'ammoniaque et de l'urée, des fulminates et des cyanates, puis de l'acide cyanique et cyanurique, aux capacités de



Croquis original du « nouvel appareil » (1831).

Tableau I.

Radical benzoile	$C_{14}H_{10}O_2$	= Bz
acide benzoïque	$C_{14}H_{10}O_3$	= BzO
acide hydraté	$C_{14}H_{10}O_3$, H_2O	= BzO + H_2O
benzoate de chaux	$C_{14}H_{10}O_3$, CaO	= BzO + CaO
hydrure de benzoile (essence d'amandes amères)		= Bz + H_2
chlorure de benzoile		= Bz + Cl_2
benzamide	Bz + N_2H_4	= Bz, Ad

saturation différentes, enfin la liaison entre tous ces composés, « *paraissent cacher un secret de la nature organique* », un mystère dont les *Recherches sur la nature de l'acide urique* (1838) donneront quelques clés tout en soulignant les limites. C'est que les « *propriétés chimiques d'une substance dépendent essentiellement de la forme et de l'arrangement de ses éléments* » [5]. Le mode de composition des corps organiques ne peut plus se satisfaire d'une représentation binaire, calquée sur la représentation inorganique qui, quoique ingénieuse et féconde, ne traduit pas la véritable nature organique. Cette préoccupation se saisit sous trois aspects :

1- Les **radicaux** organiques : en procédant à l'étude de l'essence d'amandes amères et de l'acide benzoïque, pour lesquels ils obtiennent des résultats d'analyse légèrement différents de ceux de Berzélius, Liebig et Wöhler préparent un grand nombre de composés étroitement liés entre eux. Or, dans ces corps, ils mettent en évidence une combinaison de carbone, hydrogène et oxygène dans des rapports fixes, qui se retrouve dans tous et qui expliquerait cette « *connexion sous le point de vue chimique* » ; Laurent parlera d'un air de famille. C'est ainsi que les combinaisons qui tirent leur origine de l'huile volatile des amandes amères contiendraient toutes le radical benzoile, C_7H_5O dans notre notation [6]. L'existence d'une telle sorte d'élément composé, qui se transporterait à travers les corps de cette classe, permettrait de comprendre leur « *parenté chimique* » et matérialiserait leur « *lien naturel* ». Berzélius salue immédiatement, avec enthousiasme, la mise en évidence de cet « *atome composé ternaire* » fonctionnant à la manière d'un corps simple, qui permet de donner une idée claire et nette des composés de ce qui sera bientôt appelé la série benzoïque, et de les formuler : voilà l'aube d'une nouvelle ère pour la chimie organique ! C'est sur ce principe, décrire la chimie organique selon le mode de groupement des éléments constituants et donc réunir les combinaisons qui ont entre elles des connexions sous le rapport des propriétés chimiques, que Liebig tente son *Traité de Chimie organique,* essai d'un nouveau système qui voudrait faire de la chimie organique celle des radicaux composés. A partir du 2e volume, dans l'incapacité de poursuivre, Liebig reprend l'ancien système d'exposition. (voir *Tableau I*).

2- La question de la **préexistence**, dont « *nous n'avons pas une idée bien claire* », est posée dans le mémoire sur l'acide urique. De l'étude des décompositions de ce corps, on pourrait déduire que l'acide urique contient de l'urée « *toute formée* ». Mais on pourrait tout aussi bien conclure qu'il contient de l'acide oxalique, de l'allantoïne... Ne vaut-il mieux pas se dispenser de toute hypothèse et penser que les éléments s'unissent selon des formes différentes sans qu'il soit possible de conclure en aucune façon à leur préexistence [7] ? Telle sera la caractéristique des *métamorphoses* organiques sur lesquelles Liebig va concentrer son attention : elles correspondent à un réarrangement, en profondeur, des atomes de la substance. Ainsi, et ce sera le leitmotiv de Laurent, on ne peut pas déduire des réactions l'arrangement des atomes [8]. (voir *Tableau II*).

Tableau II.

Lorsque l'on décompose l'acide urique par l'oxyde de Pb, on peut obtenir :	$C_{10}N_8H_{14}O_{11}$
***soit** de l'urée	$C_2N_4H_8O_2$
et une combinaison que l'on peut considérer comme de l'acide oxalique	C_4 O_6
et de l'allantoïne	$C_4N_4H_6O_3$
***soit** de l'allantoïne	$C_4N_4H_6O_3$
et une combinaison que l'on peut considérer comme de l'acide oxalique	C_4 O_6
et de l'urée	$C_2N_4H_8O_2$

Pourtant, l'allantoïne, l'urée et l'acide oxalique n'existent pas dans ces composés, mais seulement leurs éléments qui s'unissent d'une manière particulière (*Recherches sur la nature de l'acide urique*, 1838).

3- En particulier, le fait que les **acides organiques** perdent un atome d'eau pour chaque atome de base qui se combine n'autorise pas à supposer que cette eau était contenue comme telle dans l'acide [9]. Liebig met en doute la conception dualistique de la théorie des acides et penche vers la théorie de Davy, au grand désespoir de Berzélius, le père spirituel. En continuateur de la pensée lavoisienne, Berzélius pensait la salification comme la réunion de deux entités par le remplacement de l'eau de l'acide (dit hydraté) par l'atome de base. Davy y voit le remplacement de l'hydrogène de l'acide (hydrogéné) par le métal. Il s'ensuit que l'existence d'acides polybasiques devient possible, ce qui était exclu, par définition, dans la théorie dualistique. La question se cristallise à propos de l'acide citrique, qui agite l'Académie dans les années 1837-38, acide qui perd un atome d'eau à 200 ° tout en restant tribasique. L'eau n'était pas contenue, toute formée, dans l'acide, mais elle a été produite, par l'action de la chaleur, à partir des éléments de l'acide. (voir *Tableau III*).

Tableau III - **Réaction de neutralisation.**

Lavoisier	acide sulfurique	SO_3	SO_3, OK
	base salifiable	KO	O est le moyen d'union entre les métaux et les acides, c'est le *latus* par lequel les terres salifiables s'unissent aux acides.
Berzélius	remplacement de l'eau par l'oxyde :		
		SO_3, H_2O	SO_3, KO
		SO_3, KO	entre les deux atomes binaires, une force électrique
Davy	l'acide sulfurique est un hydracide		SO_4 + H_2
	sulfate de potasse		SO_4 + K

Les grandes rivalités

Sur un terrain aussi neuf et aussi vaste, Liebig ne pouvait manquer de rencontrer les chimistes de l'époque. D'une humeur très chaotique, d'un tempérament très vif et d'un caractère très jaloux, Liebig a collectionné les « affaires ». Comme s'il ne pouvait se réaliser que dans le conflit, souvent très violent, d'une brutalité et d'une grossièreté défiant la décence, Liebig s'en est pris à presque tous les chimistes de l'époque. Seules deux amitiés ont été épargnées. **Gay-Lussac,** pour lequel il a toujours montré respect, déférence et fidélité. Il sera son avocat auprès de Berzélius, qui n'apprécie guère les chimistes français en général « *dont les analyses sont si peu fiables* », et Gay-Lussac en particulier, à qui il reproche d'utiliser les ciseaux lorsqu'il fait passer des mémoires dans ses *Annales* : « *Comme je regrette que vous méconnaissiez Gay-Lussac, un homme d'une si grande noblesse, comme je regrette que votre séjour à Paris ne vous ait pas procuré l'occasion de découvrir son caractère irréprochable* ». Par amitié, il prendra son fils Jules à Giessen pendant l'année 1832 : « *J'ai moi-même déconseillé à son père qu'il continue à faire de la chimie. Comme homme, il possède les qualités les plus exceptionnelles ; mais il ne lui sera jamais possible de produire une œuvre scientifique* » [10]. Et **Wöhler** qui, tout en collaborant fréquemment avec lui aux travaux de laboratoire [11], à ses plus grands mémoires scientifiques et aux grandes entreprises éditoriales, sut adroitement éviter les occasions de rivalité et dont l'humour [12], ainsi que le peu d'intérêt pour les honneurs et les reconnaissances, eurent raison de ce tempérament sourcilleux, tout en le rappelant parfois à la décence : « *Cette façon que tu as de faire connaître ton désaccord (il s'agit de la catalyse) à l'encontre d'un homme comme Berzélius, qui est par ailleurs ton ami personnel, me paraît tout à fait inappropriée. Ne me tiens pas rigueur si je te dis cela directement, et donc si je tombe presque dans la même faute que celle que je te reproche. Personne ne demande d'être du même avis qu'un autre, cet autre serait-il la plus grande autorité. Cela, je le comprends. Mais on ne doit pas exprimer son désaccord d'une façon aussi abrupte, et encore moins vis-à-vis d'un homme qui a tellement contribué au développement de la science, dont les travaux ont posé les fondements des travaux à venir, dont est occupée la génération actuelle... De plus, je suis persuadé que, si tu relis attentivement l'article de Berzélius sur la catalyse (dans le* Jahresbericht*), tu conviendras qu'il ne dit rien de plus et ne veut rien dire de plus que nous, qu'il ne veut que donner la description d'un groupe de phénomènes qui nous sont encore peu clairs, et qu'il ne croit pas plus que nous à une nouvelle force particulière* » [13].

A côté de Gay-Lussac, **Berzélius** fut l'autre maître, bien que Liebig ne soit jamais allé travailler à Stockholm, et l'animosité qui régnait entre ces deux géants, le Suédois et le Français, faisait son désespoir : « *Représentez-vous ma position et la douleur que j'éprouve devant cette inimitié. Je me trouve au milieu, entre deux hommes que je vénère, les deux étoiles les plus brillantes de la science et auxquels je suis dévoué avec une fervente considération. Je ne veux et ne peux cacher à aucun des deux ma véritable opinion. Mais ne courrai-je pas, alors, le risque de perdre l'amitié de l'un ?... Comme je serais heureux si je pouvais parvenir à vous donner une meilleure idée de Gay-Lussac* » [14].

La théorie électro-dualistique dominait l'Europe chimique, et même Dumas s'y tenait, malgré quelques atermoiements. Fin 1830, à la faveur d'un rassemblement des naturalistes et médecins allemands, Liebig noua avec Berzélius une relation passionnée. Dès janvier 1831, il lui apporte une moisson de résultats, dont l'analyse de nombreux alcaloïdes, réalisée grâce au tube à cinq boules et au nouvel appareil mis au point pour l'évaluation de l'azote. « *Comme votre jardin doit être grand et splendide, qui a pu produire en si peu de temps des fruits aussi exceptionnels. Je ne peux comprendre comment vous avez pu produire tout cela en si peu de temps* ». Liebig se proclama longtemps son « *fils par le cœur* », « *de tout cœur son fidèle ami* ». Il l'aimait de toute son âme, jusqu'à lui faire une véritable scène de dépit amoureux lorsque Berzélius, alors âgé de 57 ans, convole en justes noces avec une jeune fille qui n'en a pas encore 25. Mais il se reprend : « *Ainsi, vous voila marié, et heureusement marié. Homme digne d'envie : si vous vous étiez marié il y a trente ans, vous auriez aujourd'hui une vieille femme qui ne rafraîchirait pas votre vie de sa jeunesse, qui ne vous inonderait pas de fleurs... Vous étiez fatigué, assommé par le travail, et la science n'était plus capable de vous revigorer. Personne n'était là pour vous réchauffer le soir. Comme tout est différent aujourd'hui ! Dites-moi : est-il un ami que l'on puisse comparer à une bonne, brave femme ?... Pour ce qui me concerne, j'aurais souhaité être votre femme, si la nature ne m'avait pas affublé d'un pantalon ; car il y a en vous tout ce qui peut contenter une femme, tout ce qui peut lui garantir un bonheur durable* » [15].

Profondément admirateur de l'œuvre scientifique de l'immense chimiste, mais en même temps jaloux de sa suprématie incontestable, il se heurta à lui pour des raisons scientifiques profondes, à propos des acides organiques, à propos des radicaux, mais encore plus à propos des questions physiologiques, pour lesquelles Berzélius avait été un pionnier. La hardiesse des vues du jeune chimiste, concernant particulièrement les phénomènes de fermentation et de putréfaction, était inadmissible : « *Il me semble que cette façon de traiter la science nous fait retourner à la méthode de Fourcroy qui construisait la science sur les bulles de savon colorées. Elles se sont envolées au loin au premier examen, et pas une trace du savon n'est restée, dont elles étaient issues* » [16]. Liebig, profondément organicien, sentait bien les insuffisances du système que Berzélius tentait d'adapter à ces corps nouveaux. Ce sont les transformations, les métamorphoses organiques qu'il affirme chimiques, qu'il s'agit désormais d'étudier au lieu des composés eux-mêmes ; transformations dans lesquelles se jouent des changements de disposition en profondeur, non plus seulement des déplacements ou des remplacements de parties, et dont l'expérience ne délivre pas de connaissance directe. En 1838, pendant la discussion concernant la constitution des acides qui se déroule devant l'Académie des sciences entre Dumas, Liebig, Berzélius et aussi Pelouze, Liebig signe l'arrêt de mort scientifique de celui auquel il se déclare pourtant toujours « *avec l'amour d'un cœur invariable... votre plus dévoué par le cœur... avec amour et vénération* » : « *Berzélius somnolait et nous avons travaillé. Les rênes lui ont glissé des mains. Il s'est alors réveillé. Le lion, dont les dents se sont émoussées, a poussé un rugissement (contre l'Académie française) qui n'effraie plus aucune souris* » [17].

Un grand scandale secoua l'Europe chimique dans les années 1840 : Liebig en effet, confie à six de ses élèves « *remplis de talents et de connaissances et fort expérimentés* », un travail sur les acides gras dont le résultat le plus remarquable « *est que la composition des acides gras, telle qu'elle a été trouvée par M.* ***Chevreul****, n'est pas exacte, et que toutes les formules y ayant trait doivent être*

changées » [18]. Comment s'étonner que Chevreul ait été indisposé contre Liebig et se soit fâché ? Pour se justifier, Liebig accuse Gerhardt, qui avait traduit la lettre, d'avoir tronqué le texte et lui donne donc la responsabilité de la brouille. Or, non seulement les analyses de Chevreul, exécutées près de 30 ans plus tôt « *sont infiniment plus exactes que celles qui sont sorties de la fabrique de Giessen* », mais encore Gerhardt, en effaçant il est vrai quelques bribes de phrases, a atténué les propos blessants à l'adresse des disputeurs de la théorie des substitutions qui « *n'ont que le désagrément d'avaler de la bile et du poison qu'ils se sont versés réciproquement* » [19].

On le voit, les relations qui avaient été bonnes entre Liebig et **Gerhardt**, son dévoué traducteur, commencent à se détériorer. C'est que, d'une part, Gerhardt commence à prendre des distances avec les conceptions théoriques de Liebig : « *Malgré la haute considération dont jouissent les idées que nous avons nous-même contribué à répandre en France, par la traduction du* Traité *de M. Liebig, nous ne craignons pas de déclarer que les radicaux organiques nous paraissent d'une conception trop vague et d'un usage beaucoup trop arbitraire pour qu'il y ait profit pour la science de les conserver ; nous osons même affirmer qu'ils lui portent préjudice en lui ôtant cette précision et cette rigueur dans les principes qui, seules, lui assurent un avenir durable* » [20].

D'autre part, il entre en conflit ouvert avec lui sur la question du mellon, le « *radical découvert par J.L.* » [21]. En effet, « *ce mellon ne joue pas le rôle d'un radical* », de plus le mélam de Liebig « *n'est qu'un mélange de mellon et de l'alcaloïde appelé mélamine par le célèbre chimiste de Giessen* » [22]. A partir de là, Gerhardt n'est plus qu'un « *voleur de grand chemin qui, du fond de son repaire, attaque les voyageurs étrangers et les dépouille de leur propriété* » [23]. C'est alors que Laurent et Gerhardt décident, en collaboration, de reprendre la question à la base ; ils mettent en évidence dans le travail de Liebig des fautes d'observation, d'expérimentation, des analyses fausses et des formules erronées. Pour arriver à la conclusion que « *le mellon est une blague atroce* », que son sel de potassium « *est du citrouillure de K* » pour lequel on pourrait prendre un brevet d'invention [24].

Certes, **Laurent** bénéficiera également du courroux du « calomniateur », qu'il rencontre sur tous les travaux, depuis le camphre, l'acide benzoïque et ses composés, les alcaloïdes, jusqu'au mellon. Mais plus encore sur les questions de chimie théorique, sur les radicaux, dont Laurent montrera qu'ils ne peuvent exister à l'état libre, et sur les acides dont il démontrera, lui, que non seulement ils ne contiennent pas d'eau, mais qu'ils ne peuvent pas en contenir. Il semble que Liebig ait un temps conçu de la considération pour cet autre pionnier de la chimie organique : il l'a invité à faire une conférence qui fut très appréciée à Giessen et lui a offert un numéro entier de ses *Annalen* pour que Laurent y présente un résumé de ses travaux, avec les idées qui ont dirigé les recherches. Ces deux chimistes avaient, il est vrai, un sens presque instinctif de la spécificité de la chimie organique, et avaient vu, presque en même temps, les questions qu'il fallait soulever et les impossibilités qu'on allait rencontrer. Mais si Liebig a abdiqué devant l'énormité de la tâche, l'extrême difficulté des problèmes à traiter et l'aridité de chemins à emprunter, Laurent est allé aussi loin que faire se peut. Mais il était peu concerné, lui, par la célébrité [25].

A la réflexion, l'histoire des brouilles, voire des scandales causés par Liebig, pourrait constituer une entrée pour l'étude de la chimie de l'époque, car il n'est guère de chimiste qui n'ait eu, à un moment ou à un autre, et pour une question ou une autre, affaire avec lui. On pourrait ajouter à la liste déjà dressée, la brouille permanente avec **Mitscherlich**, l'ami et le protégé de Berzélius, sur la question du benzène [26], sur la préparation de l'éther, que Mitscherlich décrit soigneusement et nomme seulement décomposition par *contact*, tout en le rapprochant d'autres phénomènes que Berzélius a appelés catalytiques [27], alors que Liebig voudra l'expliquer par des causes chimiques. Même le mérite de la découverte de l'isomorphie, qui avait fortement impressionné Berzélius à l'époque, lui est partiellement retiré : « *Il a couvé l'œuf, et c'est déjà bien, mais celui qui l'a pondu, c'est Gay-Lussac* » [28]. Mais outre le peu de crédit que Liebig porte à ses travaux scientifiques, il le dénoncera publiquement et avec une violence rare, quant à la qualité, l'efficacité, voire la réalité de l'enseignement qu'il est censé donner dans son laboratoire de Berlin [29].

La brouille avec **Mulder**, encore un personnage apprécié de Berzélius, devrait également être évoquée : sur la question de l'humus et de la nutrition des plantes, sur la question des protéines : « *Liebig me paraît marcher sur un chemin malheureux pour la chimie animale. Ce n'est pas par des analyses mal faites et avec la plume qu'on peut construire une théorie de la vie... Ma pauvre protéine* » [30].

Quant à la brouille avec **Pasteur**, elle est assez connue. Comme Boussingault, Liebig était trop chimiste pour pouvoir reconnaître l'intervention d'organismes vivants, quand bien même on les lui montrait : en 1839, il se moquait de ces animalcules que décrivaient les physiologistes : « *Sans cesse, on voit remonter de l'anus de ces animalcules un liquide spécifique ; de leurs énormes parties génitales jaillit, à de très courts intervalles, un flot d'acide carbonique* » [31]. Pour lui, tout est chimie. En 1862, pour la 7e édition de sa *Chimie agricole*, il écrira : « *Depuis 1846, notre connaissance de la fermentation et de la putréfaction s'est tellement développée, grâce aux travaux importants de Pasteur, Berthelot, Schröder et autres, que je dois reprendre* Le processus chimique de la fermentation » [32]. On ne saura jamais s'il a révisé ses idées.

Nous nous attarderons davantage sur la relation avec **Dumas**, car elle permet de saisir le basculement, au moins apparent, des intérêts de Liebig de la chimie pure vers la chimie appliquée.

Vers la chimie appliquée

En 1837, Liebig avait été invité par Th. Thomson, dont le fils était à Giessen, au meeting tenu par la British Association for the Advancement of Science. Il y présente la substance de son mémoire sur l'acide urique, non encore rédigé, et invite les Anglais à participer à l'effort de recherche entrepris dans la chimie organique, qui permettra le progrès de la physiologie. Il obtient un succès immense [33] et, sur son chemin de retour, à Paris, invite **Dumas** à s'associer à cette construction européenne de la chimie. C'est ainsi qu'à partir de 1838, les *Annalen* seront éditées sous la co-direction de « *HH. Dumas in Paris und Graham in London* » et que, dans une *Note* parue à l'Académie des sciences en octobre 1837, sous la signature de Dumas et Liebig, le bon vouloir des savants anglais étant considéré acquis, la position de Liebig assurant la bonne volonté des chimistes du nord de l'Europe, Dumas promet le concours des chimistes français. Il s'agit de découvrir, étudier et caractériser les radicaux (composés) de la chimie organique. Certes, les radicaux de Dumas

n'étaient pas tout à fait ceux de Liebig, mais il fallait « *convaincre tout le monde de la parfaite harmonie qui règne entre nous* » et la *Note* ménageait aussi bien l'orgueil national des Français (Lavoisier était nommé dès les premières lignes) que la paternelle autorité de Berzélius (non nommé) puisque « *les lois les plus simples de la chimie minérale* » commandaient la chimie organique. Il n'empêche que la *Note* toute suivante, également co-signée, attaquait d'emblée l'examen de la constitution de quelques acides et forçait à « *admettre que l'eau, perdue par les citrates à 200 °, n'appartient réellement pas à la constitution de l'acide citrique* ».

Tableau IV - **Programme de 1837**.

Dumas		Justus Liebig	
hydrogène	C^8H^8 (joue le rôle de base)	C^4H^{10}	Ae
éther sulfurique	C^8H^8, H^2O	éther	AeO (base)
alcool	C^8H^8, 2 H^2O	alcool	AeO + aq.
liqueur des Hollandais	C^8H^8, Ch^4		

On sait que l'alliance fut de courte durée, qu'il y eut brouille avant, qu'il y en aura d'autres après, mais elle montre que Liebig sentait bien la fragilité et l'isolement de sa position aussi bien sur la place chimique que dans la perspective de la construction d'une science qui avait tout à inventer. En fait, il s'agissait pour lui de « *faire une révolution dans la chimie* » ; et pour « *poser les fondations d'un édifice immense* », l'aval, voire la signature associée de Dumas à « *un ouvrage philosophique sur la chimie organique* » l'aurait aidé à imposer ces idées, professées depuis sept ans, idées qui « *règneront, vous le verrez* » [34], et qui seraient exprimées dans une *Introduction*, dont le mémoire *Sur les phénomènes de la fermentation et de la putréfaction et sur les causes qui les provoquent*, donnera la substance [35]. Il semble que ni l'un ni l'autre ne tenait vraiment à cette alliance : Dumas plutôt impliqué, comme la plupart des chimistes français désormais, dans une chimie française, et occupé de ses innombrables fonctions ; Liebig qui tenterait de faire entrer ses idées en France d'une autre façon. Certes, il voulait assurer la suprématie de sa chimie en Europe, étendre la position de « leader » que lui avaient conférée les Anglais, mais il n'avait pas mesuré toutes les forces : « *Depuis la publication de notre manifeste, ma position a changé brusquement et d'une manière très inattendue. Tous mes amis font mine de se séparer de moi, M. Berzélius le premier a rompu tout à fait ; il vient de me déclarer la guerre. Avec lui, Wöhler, Rose, Magnus deviennent chancelants. Je suis sûr qu'ils se ligueront contre moi si la nécessité les force à se déclarer entre M. Berzélius et moi. Si... je perdais toute influence, je me consumerais en travaux, sans cueillir le fruit de mes peines... Vous êtes puissant à Paris, mais vous n'avez aucune influence ailleurs, aussi longtemps que vous n'êtes pas à la tête d'un journal. L'influence de Paris est peu de chose à mes yeux quand il s'agit de l'Europe* » [36].

Beaucoup plus tard, lors d'une fête donnée à Lille par Kuhlman, on reprendra les civilités : Dumas remettra à Liebig la Croix d'officier de la Légion d'honneur, et Liebig répondra en lui dédiant son édition de 1852 des *Lettres sur la Chimie*.

Il n'empêche que les critiques affluant de toutes parts, et surtout le début de construction de l'édifice révélant sa fragilité, désormais convaincu que « *les discussions sur des questions de principes théoriques* » sont prématurées, éprouvant même une véritable « *terreur des discussions théoriques car ce que je défends aujourd'hui sera peut-être rejeté par moi-même demain, si l'on trouve des faits contradictoires* », Liebig avoue qu'il n'a « *plus de grandes joies dans la chimie organique... Les travaux sont trop difficiles et il y a trop peu de travailleurs* ». Il laisse alors d'anciens intérêts pour la science appliquée prendre le dessus de ses préoccupations, intérêts sans doute réveillés par les nombreuses visites faites durant son périple en Grande-Bretagne.

« *Très sérieusement, je me suis demandé : pourra-t-il sortir de ces débats quelques applications utiles pour la médecine, pour la physiologie ou pour l'industrie ? Tout ce que nous avons est trop neuf et trop jeune pour que l'on puisse espérer établir des lois qui seraient exploitables plus d'un mois* » [37].

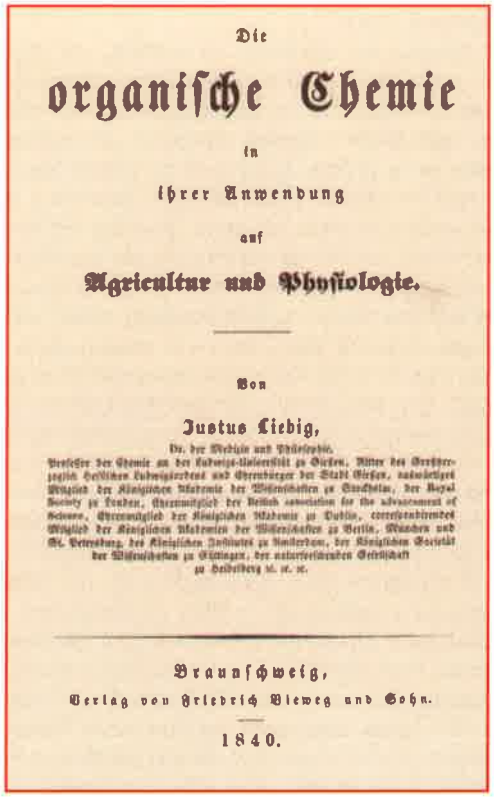
Le 2e tome du *Traité de Chimie organique* reconnaît l'impasse : « *Aujourd'hui, le traitement théorique des combinaisons ne peut aller au-delà de la considération des radicaux amide, cyanogène, benzoile, éthyle... et l'on reprendra successivement les acides organiques, les corps gras neutres, les huiles essentielles, les matières colorantes... conformément aux classifications anciennes* ». Mais en même temps, les processus de décompositions organiques étudiés à partir de l'acide urique, qui amènent progressivement les composés animaux à se résoudre finalement en ammoniaque, gaz carbonique et eau, la décomposition du ligneux en gaz carbonique et eau, le conduisent, moyennant une lecture de de Saussure, à s'intéresser à la question de l'humus et de la nutrition des végétaux : « *c'est uniquement aux dépens de l'acide carbonique dégagé par l'érémacausie du bois et de l'ulmine que les plantes se nourrissent* ». Ainsi se trouve ouverte une nouvelle voie : l'agriculture, la plus belle de toutes les activités humaines, la première et la plus importante des industries de l'Allemagne en 1840.

Mais il aperçoit un bénéfice secondaire : se donner les moyens, enfin, de « *faire une révolution contre les idées régnantes* ». Puisque ce ne fut pas possible en chimie, ce sera en agriculture ! Contre Sprengel en particulier, le spécialiste de la chimie agricole et de l'étude de l'humus, affirmer que les plantes prélèvent leurs aliments à la nature minérale, exclusivement ; et donc, puisque les processus sont chimiques, se donner les moyens de rapporter au sol, quelle qu'en soit l'origine, les éléments que la croissance et l'enlèvement des plantes auront soustrait au sol. « *Sprengel va faire une drôle de tête* », écrit-il à Vieweg dans la lettre même où il lui annonce l'envoi du manuscrit d'un petit livre « *écrit pour toi* » [38]. En un mot faire l'agriculture moderne, celle qui ne sera plus suspendue à la production du fumier de ferme, « la matière fertilisante par excellence » ; celle qui saura trouver d'autres sources d'approvisionnement afin de restituer au sol ce que les cultures lui ont fait perdre.

C'est ainsi que l'*Introduction* au *Traité de Chimie organique* en cours d'écriture [39], développement de l'étude des décompositions organiques de 1839, se transforme, moyennant quelques analyses réalisées en hâte à Giessen durant les premiers mois de 1840, et un renversement des parties, en un ouvrage qui se dit de chimie agricole, et dont finalement la 1ère édition allemande paraîtra avant l'*Introduction*. Les Français auront le privilège de voir paraître, à quelques mois d'écart, l'introduction au *Traité* et la *Chimie organique appliquée* [40]... Il faut dire que Vieweg, l'éditeur, avait été fortement mobilisé.

L'année 1840 ne lui apporte guère plus de joies. Les difficultés scientifiques, dans la chimie pure, s'amoncellent encore : querelles sur les substitutions encore augmentées par le mémoire de Berzélius *Sur quelques questions de chimie organique*, par la position critique qu'il a adoptée concernant la catalyse, par la réaction de Berzélius à son mémoire sur la fermentation, par les différents concernant le poids atomique du carbone [41]. Ajoutons à cela la réception peu empressée de Berzélius, et celle, très laconique, de Wöhler. Il s'engage dans l'écriture de sa physiologie, la physiologie végétale et la physiologie animale étant prises comme un tout, étudié comme la chimie du vivant [42]. Puis il s'active, avec quelque frénésie, autour de la parution puis de la diffusion de sa *Chimie agricole*, qu'il mènera de main de maître, organisant la promotion de l'agriculture et, d'une façon plus fondamentale, celle de la chimie, campagne qu'il avait lancée dans le *Zustand*. Car « *sans une connaissance approfondie de la chimie, il est impossible de faire progresser l'activité la plus importante de toutes, l'agriculture et l'économie forestière* ».

« *Ces Français n'ont vraiment aucun sentiment du véritable honneur, aucun sens du droit et de la justice. Ils s'occupent depuis de nombreuses années de spéculations théoriques sans aucune utilité pour la science, pour la seule satisfaction de leur propre vanité et de leur prétention. Ils ont fait la découverte que le mot radical devait être banni et substitué par le mot type. Telle est la plus grande de toutes leurs découvertes. Hélas, en Allemagne aussi, on ne rencontre que faiblesse et envie à mon approche. Alors je reste seul, personne n'ayant la force de les contredire. Bref, c'est un vilain temps. Je suis très insatisfait et me détourne de ces choses tristes en appliquant la chimie à la physiologie, ce qui m'intéresse infiniment* » [43].


Die

organische Chemie

in

ihrer Anwendung

auf

Agricultur und Physiologie.

Von

Justus Liebig,

Braunschweig,

Verlag von Friedrich Vieweg und Sohn.

1840.

Page originale de titre de *Agriculturchemie* (1840).

La diffusion

La *Chimie agricole* ne contient pas d'idées nouvelles et ne peut non plus constituer un guide pour l'agriculteur. Pourtant, elle reste un évènement dans l'histoire de l'édition, et de l'édition chimique en particulier : neuf éditions allemandes dont cinq pour les quatre premières années, quatre éditions anglaises, deux françaises, deux américaines, deux hollandaises, une russe, une polonaise..., sans compter les éditions bon marché, les reprints, les abrégés. Tous les moyens possibles ont été judicieusement employés par Liebig : les élèves de son laboratoire, dévoués, qui traduisaient au fur et à mesure de l'écriture, en relation avec leur pays, la promotion qu'ils en faisaient. C'est ainsi que la 1ère édition anglaise est parue dès 1840, la 1ère édition américaine dès 1841, toutes deux traduites par Playfair, alors à Giessen. Gerhardt, qui traduisait l'*Introduction*, après le tome I du *Traité*, au fur et à mesure de la réception des feuilles, revoit « *avec beaucoup de soin* » les feuilles pour « *l'édition particulière* » à partir de juillet. Pour l'édition allemande, Vieweg, son ami et son obligé, joue un rôle déterminant, incessamment activé par l'auteur : Liebig, en effet, avait contribué à donner une orientation, une expansion et un prestige très spécifiques à cette maison d'édition héritée du père. De plus, il l'avait encouragé à construire et à organiser sa propre fabrique de papier, sur le modèle de celles visitées en Grande-Bretagne. Du très beau papier, pour lequel Liebig exigeait une très belle impression. « *Si je n'avais pas été chimiste, j'aurais été fabricant de papier* » !

Mais Liebig sut aussi magistralement orchestrer la promotion du livre : par le moyen du scandale, grâce au *Zustand*, également paru en fascicule séparé chez Vieweg, qui avait fait un très grand *Spektakel*, par l'envoi d'exemplaires auprès de personnages bien placés, tous les plus hauts « Potentaten », dans la science, dans les instances universitaires, dans les états, par le contournement des censures, comme ce fut le cas en Autriche ; le « glorious book » est présenté par Gregory au meeting de 1840 de la BAAS... Mais aussi par la largeur et la diversité du public qu'il visait : « *Chimistes, pharmaciens, médecins, agronomes, voilà un grand public !* ».

Liebig fut le meilleur artisan de sa propre légende. Lui-même a créé le mythe de la naissance de l'agriculture moderne. Dans les dernières éditions de *Chimie agricole*, il décrit *l'agriculture avant 1840* : elle recourt à des moyens magiques, attend des miracles et demande « *un petit morceau de pierre philosophale* » aux sciences naturelles. Mais survint *l'agriculture après 1840*, précisément l'année de parution de son ouvrage, et « *la chimie vint soumettre le végétal* ». Aussi grossier soit-il, le procédé a magnifiquement fonctionné : les 100 ans de la parution de l'ouvrage ont été dignement fêtés en Allemagne et aux États-Unis, et Grandeau lui-même a propagé cette césure : « *Avant 1840, on n'attribuait de valeur fertilisante qu'aux matières organiques d'origine végétale ou animale* » [44].

Liebig savait inonder le public de ses œuvres. Certes il écrivait beaucoup, malgré la répugnance qu'il disait avoir, mais il faisait paraître la même chose, avec ou sans variantes, sous de multiples formes. C'est ainsi que *Über einen neuen Apparat...*, paru dans les *Poggendorffs Annalen* de 1831, est traduit la même année dans les *Annales de Chimie* par *Sur un nouvel appareil pour les analyses des substances organiques...* Il constitue l'article, *Organische Analyse*, du *Handbuch der Chemie* (l'ancien Geiger's

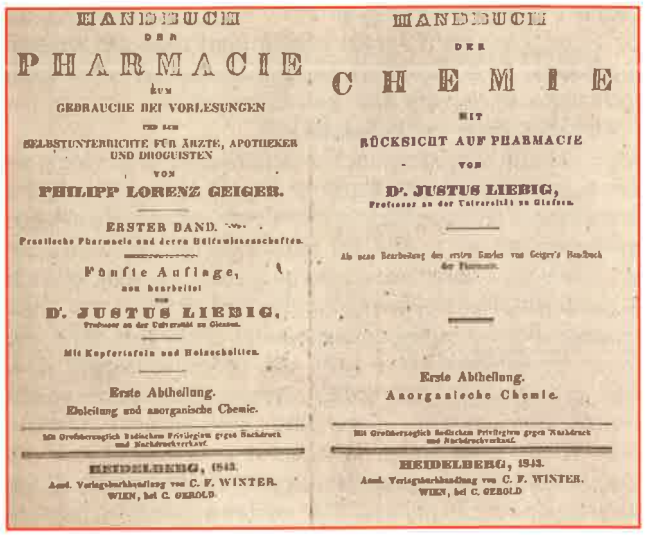
Handbuch der Pharmacie) dont les premiers cahiers paraissent en 1837 (qui, d'ailleurs arrangés et traduits par Gerhardt, donnent l'*Introduction à l'étude de la chimie*), enfin paraît deux fois en France en 1838, sous forme de manuel dont le curieux *Manuel pour l'Analyse des substances organiques*, suivi d'un *Examen critique*, par Raspail : « *Liebig survint avec une modification qui réduisait tout le procédé à trois pesées ; les chimistes se jetèrent avec avidité sur ce moyen de faire des analyses élémentaires à si peu de frais ; ce fut dès lors une mode que l'analyse élémentaire* ».

Quant à la *Chimie organique appliquée à la Physiologie végétale et à l'Agriculture*, nous avons vu qu'elle reprend le texte, avec infiniment peu de corrections, de l'*Introduction* au *Traité de Chimie organique,* inversant seulement les deux principales parties. *Les lois naturelles de l'Agriculture* sont extraites de l'édition 1862 du même ouvrage. Les exemples sont innombrables.

Il existe d'autres moyens de diriger l'opinion, c'est de diriger des publications : Geiger invite Liebig à partager avec lui, en 1831, la direction du *Magazin für Pharmacie und Experimentalkritik*. Dès 1832, la fusion est opérée avec les *Archives* de l'Union des pharmaciens de l'Allemagne du Nord de Brandes et devient les *Annalen der Pharmacie*. Vraisemblablement préparé par une *Préface*, dans le tome 25 de 1838, extrêmement élogieuse pour les pharmaciens allemands dont lui, Liebig est « *fier, dont les connaissances en chimie, en botanique, dans la plupart des sciences naturelles sont solides et approfondies, qui parlent couramment la langue de la science* ». Le journal devient, en 1840, les *Annalen der Chemie und der Pharmacie* (*Liebigs Annalen der Chemie* à la mort de Liebig). Ce journal, où paraîtront tous les grands mémoires de l'époque, moyennant certaines omissions et certaines préférences, sera également l'organe de diffusion des travaux de Giessen, mais aussi un instrument de polémique, voire de dénigrement scandaleux. Nous ne donnerons que trois exemples.

En 1838, dans *Sur la théorie des combinaisons organiques de Laurent*, Liebig écrit : « *Toute la théorie de M. Laurent est, comme on le voit, un jeu arbitraire de concepts et de formules, auxquels il donne une signification qu'ils ne possèdent pas. Elle est l'expression de la parfaite méconnaissance des principes d'une vraie recherche scientifique* » [45]. En 1840, paraît une lettre, d'ailleurs très drôle, signée Schwindler (écrite par Wöhler), qui se moque de la théorie des substitutions et se termine par un P.S. : « *Je viens d'apprendre qu'il y a déjà dans le magasin à Londres, des étoffes en chlore filé très recherchées, et préférées à tout autres (sic) pour bonnets de nuit, caleçons, etc.* ». En 1841, Liebig répond d'une façon très insolente à Sprengel, qui avait fait un certain nombre de remarques critiques à sa *Chimie agricole* : « *J'attire l'attention de M. Sprengel sur les nouveaux livres qui paraissent en chimie. On peut y apprendre que l'acide oxalique, l'acide formique, l'acide prussique peuvent être préparés sans avoir recours à un corps vivant ou ayant vécu. Les éléments des combinaisons seraient retenus ensemble non par des forces chimiques, mais par la force vitale : telles sont les vues, très remarquables, exposées par cet homme, qui a la prétention d'avoir des connaissances en chimie* ».

En 1836, Geiger décède. A la demande de sa veuve, et pour protéger les intérêts de « *l'ami éternel* » dit-il, Liebig accepte de reprendre le grand *Handbuch der Pharmacie.* C'est ainsi qu'en 1843 paraîtra la 5e édition, de Ph.L. Geiger, revue par Liebig, qui est aussi, sur la page en vis-à-vis, *Handbuch der Chemie* (dans ses rapports avec la pharmacie), de J. Liebig.


HANDBUCH DER PHARMACIE ZUM GEBRAUCHE BEI VORLESUNGEN UND ZUM SELBSTUNTERRICHTE FÜR ÄRZTE, APOTHEKER UND DROGUISTEN VON PHILIPP LORENZ GEIGER.

ERSTER BAND. Practische Pharmacie und deren Hülfswissenschaften.

Fünfte Auflage, neu bearbeitet von D. JUSTUS LIEBIG, Professor an der Universität zu Giessen.

Mit Kupfertafeln und Holzschnitten.

Erste Abtheilung. Einleitung und anorganische Chemie.

Mit Großherzoglich Badischem Privilegium gegen Nachdruck und Nachdruckverkauf.

HEIDELBERG, 1843. Aust. Verlagsbuchhandlung von C. F. WINTER. WIEN, bei C. GEROLD.

HANDBUCH DER CHEMIE MIT RÜCKSICHT AUF PHARMACIE VON D. JUSTUS LIEBIG, Professor an der Universität zu Giessen.

Als neue Bearbeitung des ersten Bandes von Geiger's Handbuch der Pharmacie.

Erste Abtheilung. Anorganische Chemie.

Mit Großherzoglich Badischem Privilegium gegen Nachdruck und Nachdruckverkauf.

HEIDELBERG, 1843. Aust. Verlagsbuchhandlung von C. F. WINTER. WIEN, bei C. GEROLD.

Handbuch der Pharmacie/Handbuch der Chemie (1843).

Le second volume, consacré à la chimie organique, est la 1ère version, mais cette fois-ci avec de sérieuses variantes du *Traité* français dont le 1er volume au moins a été présenté comme écrit directement en français, « *car les Français n'aiment pas les traductions* » avait conseillé Gerhardt. Dès 1837 d'ailleurs, Liebig avait le projet d'en écrire une introduction.

Le *Handbuch*, ainsi que les *Annalen*, étaient publiés par Winter. Or, Liebig a su jouer même de sa relation avec les éditeurs. Il avait obtenu de haute lutte, en 1832, que Vieweg accepte d'éditer un *Handwörterbuch*, dictionnaire de chimie pure et appliquée, pour lequel il s'était acquis la collaboration du grand Poggendorff. Ce serait un ouvrage qui présenterait la chimie toute entière, donc dans ses relations avec la pharmacie, la physique, la technique, en des articles concis, écrits sur le mode de la conversation, et qui donnerait une image percutante de l'état actuel de la science. Il rendrait donc « *tout à fait superflus, les traités de Berzélius et de Gmelin* ». Ce dictionnaire, qui devait comporter quatre volumes, être terminé dans les deux ans, ne compte que quelques articles écrits au moment où Liebig entreprend le *Handbuch* [46]. Liebig saura jouer des exigences d'un éditeur pour faire patienter l'autre, et même jouer du temps qu'il consacre à sa *Chimie agricole* « *qui est écrit pour lui* » et dont il offre la 1ère édition, moyennant quelques retours, pour montrer à quel point il s'active. Il n'en hésite pas moins à presser Vieweg pour imprimer son « *petit livre* », dans le même temps où il annonce que l'article *Atmen* est presque corrigé.

En 1840, Liebig est donc écrasé par ses travaux d'écriture et de direction, entre le *Handbuch*, le *Handwörtebuch*, le *Traité de Chimie organique* et son *Introduction*, sa *Chimie agricole* et les articles (une petite dizaine seulement cette année-là) : « *Ma vie est dévorée par le papier* », écrit-il à Wöhler. Et il use de ses obligations chez l'un pour excuser les retards chez l'autre. A Vieweg, « *pour chaque quatre semaines de retard à l'éditeur français (Crochard) je dois payer 500 Frs...* », et « *tant que le Geigerschen* Handbuch *n'est pas fini, je ne peux pas être très actif pour le* Lexikon ». A Pelouze, il regrettait « *l'idée malheureuse que j'ai eue de publier avec M. Poggendorff un dictionnaire de chimie m'a rendu l'esclave du libraire qui me met tous les jours dans l'enfer* », et à Wöhler, « *le* Lexikon *pèse comme les Alpes sur mes épaules* ». En fait, il voulait s'assurer la collaboration de l'ami

Wöhler, ce qui est effectif en 1842. Beaucoup d'articles de ce dictionnaire sont signés Liebig, dont bien sûr *Analyse organique* ; et la recension des signataires des articles est révélatrice de la direction que Liebig voulait exercer sur l'orientation de la connaissance [47].
Mais comme si tous ces écrits ne suffisaient pas, Liebig va être le propagandiste de la chimie. Certes par ses élèves, ses conférences à travers l'Europe, les interventions auprès des politiques [48], les visites [49], mais aussi par ses *Lettres sur la Chimie* qu'il commence à écrire à partir de 1842 dans le *Augsburger Allgemeine Zeitung*. Par ces lettres, Liebig veut propager les nouvelles connaissances chimiques sous une forme compréhensible à tous, afin d'éveiller l'intérêt d'un plus grand public pour cette science. Ces lettres seront ensuite rassemblées, continuées, renouvelées, publiées chez Winter, avec qui les relations sont tout autres qu'avec Vieweg, et traduites pour les Anglais, les Américains et les Italiens. Le succès éditorial sera encore supérieur à celui de la *Chimie agricole*. Suivront les *Lettres sur l'agriculture* et les nouvelles *Lettres* [50].

Justus Liebig, 1860.

La chimie est une, tout est chimie

La carrière de Liebig aurait donc subi plusieurs inflexions ? Il n'en est rien. Entre le chimiste de la chimie pure et celui de la chimie appliquée, entre le chimiste et le propagandiste, il n'y a aucune rupture. C'est la chimie pure, la question des arrangements, de leurs perturbations au cours des métamorphoses, qui a conduit Liebig vers la question de l'humus et la nutrition carbonée des plantes. C'est le combat pour la culture, l'éducation chimique, qui l'a amené vers la propagande. Puisque la chimie gouverne tout, c'est en la cultivant qu'on fera avancer médecine et physiologie, agriculture et industrie, pour le mieux-être de l'Homme. Ce fut son message dès Liverpool. Il faut donc promouvoir la chimie, la faire enseigner en amphithéâtre, mais aussi en laboratoire, la faire connaître et reconnaître au grand public, pour qu'il sache qu'elle n'est plus la servante du pharmacien, du médecin ou du fabricant, pour qu'il s'imprègne de cette culture rationnelle des phénomènes. Le *Zustand* ouvrait la voie et voulait frapper fort.
Liebig aimait la chimie, passionnément, comme la plupart des chimistes de son âge. Il a voulu donner à la chimie allemande ses lettres de noblesse. Même si la légende construite autour de lui est irritante, même si ses réactions brutales et jalouses n'entraînent pas la sympathie, même s'il a rarement reconnu ses erreurs, Liebig est un des très grands chimistes, l'un des deux fondateurs de la chimie organique moderne. Il fallait avoir de l'audace pour sortir du mode de pensée binaire, pour s'attacher à étudier les substances au moment du bouleversement de leurs parties. « *Au lieu d'étudier les substances, étudier leurs métamorphoses* » répète-t-il à Berzélius. Quand on regarde attentivement l'œuvre de Gerhardt, on reconnaît à quel point elle est marquée en profondeur, malgré les divergences ultérieures et l'influence incontestable de Laurent, par la pensée organicienne de celui qu'il a appelé son « *cher Maître* ». Et l'industrie chimique allemande ne va pas tarder à démarrer, avec les noms de beaucoup de ceux qui avaient séjourné à Giessen.

Même si pour ce qui concerne la chimie agricole, il n'a pas dit beaucoup plus que Davy, Chaptal et Sprengel [51], il *a su* le dire, puisque la postérité l'a retenu. La théorie minérale de la nutrition, la loi du minimum et la restitution restent, même à tort, ses inventions. Il les a sorties et exposées sous l'œil du public qui, sans lui, les aurait sans doute laissées encore un peu sous la poussière.
En revanche, le regard global qu'il a porté sur les phénomènes et sur les règnes, sa conception de la vie, à laquelle Claude Bernard devra beaucoup, sa hauteur de vue, par-delà les continents et les générations, et les avertissements qu'il claironne aux oreilles de l'humanité et de ceux qui en sont responsables, font de lui un visionnaire et le chimiste fondateur de l'écologie.

Couverture du livre de cuisine de « Liebig Compagny » (1896).

Il a fait de la chimie la science-reine, celle qui est formatrice de l'esprit. La chimie parle la langue des phénomènes et nous conduit à créer, alors que les mathématiques ne créent rien. Elle est aussi la science-mère, celle qui ordonne les autres sciences de la vie et de la nature. Non seulement la culture chimique est nécessaire pour faire avancer la physiologie, la médecine..., mais encore cette formation délivre, comme d'elle-même, tout le reste.
« *Je connais beaucoup de personnes qui se sont familiarisées avec les questions de science pure. J'en connais beaucoup qui se sont retrouvées à la direction des fabriques de soude, d'acide sulfurique, de sucre, d'usines de colorants et d'autres industries. Sans aucune expérience en la matière, ils se sont trouvés parfaitement familiarisés avec les procédés de fabrication dès la première demi-heure, et dès la seconde, ils apportaient des améliorations sensibles* ».

Notes et références

- Le timbre illustrant la page 50 a été émis à l'occasion du bicentenaire de Justus Liebig.

[1] Dans les *Pogg. Annalen*, **1831**, *21*, Liebig écrit : « *Cet appareil n'a rien de nouveau, si ce n'est sa simplicité, et la parfaite fiabilité qu'il permet* ». Dans le *Manuel pour l'Analyse des Substances organiques*, traduit par Jourdan (1838), Liebig décrit, sur trois pages, la fabrication et l'utilisation de « *ce tube de verre sur lequel on a soufflé trois boules* ».
[2] Brock W.H., *Justus von Liebig*, **1999**, p. 46.
[3] *Lettre* de Liebig à Berzélius, 8 janv. **1831**.
[4] Liebig J., Préface, *Traité de Chimie organique*, **1840**, vij, *I*.
[5] Liebig J., *Chimie organique appliquée à la Physiologie végétale et à l'Agriculture*, **1841**, p. 223.
[6] Wöhler et Liebig, Recherches sur le radical de l'acide benzoïque, *Annales de chimie*, **1832**, *51*, p. 308.
[7] Wöhler et Liebig, Recherches sur la nature de l'acide urique, *Annales de chimie*, **1838**, *68*, p. 225.
[8] Laurent A., Sur le mode de combinaison des corps..., *C.R.A.Sc.*, **1845**, *21*, p. 853.
[9] Liebig J., Sur la constitution des acides organiques, *Annales de chimie*, **1838**, *68*, p. 5.
[10] *Lettre* de Liebig à Berzélius, 6 nov. **1832**.
[11] « *Je suis content d'apprendre que tu as fait de Wöhler un prosélyte pour l'analyse organique. Il avait plutôt de l'aversion pour ce genre de travail* », *Lettre* de Berzélius à Liebig, 13 déc. **1831**.
[12] « *Qu'est-ce que tu en dis : on donne à manger de l'acide benzoïque à un chien, et il pisse de l'acide hippurique* », *Lettre* de Wöhler à Liebig, 28 nov. **1830**.
[13] *Lettre* de Wöhler à Liebig, 30 mai **1837**.
[14] *Lettre* de Liebig à Berzélius, 4 août **1831**.
[15] *Lettre* de Liebig à Berzélius, 23 fév. **1836**.
[16] *Lettre* de Berzélius à Liebig, 11 déc. **1840**.
[17] *Lettre* de Liebig à Wöhler, 18 mai **1838**.
[18] Sur la composition des corps gras, extrait d'une *Lettre* de M. Liebig à M. Quesneville, *Revue Scientifique*, **1840**, *2*, p. 193.
[19] Laurent A., M. Liebig et la chimie, *Revue Scientifique*, **1846**, *24*, p. 300.
[20] Gerhardt C., *Précis de Chimie organique*, **1844**, *I*, p. 10.
[21] Liebig J., *Traité de Chimie organique*, **1840**, *I*, p. 189.
[22] Gerhardt C., Sur les produits de la distillation sèche des sulfocyanures, *C.R.*, **1844**, *18*, p. 158.
[23] Liebig J., Ch. Gerhardt et la chimie organique, *Revue Scientifique*, **1845**, *23*, p. 422.
[24] Cf. Blondel-Mégrelis M., *Dire les choses. Auguste Laurent et la Méthode chimique*, thèse de doctorat ès Lettres, **1989**, *III*, p. 707.
[25] Une étude comparée des objectifs, des méthodes, des travaux et des résultats de ces deux chimistes, dans les années 1830-40, permettrait de se faire une idée précise de la naissance de la chimie organique moderne.
[26] Cf. Schütt H.W., *Eilhard Mitscherlich, Baumeister am Fundament der Chemie*, **1992**, p. 114.
[27] Mitscherlich E., Ueber die Aetherbildung, *Pogg. Ann.*, **1834**, *31*, p. 273.
[28] *Lettre* de Liebig à Berzélius, 27 fév. **1837**.
[29] Liebig J., der Zustand der Chemie in Preussen, *Annalen*, **1840**, *34*, p. 97. Par exemple : « *G. Rose, le seul homme qui délivre un enseignement scientifique pratique, le seul homme à qui il plaît de former des jeunes hommes à la chimie et qui possède le talent pour ce faire, et bien il lui manque tous les moyens... Mitscherlich reçoit chaque année de l'Académie 4 à 500 Thalers... Jusqu'à présent il n'a ouvert son laboratoire à aucun jeune homme, jusqu'à présent il n'a formé personne qui ait enrichi la science du moindre fait nouveau. En vingt ans, seulement l'analyse de l'huile de caoutchouc... Comme professeur de chimie, comme chercheur, son oeuvre est complètement paralysée par une masse de travaux désorganisés...* ». Sans doute en réponse à une vague d'ostracisme qu'avait imposé Mitscherlich : « *Pensez donc : il a obtenu du ministère* (de Prusse) *que pas un Prussien pas un pharmacien, pas un de ceux qui voudrait étudier la chimie, ne puisse le faire à Giessen* », *Lettre* de Liebig à Berzélius, 7 mars **1838**.
[30] *Lettre* de Mulder à Berzélius, Utrecht, 5 juin **1842**.
[31] Le mystère non résolu de la fermentation alcoolique, texte non signé qui fait suite à quelques extraits donnés du mémoire de Turpin, *Annalen*, **1839**, *29*, p. 100.
[32] Liebig J., *Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur und Physiologie*, *Vorrede*, **1862** ; Cf. Liebig J., La *Chimie organique appliquée à la Physiologie végétale et à l'Agriculture*, réédition, présentation et notes par M. Blondel-Mégrelis, à paraître.
[33] A son retour, il écrit à Berzélius : « *L'Angleterre n'est pas le pays de la science* ».
[34] Cf. les *Lettres* de Liebig à Dumas, Giessen, nov. **1837**.
[35] Ce mémoire (*Annalen*, **1839**, *30*, p. 147-95, traduit par Gerhardt pour les *Ann. Chimie*, *71*, p. 147-95) veut établir que, dans les métamorphoses organiques, qui sont chimiques, il se produit un nouvel arrangement des éléments qui n'obéit pas aux affinités ordinaires. Il constitue la substance de l'*Introduction* au *Traité de Chimie organique*, qui deviendra, moyennant quelques retouches, la *Chimie organique appliquée à la Physiologie végétale et à l'Agriculture*. Cf. M. Blondel-Mégrelis, *La publication en France de la Chimie organique appliquée à la Physiologie végétale et à l'Agriculture*, conférence faite à Giessen le 16 mai **2003**.
[36] *Lettre* de Liebig à Dumas, 10 mars **1838**. A peine plus tôt, Berzélius lui écrivait : « *Votre réconciliation avec Dumas m'a causé beaucoup de joie car les maîtres de la science doivent être amis... je vous déconseille cependant un travail en commun, car il anéantirait la nouvelle paix* », Stockholm, 19 déc. **1837**.
[37] Cf. la correspondance échangée avec Berzélius ainsi qu'avec Wöhler pendant l'année **1839**.
[38] *Lettre* de Liebig à Vieweg, 17 mars **1840**.
[39] Cf. la correspondance échangée entre Liebig et Gerhardt en **1840**.
[40] Nous devons à l'activité débordante de bibliophilie de notre ami Jacques Bourdais d'avoir découvert l'existence de l'*Introduction*, en livret séparé : « *Ce fascicule devra être joint au tome premier et placé après la préface* ». Et il est vrai que l'on trouve des exemplaires du *Traité de Chimie organique* (préfacé du 10 avril 1840) pourvus de cette *Introduction*, d'autres non. Notons que le Comte de Gasparin qui, dans son *Cours d'agriculture* de 1843, fait grand cas de la doctrine agricole de Liebig, la cite en se référant à l'*Introduction*.
[41] « *Le travail de Dumas sur le poids atomique du carbone est arrogant, et directement dirigé contre la personne de Berzélius. Pourquoi évite-t-il aussi délibérément de nommer son compatriote Dulong ?* » *Lettre* de Liebig à Wöhler, 17 avr. **1841**.
[42] C'est sans doute pour des impératifs de date et des exigences éditoriales, qu'il publie d'abord la physiologie végétale, qu'il désigne, dans sa correspondance, par « *ma physiologie* », couramment appelée *Chimie agricole*, mais qu'il n'appellera *Agrikulturchemie* qu'après 1842, lorsque paraît la *Chimie appliquée à la Physiologie animale et à la Pathologie*.
[43] *Lettre* de Liebig à Berzélius, 17 avr. **1841**.
[44] Grandeau L., *Études agronomiques*, **1887**, p. 5.
[45] Liebig J., ueber Laurent's Theorie der organischen Verbindungen, *Annalen*, **1838**, *25*, p. 31. Les dernières lignes promettent un prochain article sur les acides organiques de Mitscherlich, qui ne perd rien à attendre.
[46] *Lettres* de Liebig à Vieweg, nov.-déc. **1832**.
[47] C'est ainsi que le long article *Humus* est signé Prof. Dr. Schnerdermann in Chemniz (*III*, p. 917), cependant que *Gährung* (*III*, p. 217) est signé J.L.
[48] Cf. Felschow E.M., Heuser E., *Universität und Ministerium im Vormärz*, J.L. Briefwechsel mit Justus von Linde, **1992**.
[49] C'est ainsi qu'en 1844, sur l'invitation de la ville de Glasgow, il tient une conférence au cours d'un repas où sont invitées 300 personnes, et où il obtient un succès colossal.
[50] Cf. Paoloni C., *Justus von Liebig. Eine Bibliographie sämtlicher Veröffentlichungen*, **1968**.
[51] Cf. Blondel-Mégrelis M., Robin P., Physiologie végétale et agriculture. Liebig, une fondation à questionner, *Bibliothèque d'Histoire rurale*, **2002**, *6*, p. 275.

Marika Blondel-Mégrelis
Ingénieur chimiste, docteur ingénieur en sciences physiques et docteur en philosophie, elle est chargée de recherche au CNRS et travaille à l'Institut d'Histoire et Philosophie des Sciences et des Techniques*. Elle est présidente du club Histoire de la chimie.

* 13 rue du Four, 75006 Paris.
E-mail : marika.blondel-megrelis@libertysurf.fr

La genèse d'une découverte

Une lettre inédite de Pasteur à Chevreul (1874)

Josette Fournier

Le 12 juillet 1874, sur le rapport de Paul Bert, l'Assemblée nationale attribuait une récompense à Louis Pasteur (1822-1895) pour ses travaux scientifiques. Après Daguerre (1839), pour les perfectionnements qu'il avait apportés à la photographie, et Vicat (1845), inventeur du ciment moderne, c'est la 3e fois qu'un scientifique est ainsi honoré d'une reconnaissance nationale. « *Il y va de l'honneur et de l'intérêt des nations que la vie des grands hommes soit non seulement admirée mais enviée. [...] Les découvertes de M. Pasteur, après avoir éclairé d'un jour nouveau l'obscure question des fermentations et du mode d'apparition des êtres microscopiques, ont révolutionné certaines branches de l'industrie, de l'agriculture, de la pathologie* » [1a]. Paul Bert a demandé une rente viagère de 12 000 F, soit « *à peu près les émoluments de la chaire de Sorbonne que la maladie a conduit Pasteur à abandonner* ». La proposition est retenue par 532 voix contre 24.

Pasteur était membre titulaire de la Société centrale d'agriculture (aujourd'hui Académie d'Agriculture de France), élu le 26 juin 1872 dans la section des cultures spéciales, en remplacement de Péligot passé de cette section à celle des sciences physico-chimiques, avec 16 voix sur 25 exprimées [2].

Michel-Eugène Chevreul (1786-1889) était membre de la Société depuis le 22 août 1832. A partir de 1849, il en fut président ou vice-président un an sur deux, cette alternance étant imposée par le règlement de la Société [3]. En 1874, il en est le président. Dans la séance du 29 juillet, « *M. le Président demande qu'il soit fait mention au procès-verbal de la vive satisfaction éprouvée par la Société pour la haute récompense votée par l'Assemblée nationale en faveur de M. Pasteur* ». Ces paroles reçoivent l'approbation unanime de la Société [4].

Voici la lettre, demeurée dans les papiers personnels de Chevreul, par laquelle Pasteur, ému, le remercie.

« *Paris le 1er août 1874*

Monsieur le Président et illustre maître,

Je lis dans un journal que dans la séance de la Socté Centle d'agriculture de mercredi dernier, à laquelle j'ai eu le regret de ne pouvoir assister, vous avez demandé qu'au procès-verbal de la séance soit mentionné le vote de l'assemblée nationale et la satisfaction qu'en éprouve la Société. Permettez-moi, monsieur le Président et illustre maître, de vous exprimer sans retard la vive gratitude que m'inspire votre bienveillante allocution. Elle me rappelle, non sans émotion, qu'à toutes les époques de ma carrière j'ai eu le bonheur d'être aidé par votre appui le plus direct et par les conseils vénérés de votre longue expérience et de votre immense savoir. C'est à vous en grande partie que je dois ma première découverte : en mettant en regard votre définition de l'espèce avec la note que M. Mitscherlich publie dans les comptes rendus en 1844 sur le paratartrate et le tartrate doubles de soude et d'ammoniaque je conclus sans hésiter que le célèbre chimiste allemand avait dû mal voir sur un point et c'est de là qu'est né mon premier travail sur l'hémiédrie du paratartrate précité. C'est un grand bonheur pour moi de me retrouver si longtemps après et pour la circonstance présente l'objet de votre estime et de votre affection.

Veuillez agréer, monsieur et illustre maître, la nouvelle expression de mon dévouement le plus respectueux et le plus reconnaissant.

L. Pasteur »

Voilà qui infirme le jugement que lui prête le biographe précité [1b] : « *Si les molécules ont vraiment une composition atomique identique mais des propriétés différentes, c'est la notion même d'espèce chimique, telle qu'elle a été établie par Chevreul, qu'il faut revoir* ».

Chevreul fut avec Biot, Dumas, Regnault et de Sénarmont, l'un des commissaires chargés d'examiner le mémoire de Pasteur [5], présenté à l'Académie des sciences le 25 juillet 1853, intitulé « *Transformation des acides tartriques en acide racémique. Découverte de l'acide tartrique inactif. Nouvelle méthode de séparation de l'acide racémique en acides tartriques droit et gauche* ». Dans ce mémoire, Pasteur sépare les tartrates sous forme de sels diastéréoisomères de quinicine ou de cinchonine par cristallisation fractionnée, et généralise sa méthode, toujours utilisée, en chromatographie sur phase chirale par exemple : « *Je suis récemment arrivé à un procédé, non plus manuel et mécanique de dédoublement de l'acide racémique, mais à un procédé chimique qui repose sur des principes tout à fait généraux. J'ai montré que l'identité absolue de propriétés physiques et chimiques des corps droits et gauches non superposables cessait d'exister quand on plaçait ces produits en présence de corps actifs. Ainsi les tartrates droits et gauches d'un même alcali organique actif sont entièrement distincts par leurs formes cristallines, leur solubilité, etc.* ».

Enfin, Chevreul fut, en 1861, le rapporteur à l'Académie des sciences pour le prix Jecker attribué à Pasteur.

Références

[1] a) Debré P., *Louis Pasteur*, Grandes biographies, Flammarion, Paris, **1994**, p. 311 et 563 ; b) p. 65 et 563.

[2] *Bulletin des séances de la Société impériale et centrale d'agriculture*, *3e* série, **1871-1872**, *t. 7*, p. 627.

[3] Fournier J., Michel-Eugène Chevreul (1786-1889) à la Société nationale d'agriculture, *L'Act. Chim.*, **2000**, *11*, p. 38.

[4] *Bulletin des séances de la Société impériale et centrale d'agriculture*, *3e série*, **1873-1874**, *t. 9*, p. 701.

[5] Pasteur L., *C.R. hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*, **1853**, *37*, p. 162.

Josette Fournier*
est membre du club Histoire de la chimie et du comité de rédaction de *L'Actualité Chimique*.

* 21, parc Germalain, 49080 Bouchemaine.

Quand
la Technologie
rencontre
la matière

PARIS
Parc des expositions
Paris-Nord-Villepinte
8.9.10.11 Mars
2004

INTERCHIMIE

PROCHEM

salon international

de la Chimie de Spécialités
& des Industries
Pharmaceutiques
& Cosmétiques

The International Exhibition of
Fine Chemistry &
Pharmaceutical &
Cosmetics Industries

When
technology
meets
with material

ORGANISATION : IDEXPO 58 Bd P.V. Couturier - 94246 L'Haÿ-les-Roses Cedex France - Tél.: 33(0)1 46 65 18 34 - Fax : 33(0)1 46 63 26 00 - E-mail : info@idexpo.com - Internet : www.idexpo.com

Nom/
Name _____

Société/
Company _____

Adresse/
Address _____

Ville/
Town _____ Code postal/
Postal code _____

Pays/
Country _____ Tel. _____

Fax _____ E-mail _____

Fonction/
Job title _____

Activité/
Activity _____

☐ Souhaite recevoir des informations pour exposer au salon./
Please send me information to reserve exhibit space at.

☐ Souhaite recevoir _____ carte(s) d'invitation au salon./
Please send me _____ free exhibition admission ticket(s) to visit.

Salon International de la Chimie de Spécialités
& des Industries Pharmaceutiques & Cosmétiques.
8.9.10.11 MARS 2004 PARIS Nord-Villepinte

The International Exhibition of Fine Chemistry
& Pharmaceutical & Cosmetics Industries
8.9.10.11 MARCH 2004 PARIS Nord-Villepinte

INTERCHIMIE
PROCHEM 2004

19 novembre 2003

L'enseignement de la formulation

Toulouse

Groupe Formulation

(*L'Act. Chim.*, mars 2003, p. 63)

- daniele.clausse@utc.fr
  bernard.waegell@wanadoo.fr

20-21 novembre 2003

9e Salon national des ingénieurs

Paris la Défense

- http://www.salon-ingenieurs.com

28 novembre 2003

13e Journée Grand Sud Ouest

Pau

- jean-marc.sotiro@univ-pau.fr
  http://www.univ-pau.fr/umr5624/page_html/actualite_-_gso/index.html

2-5 décembre 2003

Pollutec 2003

Paris-Nord Villepinte

Deux thèmes seront particulièrement mis à l'honneur cette année : les énergies renouvelables et la réhabilitation des sites et sols pollués.

- http://www.pollutec.com

3-4 décembre 2003

Chimiométrie 2003

Paris

Groupe Chimiométrie

(*L'Act. Chim.*, juin 2003, p. 62)

- jgrolere@wanadoo.fr
  http://www.chimiometrie.org

10-13 décembre 2003

Interchimie Maroc

Salon des technologies pour les industries chimique, pétrochimique, pharmaceutique, cosmétique

Casablanca (Maroc)

- asso-ic@worldnet.fr
  http://www.interchimie.com

10-13 décembre 2003

EMEC4

4th European meeting on environmental chemistry

Plymouth (Royaume-Uni)

- http://www.emec4.org.uk

8-9 janvier 2004

Journées de la division Chimie de coordination

Rennes

(*L'Act. Chim.*, août-sept. 2003, p. 64)

- http://sfc-coord04.univ-rennes1.fr

7-11 mars 2004

ICEF 9

International congress on engineering and food

Montpellier

- icef9.organis@scifrance.org
  http://www.scifrance.org/congres/icef9

8-11 mars 2004

Interchimie Prochem 2004

Salon international de la chimie de spécialités et des industries pharmaceutiques et cosmétiques

Paris Nord Villepinte

- info@idexpo.com
  http://www.idexpo.com

23-26 mars 2004

Forum Labo and Forum BioTech 2004

Paris La Défense

- congres@mci-salons.fr
  http://www.forumlabo.com

28 mars-1er avril 2004

227th ACS National Meeting

Anaheim (CA, États-Unis)

- natlmtgs@acs.org
  http://www.chemistry.org/meetings

4-6 mai 2004

4e Colloque Science et technologie des poudres

Compiègne

(*L'Act. Chim.*, juin 2003, p. 62)

- pierre.guigon@utc.fr
  www.utc.fr/stpoudres4

16-19 mai 2004

Catalysis in green chemistry

18th Canadian symposium on catalysis

Montreal (Canada)

Date limite de soumission : 30 novembre 2003

- http://www.polymtl.ca/18csc2004/

14-17-juin 2004

3rd International congress on pigments in food

Quimper

Date limite de soumission : 15 décembre 2003

- pf2004@tech-quimper.fr
  http://www.iaa-cornouaille.net/pf2004

20-24 juin 2004

Nano 2004

7th International conference on nanostructured materials

Wiesbaden (Allemagne)

Date limite de soumission : 1er décembre 2003

- nano@nano2004.org
  http://www.nano2004.org

21-23 juin 2004

Chemrawn XV

International conference Chemistry for water

Paris

Date limite de soumission : 15 décembre 2003

- ChemrawnXV@m2c.fr
  http://www.sfc.fr/Actualiteok.htm

7-9 juillet 2004

IsotopCat 2004

Isotopes in catalytic studies
Pre-congress of the 13th International congress on catalysis

Poitiers

Date limite de soumission : 1er décembre 2003

- isotopcat@univ-poitiers.fr
  http://labo.univ-poitiers.fr/umr6503/isotopcat

11-16 juillet 2004

13th International congress on catalysis

« Catalysis and 21st Century challenges – Basic science and the needs of society »

Paris

Division Catalyse

(*L'Act. Chim.*, mai-juin 2002, p. 127)

Date limite de soumission : 5 novembre 2003

- 13ICC@colloquium.fr
  http://www.13ICC.jussieu.fr

Vous trouverez **d'autres manifestations** sur le site de la SFC : **http://www.sfc.fr**, rubrique **Manifestations**.

Photo : Laboratoire de catalyse de Lille.

Jean-Eugène Germain (1922-2002)

Par quels chemins, le fils d'un petit viticulteur de Boujan sur Libron, près de Béziers, naturellement destiné à exploiter les deux hectares de la propriété familiale, devient-il à 32 ans professeur titulaire de la Chaire de chimie générale et organique de la Faculté des sciences de Lille ?

Sa première expérience technologique est un concours de meccano. Il est lauréat, mais, examinant les chefs d'œuvre exposés, il estime que sa réalisation, par ses mécanismes, est bien supérieure à celles de concurrents mieux récompensés. Il comprend qu'il a été desservi par la piètre apparence de pièces trop usagées et, dans ses mémoires, conclut ce récit presque sereinement : « *Dans notre monde, il vaut mieux paraître qu'être, et cette vérité me semble toujours immorale* ».

Très tôt, l'instituteur du village remarque son intelligence précoce et réussit à convaincre ses parents de lui faire poursuivre des études. Au lycée de Béziers, bien que considéré comme plutôt littéraire, il révèle une passion pour les sciences expérimentales et en particulier pour la chimie. Dans le grenier de la maison familiale de Boujan, il monte un véritable laboratoire qu'il appelle le LDB (Laboratoire de Boujan), équipé de matériel récupéré ici ou là et dès 1937 (il avait 15 ans), d'un assortiment de matériel de chimie acheté par correspondance. Ses « manips » préférées étaient bruyantes ou nauséabondes ! Ce LDB, il l'a maintenu et enrichi, et a continué d'y jouer pendant ses vacances jusqu'à ses derniers jours.

En classes préparatoires, il décide de se présenter uniquement au concours d'entrée à l'École Normale Supérieure où il est reçu en 1943. Agrégation passée, en 1947, il y est nommé agrégé préparateur. Mais, après un premier vrai contact avec la recherche sous la direction du professeur Dupont, alors directeur de l'École et du laboratoire de chimie de la rue Lhomond, il décide de changer d'orientation et va préparer une thèse aux États-Unis avec V. Ipatieff à Northwestern University. Cette rencontre l'a profondément marqué. Il en a toujours gardé une grande vénération pour ce maître qu'il citait souvent. Et il a conservé des liens étroits avec un certain nombre de ses collègues américains, liens qui ne se sont jamais distendus.

Chez Ipatieff, J.-E. Germain apprend les méthodes d'étude de la catalyse hétérogène qui sont encore quelque peu empiriques, comme elles l'étaient du temps de cet autre précurseur, Paul Sabatier, à qui ses travaux en catalyse hétérogène ont valu le prix Nobel. Mais on sait néanmoins l'importance qu'avait depuis longtemps la catalyse hétérogène dans la grande industrie chimique et le raffinage du pétrole. A son retour, il monte un (éphémère) laboratoire de catalyse rue Lhomond. Se démarquant de l'école de pensée alors dominante en France, il choisit d'étudier les réactions catalytiques sur des molécules un peu plus complexes, souvent préparées spécialement, dans le but d'élucider un mécanisme de réaction : c'est la « catalyse en chimie organique ».

Mais il ne s'en tient pas là. Dans le laboratoire de physique voisin, il fréquente Claude Dugas et Pierre Aigrain et tentera avec eux de rationaliser les phénomènes catalytiques par la physique du solide, une autre voie de recherche qui s'avèrera plus difficile et plus longue.

Nommé en 1952 chargé de cours à la Faculté des sciences de Lille, il est titularisé deux ans plus tard dans la Chaire de chimie générale et organique. Il ouvre un laboratoire de catalyse qui s'étoffe très vite avec le soutien des industriels, notamment des Houillères du Bassin du Nord et du Pas-de-Calais (HBNPC). Les anciens se souviennent avec émotion et nostalgie de ces années d'intense activité : journées de travail d'au moins 12 heures, discussions et bilans à l'heure du thé quotidien et des séminaires (obligatoires) du samedi après-midi. Le Centre de carbochimie, créé à son initiative avec les HBNPC grâce aux conférenciers de premier plan qui y étaient invités, donnait à la communauté scientifique régionale une très appréciable animation.

En 1962, pressé par les Houillères, J.-E. Germain accepte la charge de directeur de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Lille, son prédécesseur étant appelé à la direction de l'INSA de Lyon. Il y procède à un rééquilibrage équitable des enseignements. Il ne s'agit pas de remplacer une chimie par une autre, l'inorganique par l'organique, ou la métallurgie par le génie chimique, mais de donner aux futurs ingénieurs le bagage très étendu dont ils auront besoin tout au long de leur vie professionnelle. Sa direction obéit avant tout à une éthique que, bien plus tard, un de ses collaborateurs, Jean-Pierre Joly, résume ainsi : « *Sauf en cas de force majeure, les promesses doivent être tenues. Tout retard dans le travail est paresse, toute compromission est honteuse reculade, tout faux-semblant est mensonge affligeant. En corollaire, tout travail honnête appelle reconnaissance et salaire* ».

En 1966, il quitte Lille pour Lyon où on l'appelle à diriger l'École Supérieure de Chimie Industrielle. Fidèle à ses convictions, il y mène tambour battant une réforme des études inspirée de son expérience lilloise. Cela dérange ! Mais même les événements de mai 68 n'en changent pas vraiment le cours, bien qu'ils aient fortement perturbé la vie de l'ESCIL. J.-E. Germain reste égal à lui-même : il fait ce qu'il doit faire, là où il doit le faire.

Chacun s'attendait alors à ce qu'il succède à Marcel Prettre à la tête de l'Institut de Recherches sur la Catalyse. Il s'y est refusé, fort sagement, laissant cette difficile tâche à de plus téméraires. D'ailleurs, en quittant le gros laboratoire de Lille, il avait décidé de limiter désormais son équipe à une douzaine de collaborateurs, de façon à consacrer plus de temps à la recherche qu'aux tâches administratives. Mais en acceptant la présidence du Comité de direction de l'IRC, ainsi que celle d'un provisoire Comité des programmes, il a exercé une influence décisive sur l'évolution de l'organisation et des programmes de cet institut.

A Lille comme à Lyon, J.-E. Germain fut un enseignant unanimement apprécié. Il avait ce talent particulier de prendre son auditoire exactement au niveau où il se trouvait avant de le conduire bien plus haut. Même lorsque, dans quelque congrès, il s'adressait à des spécialistes censés tout savoir de l'état de la question, il n'hésitait pas, dans le premier quart d'heure, à rappeler des notions élémentaires. On parle de clarté ; plus encore, c'était une connaissance des hommes et un jugement sûr qui lui permettaient de se situer exactement au bon niveau. Son autorité était incontestée par ses collègues comme par les industriels auprès desquels il a exercé de nombreuses activités de conseil. Dans toute réunion, en congrès, ou en jury de thèse, ses critiques toujours pertinentes étaient redoutées, mais aussi sollicitées. S'exprimant parfois sans ménagement, il savait aussi, quand il le fallait, arrondir les angles. Il pouvait dire : « *Il est renversant de vous voir interpréter vos résultats par des réactions interdites par la thermodynamique* », mais aussi : « *Je regrette, mais jusqu'à présent, ceux qui sont allés contre la thermodynamique ont eu tort* ».

Par son travail acharné, son esprit critique, sa rigueur intellectuelle et morale, il aura exercé une profonde influence sur l'enseignement, la recherche, la formation des ingénieurs et des chercheurs, le conseil scientifique à l'industrie. Son héritage se retrouve dans une bonne moitié du réseau des laboratoires de catalyse en France : à Lille, Poitiers, Caen, Strasbourg et Lyon. Mais la quête de la vérité lui importait davantage que la fortune et les honneurs. Il a été pleinement reconnu par ceux qui partageaient ses valeurs, alors que d'autres, qu'il n'a pas ménagés, ne lui ont pas pardonné.

Jean-Pierre Beaufils
et **Raymond Maurel**

A propos de la Lettre ouverte au Président de la République

J'ai lu avec attention la Lettre ouverte des Sociétés Savantes Scientifiques Françaises au Président de la République parue dans *L'Actualité Chimique* de juillet 2003. J'ai apprécié le ton mesuré mais ferme de ce texte et j'ai été touché par cet appel solennel à maintenir la qualité de la science française. Les premiers paragraphes de ce texte sont une excellente introduction aux problèmes qui se posent à la recherche d'une façon générale et en France en particulier. Mais je pense que **l'aspect financier** souligné dans le message **est loin d'être la principale difficulté rencontrée aujourd'hui dans notre pays** pour poursuivre son développement scientifique et technique au meilleur niveau, tenir son rang à l'échelle internationale et attirer un jeune public talentueux.

A la sortie de la deuxième Guerre mondiale, la recherche en France dans certaines disciplines, dont la chimie, était dans un état déplorable. Coupée du monde extérieur, elle était en marge de la science moderne de l'époque. Le retard dans l'enseignement supérieur était également prodigieux.

L'apport du CNRS au sein des universités a été le levain d'un développement fantastique de la recherche étendant ses bienfaits sur l'ensemble du territoire. En relativement peu de temps, grâce aux EPST, aidé par la DGRST et plus tard par la Direction de la Recherche auprès des universités, favorisé par les bourses postdoctorales OTAN, un véritable renouveau de la science française a vu le jour. Mais en même temps se créait un problème spécifiquement français : les universitaires avaient une double allégeance, l'enseignement supérieur et l'EPST dont il dépendait, s'ils avaient la chance d'être Équipe ou Laboratoire associé.

Le système des commissions au sein du Comité National de la Recherche, mis en place au CNRS, a bien fonctionné lorsqu'il s'est agi de remettre la recherche française sur les rails. Aujourd'hui ces commissions, dont je ne mets en doute ni les compétences de ses membres ni le sérieux du travail accompli, sont partagées entre leurs activités scientifiques, très compartimentées, voire cloisonnées, et la gestion des chercheurs qui fait intervenir des aspects corporatifs sans relation avec la qualité scientifique. Cette structure, même améliorée par des retouches successives, ne me semble plus à même de dynamiser la recherche telle qu'elle se dessine en ce début du XXIe siècle. Le système n'a pas la souplesse qui permettrait de s'adapter aux exigences de la recherche moderne qui, dans des domaines de plus en plus nombreux, nécessitent de constituer des équipes pluridisciplinaires comportant des chercheurs de formations variées qui dépendent, dans l'actuelle configuration, de plusieurs commissions. Cet aspect m'est apparu clairement à mon retour à Bordeaux après mon séjour parisien à la Direction de la Recherche pendant lequel j'ai vaillamment défendu le CNRS. Créant une nouvelle entité de recherche très pluridisciplinaire (elle comporte aujourd'hui un médecin, une pharmacienne, un biologiste, un électronicien, des physiciens et un chimiste), je me suis rendu compte, à travers cette expérience, que la pluridisciplinarité est mal vécue au CNRS malgré la bonne volonté de tous et tout particulièrement des directeurs de départements et des directeurs généraux du CNRS qui se sont succédé depuis plus de vingt ans à la tête de ce grand organisme de recherche.

Les hasards de la vie font que je suis « alumni » d'un « College » aux États-Unis qui est parmi les mieux cotés dans sa catégorie de l'enseignement supérieur américain. Or récemment, j'ai été invité à participer à des journées d'études sur la redéfinition des enseignements scientifiques et des recherches de cet établissement à un moment où les étudiants américains boudent les sciences telles qu'on les a définies jusqu'alors : mathématiques, physique, chimie, biologie, chacune bien distincte et hébergée dans un bâtiment qui lui était propre. Il est ressorti des nombreux débats sur les perspectives d'évolution de l'enseignement et des recherches que l'ensemble des disciplines scientifiques seraient rassemblées dans une structure modulaire nouvelle et interactive permettant aux étudiants et aux enseignants de chaque discipline de base d'être au contact de toutes les autres disciplines pour faciliter les échanges et aborder les problèmes scientifiques dans leur globalité, tels qu'ils se présentent dans la vie réelle. Ce projet remet à plat le système ancien et nécessite un effort colossal, non seulement dans les mentalités du corps enseignant, mais aussi en matière de bâtiments à construire pour mettre en œuvre le projet. Il est soutenu par le Collège et les « alumni ». L'enjeu est tel, que l'effort financier a paru second à la redéfinition des structures et des objectifs.

Sans vouloir faire de parallèle avec la situation française, il me semble cependant qu'une réflexion sur le devenir de la science dans notre pays relève en premier lieu d'une redéfinition des structures qui la gèrent au vu des objectifs à atteindre. Le système actuel, à mon avis, n'est plus à même de dynamiser la recherche de ce début du XXIe siècle. Que les conclusions entraînent un effort financier important, c'est probable ; mais ne commençons pas, comme c'est souvent le cas chez nous, par réclamer de l'argent à l'État et pleurer sur des budgets insuffisants. **Que proposons-nous pour mieux faire ? Et après, parlons budget**.

Jacques Joussot-Dubien
Membre correspondant
de l'Académie des sciences
Professeur émérite,
université Bordeaux 1

Le mois prochain : numéro spécial
La chimie dans les sciences médicales

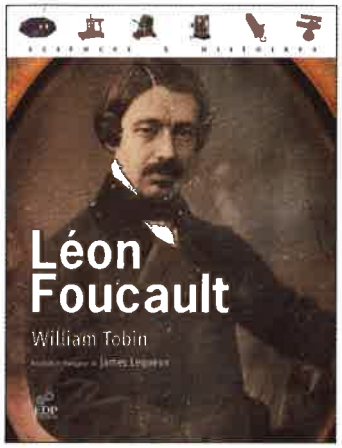
EDP SCIENCES

Sciences & Histoires

Léon Foucault

William Tobin

Adaptation française de James Lequeux



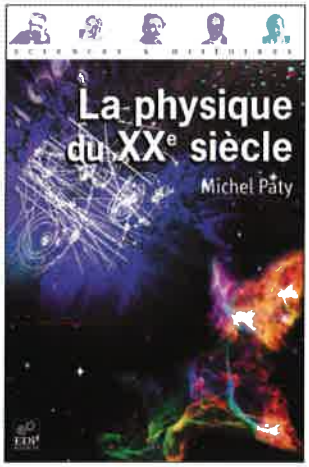
- *ISBN 2-86883-615-1*
- *19 × 28 cm*
- *368 pages*
- ***29 €***

Bricoleur génial, célèbre pour son pendule qui a permis de « voir la Terre tourner » en 1851, Léon Foucault fut aussi un pionnier de la photographie. Il réalisa la première mesure précise de la vitesse de la lumière, inventa le gyroscope et conçut le télescope moderne. Il fut également l'un des premiers journalistes scientifiques. Cet ouvrage retrace le parcours exceptionnel de ce physicien touche-à-tout, dans un monde du XIXe siècle en plein développement industriel et remarquablement ouvert aux sciences.

***William Tobin** est professeur de physique et d'astronomie à l'Université de Canterbury, en Nouvelle-Zélande.*
***James Lequeux** est astronome à l'Observatoire de Paris.*

La physique du XXe siècle

Michel Paty



- *ISBN 2-86883-518-X*
- *17 × 25 cm*
- *328 pages*
- ***34 €***

Le XXe siècle a été riche en événements pour les sciences physiques. La découverte de la structure de l'atome et la mécanique quantique ont permis une meilleure compréhension de la matière et, partant, l'essor de l'électronique. Cet ouvrage détaille ces progrès de la connaissance en sciences physiques, en mettant en évidence les rapports interdisciplinaires qu'ils impliquent, leurs racines historiques, les nouveautés conceptuelles et les interrogations philosophiques qu'ils suscitent. Ce regard en arrière permettra-t-il d'imaginer ce que sera la physique du XXIe siècle ?

***Michel Paty**, docteur ès sciences physiques, docteur en philosophie et historien des sciences, anime l'équipe « Recherches Épistémologiques et Historiques sur les Sciences Exactes et les Institutions Scientifiques » à l'Université Paris 7.*

EN VENTE EN LIBRAIRIE

Forum LABO & Forum BIOTECH 2004

Innovations en

- Recherche
- Développement
- Analyse
- Contrôle

La vitrine de l'innovation technologique du laboratoire et des biotechnologies :

- 18 000 m² bruts d'exposition
  300 stands
- 900 sociétés exposantes
  inscrites et représentées
- 13 000 visiteurs professionnels
- Les Journées Scientifiques :
  - 2 conférences plénières
  - 150 communications
  - une exposition posters
  - 1500 participants attendus

www.forumlabo.com

La manifestation du CIFL
Comité Interprofessionnel des Fournisseurs du Laboratoire

ORGANISATION MCI

Manifestations & Communications Internationales
19, rue d'Athènes - 75009 PARIS - France
TÉL. : (33) 01.44.53.72.20 - FAX : (33) 01.44.53.72.22
e-mail : salons@mci-salons.fr

23 au 26 mars 2004 • CNIT • Paris-la Défense