

# Mobilité moléculaire et RMN

Daniel Canet et Pascal Palmas

- Résumé** La RMN s'avère une technique particulièrement puissante pour appréhender les mouvements moléculaires. La relaxation de spin dépend essentiellement des mouvements de rotation (d'ensemble ou internes) alors que les mouvements de translation sont révélés par les coefficients d'autodiffusion. Dans cet article, les deux approches seront décrites tant d'un point de vue expérimental (à l'aide des instruments élaborés dont on dispose aujourd'hui) que de leur exploitation en vue de caractériser des systèmes complexes. On verra notamment comment on peut accéder à la taille des édifices moléculaires, aux diverses interactions moléculaires, aux interactions de molécules-sondes avec une surface, à des informations concernant l'état liquide... On tentera de préciser les domaines d'application de ces techniques ainsi que leurs limites et leurs perspectives.
- Mots-clés** **Relaxation RMN, réorientation moléculaire, autodiffusion, gradients de champ, interactions moléculaires.**
- Abstract** **Molecular mobility and NMR**  
NMR appears as a powerful technique in view of approaching molecular motions. Spin relaxation depends essentially on rotational motions (overall tumbling or internal motions) whereas translational motions are unravelled by self-diffusion coefficients. In this article, the two approaches will be described not only from an experimental point of view (with nowadays elaborated instruments) but also according to their ability at characterizing complex systems. In particular, it will be shown how one can access the size of molecular entities, the various interactions between molecules, the interaction between a spy-molecule and a surface, information about liquid state... Attempts will be made for delineating the application fields of these techniques, as well as their limitations and perspectives.
- Keywords** **NMR relaxation, molecular reorientation, self-diffusion, field gradients, molecular interactions.**

Dès la fin des années 40 ou le début des années 50, soit seulement cinq ans après la mise en évidence du phénomène de résonance magnétique nucléaire, on découvrait (en phase liquide) le déplacement chimique ainsi que les couplages J ou couplages indirects [1]. Il est frappant de constater que, à peu près à la même période, les bases théoriques de la relaxation de spin étaient jetées [2] et que l'on comprenait l'influence de la diffusion translationnelle (ou autodiffusion, ou encore diffusion moléculaire) sur les expériences d'écho de spin [3]. Alors que le déplacement chimique et les couplages J apportent des informations essentiellement structurales, les paramètres de relaxation et de diffusion dépendent surtout de la mobilité moléculaire. Les phénomènes dynamiques sont par nature très complexes et revêtent un caractère aléatoire et statistique. Les mouvements de réorientation, assimilables à des rotations, induisent des fluctuations du champ magnétique local qui peut exister au niveau des noyaux atomiques. Ces fluctuations sont pour l'essentiel responsables des processus de relaxation. Les mouvements de translation sont, quant à eux, à l'origine du phénomène d'autodiffusion.

Bien que pendant une assez longue période, les paramètres dynamiques n'aient pas soulevé tout l'intérêt qu'ils méritaient, ils sont devenus de nos jours un complément indispensable aux mesures spectroscopiques traditionnelles fondées principalement sur l'exploitation des déplacements chimiques et des couplages J. Les informations qu'ils apportent sont évidemment de première importance pour l'étude des molécules (ou macromolécules) d'intérêt biologique et de leur activité, mais également chaque fois que l'on a affaire à des interactions moléculaires [4-5], à des

systèmes complexes, à des liquides organisés [6] ou à des milieux poreux [7]. En outre, le mouvement moléculaire est un facteur essentiel qui conditionne de nombreuses propriétés physico-chimiques des matériaux. L'état physique et les performances mécaniques des polymères, la conduction thermique, les propriétés de transport de membranes... sont autant de domaines où l'aptitude des molécules à se mouvoir joue un rôle déterminant.

Cet article présente, en deux parties, un aperçu de la façon dont la mobilité moléculaire peut être sondée au moyen de mesures RMN de relaxation et de diffusion. Les principes fondamentaux de ces deux approches sont d'abord rappelés et leur intérêt est démontré au moyen d'exemples illustratifs.

## Relaxation de spin

Toute perturbation appliquée à un système physique se traduit par une réaction de ce dernier appelée « relaxation » qui tend à lui faire retrouver sa configuration d'équilibre. À l'équilibre, l'aimantation nucléaire est colinéaire au champ magnétique statique ( $B_0$ ) dont la direction est généralement notée Z. Après une perturbation, provoquée par exemple par une impulsion de champ radiofréquence (rf), le retour vers la configuration d'équilibre sera assuré par les phénomènes de relaxation de spin. Il faut d'emblée séparer deux types de relaxation :

- la relaxation longitudinale (ou spin-réseau), qui concerne la composante de l'aimantation selon Z et qui évolue exponentiellement selon une constante de temps notée  $T_1$  (on utilisera souvent la vitesse de relaxation  $R_1$  égale à l'inverse du temps de relaxation  $T_1$ ) ;

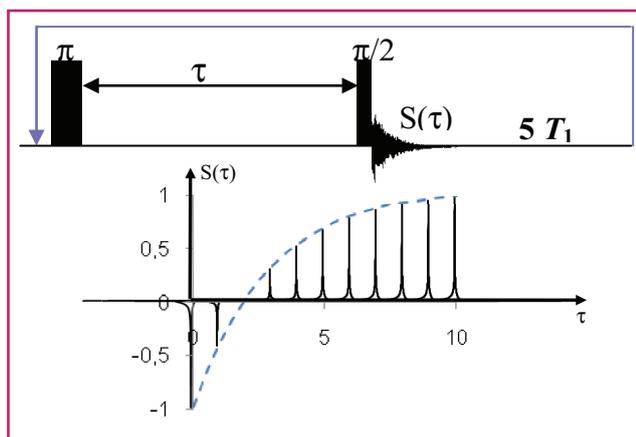


Figure 1 - Mesure de  $T_1$  par inversion-récupération.

L'aimantation nucléaire est d'abord inversée par l'impulsion radiofréquence  $\pi$ . Son évolution pendant le temps  $\tau$  est lue au moyen de l'impulsion  $\pi/2$ . La transformée de Fourier de  $S(\tau)$  fournit une (ou plusieurs raies) de résonance dont l'évolution permet d'accéder au temps de relaxation  $T_1$ .

- la relaxation transversale (ou spin-spin), qui se réfère à la disparition exponentielle (selon un temps de relaxation  $T_2$ ) des composantes de l'aimantation perpendiculaires à Z.

Différents mécanismes peuvent être à l'origine de la relaxation de spin, dont les plus courants sont : l'interaction dipolaire (entre les moments magnétiques de deux noyaux différents), l'interaction quadrupolaire (qui n'affecte que les noyaux de spin supérieur à  $1/2$ ), et l'anisotropie de déplacement chimique (on devrait plutôt parler du tenseur d'écran, qui est à l'origine du déplacement chimique).

$T_1$  est généralement mesuré par la séquence d'inversion-récupération [8] schématisée *figure 1* et qui peut être incorporée à des séquences plus compliquées, notamment à celles relevant de la spectroscopie multidimensionnelle.

La mesure de  $T_2$  fait appel à la séquence d'écho de spin [3] utilisée également à bien d'autres fins puisqu'elle permet de « refocaliser » l'aimantation transversale après que celle-ci ait évolué sous l'effet du déplacement chimique ou, tout simplement, de l'inhomogénéité du champ  $B_0$ . Cette séquence, schématisée *figure 2*, se retrouve dans de très nombreuses expériences, dont celles mises en œuvre pour les mesures de diffusion (voir ci-après).

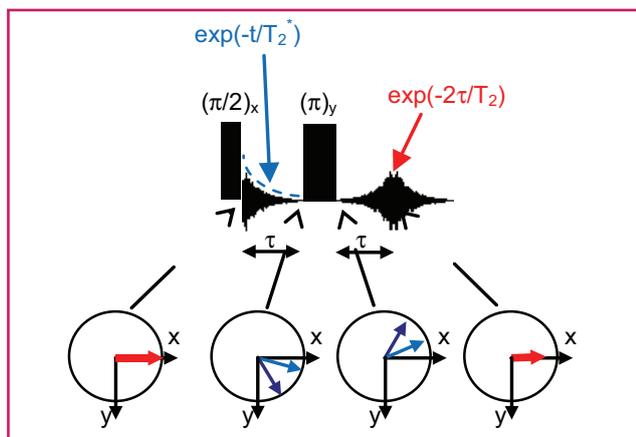


Figure 2 - Mesure de  $T_2$  par écho de spin.

L'aimantation transversale créée par la première impulsion  $\pi/2$  évolue pendant le temps  $\tau$  et décroît selon une constante de temps  $T_2$  qui intègre l'inhomogénéité de  $B_0$ . L'impulsion  $\pi$  permet de refocaliser l'aimantation sous forme d'un écho dont le sommet se situe à  $2\tau$ . C'est ici la transformée de Fourier du deuxième demi-écho qui permettra de suivre l'évolution des raies de résonance et d'en déduire le temps de relaxation  $T_2$ .

Par ailleurs, il existe un paramètre de relaxation très particulier, appelé vitesse de relaxation croisée, qui provient de ce que l'on nomme « effet Overhauser nucléaire » (NOE en anglais), d'après le phénomène de relaxation croisée électron-proton découvert par Overhauser [9]. Ce terme croisé couple les composantes longitudinales de l'aimantation nucléaire de deux noyaux différents et, ce qui en fait son intérêt, ne dépend que de l'interaction dipolaire entre ces deux noyaux. Ce paramètre recèle non seulement des informations dynamiques, mais fournit aussi une mesure quasi directe des distances interatomiques. Très prisé, il a donné naissance à une expérience bidimensionnelle (NOESY) qui fait partie de la batterie des expériences 2D classiques (COSY, NOESY, TOCSY, HSQC ou HMQC, HMBC...).

### Appréhension des mouvements moléculaires

Toute vitesse de relaxation peut s'exprimer sous la forme d'une combinaison linéaire de densités spectrales  $J(\omega)$  avec comme expression la plus simple :

$$J(\omega) = \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} \quad (1)$$

où  $\omega = 2\pi\nu$  est la pulsation (exprimée en  $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$ ),  $\nu$  représente une fréquence de résonance, et  $\tau_c$  est un temps de corrélation dont la signification physique est directement liée aux propriétés dynamiques du système [10]. Par exemple, s'agissant d'un mouvement de rotation,  $\tau_c$  est le temps nécessaire à une réorientation de 1 radian. Dans le cas d'une petite molécule dans un milieu peu visqueux,  $\tau_c$  est très petit (de l'ordre de la picoseconde) et, compte tenu des fréquences actuelles de mesure RMN,  $\omega^2 \tau_c^2$  est très inférieur à 1. Les densités spectrales sont donc indépendantes de la fréquence de mesure et on se trouve dans le régime du « rétrécissement extrême ».

Bien que de très nombreux travaux, faisant appel à la relaxation de spin et relevant de ce régime, aient permis de mieux comprendre l'état liquide et la réorientation de petites molécules [11], c'est lorsqu'on a affaire à des temps de corrélation suffisamment grands pour être en dehors du rétrécissement extrême que la relaxation de spin apporte un maximum d'informations. D'après l'équation (1), les vitesses de relaxation doivent diminuer lorsque la fréquence de mesure augmente, par exemple lorsqu'on passe d'un appareil à 200 MHz (i.e. dont la fréquence d'observation du proton est de 200 MHz) à un appareil à 400 MHz. Cela est vrai pour la relaxation dipolaire mais ne l'est plus pour la relaxation par anisotropie de déplacement chimique. Les vitesses de relaxation sont toujours proportionnelles au carré de l'interaction et, dans le cas de l'anisotropie de déplacement chimique, cela se traduit par une dépendance proportionnelle au carré de la fréquence de mesure qui peut l'emporter sur l'évolution habituelle des densités spectrales (voir équ. (1)).

Ce comportement est illustré par la *figure 3* qui a trait à des complexes calixarène-cations monovalents (césium et thallium) [12]. Grâce à la relaxation des protons et carbones-13 du calixarène, il a pu être montré indirectement que ces cations monovalents (invités) étaient réellement localisés au centre de la molécule hôte (le calixarène). Une preuve plus directe est apportée par la relaxation longitudinale des ions eux-mêmes. Dans le cas du césium, on constate une diminution de  $R_1$  lorsque le champ  $B_0$  augmente, ce qui signifie i) que l'on est en dehors du rétrécissement extrême, donc que le cation est bien complexé; et ii) que les interactions dipolaires avec les protons du calixarène

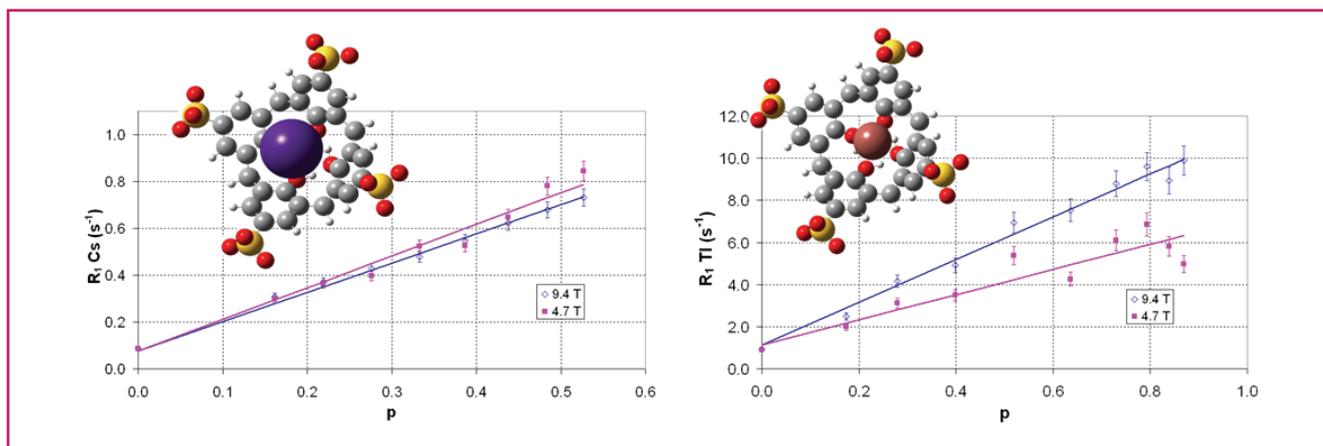


Figure 3 - Évolution des vitesses de relaxation longitudinale du césium (à gauche) et du thallium (à droite) à deux valeurs du champ  $B_0$  en fonction de la concentration en ion ( $p$ ) dans une solution aqueuse contenant un calixarène.

constituent le mécanisme de relaxation, donc que le cation est bien au centre de la molécule hôte.

Dans le cas du thallium, on constate le comportement inverse, ce qui traduit une importante contribution de l'anisotropie de déplacement chimique. Cette contribution étant très faible pour le thallium en solution aqueuse, ces résultats constituent une preuve supplémentaire de la complexation.

On peut également citer la « relaxométrie » [7] comme exemple actuel d'application de la relaxation de spin aux problèmes qui peuvent se poser au chimiste. Cette technique vise à mesurer l'évolution de la vitesse de relaxation longitudinale (généralement des protons, pour des raisons de sensibilité) dans une gamme de fréquence aussi large que possible et incluant les très basses fréquences (de quelques kHz à quelques dizaines de MHz). Eu égard à la sensibilité médiocre de la RMN, ces dernières ne peuvent être explorées qu'au moyen d'instruments spéciaux appelés « relaxomètres », qui fonctionnent généralement par la technique du champ cyclé comme indiqué figure 4.

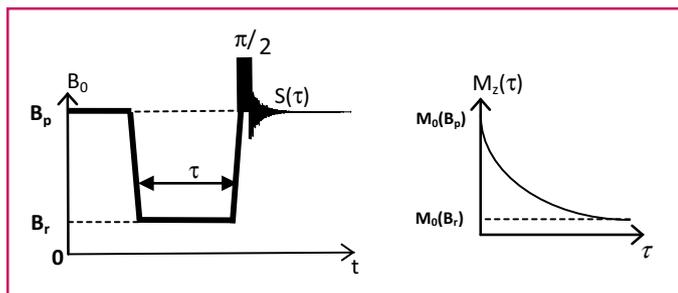


Figure 4 - Mesure de  $T_1$  par champ cyclé à une fréquence correspondant au champ magnétique statique (faible)  $B_r$ .

Les spins nucléaires sont tout d'abord polarisés dans un champ relativement élevé  $B_p$  qui est commuté aussi rapidement que possible vers le champ  $B_r$ . L'aimantation longitudinale évolue donc vers sa valeur d'équilibre dans  $B_r$  selon le temps de relaxation à la fréquence correspondant à  $B_r$ . Pour des raisons de sensibilité, la détection du signal RMN se fait à nouveau dans le champ  $B_p$ .

Le comportement du solvant dans un organogel (une fois celui-ci formé) constitue un bon exemple d'application des mesures de relaxation classique (carbone-13) et de diffusion (voir ci-après) couplées à des mesures de relaxométrie [13]. L'organogel considéré est formé à partir d'un aminoacide (la

phénylalanine) modifié par l'adjonction d'un groupement naphthalénique. Les mesures classiques montrent que la dynamique rotationnelle et translationnelle du toluène (le solvant) dans la phase organogel (le gélateur étant un aminoacide modifié) est identique à celle du liquide pur. Cependant, les courbes de dispersion ( $R_1$  du proton en fonction de la fréquence de mesure) montrent des différences considérables entre le liquide pur et la phase organogel (figure 5). La courbe de dispersion du toluène pur fait apparaître une forte dépendance en fréquence due à des interactions avec l'oxygène moléculaire (paramagnétique) de l'air dissous dans le liquide. Dans la phase gel, on retrouve à haute fréquence cette même courbe affectée d'un facteur inférieur à 1. Ce facteur représente la proportion du toluène à l'extérieur du gel qui doit se comporter comme le toluène pur. En revanche, aux très basses fréquences, on observe une forte décroissance de la courbe de dispersion. Cette décroissance est attribuée à des interactions intermoléculaires subies par le toluène emprisonné dans l'organogel. Il n'y joue cependant aucun rôle particulier puisque ses propriétés dynamiques ne sont pas modifiées (voir plus haut).

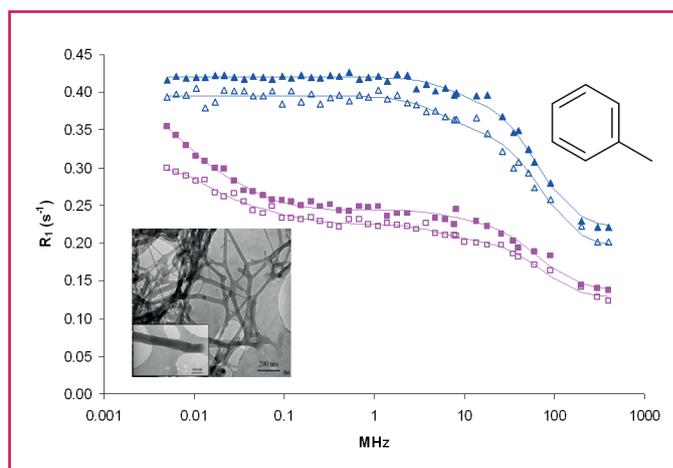


Figure 5 - Courbes de dispersion du toluène à deux températures : 20 °C (symboles pleins), 30 °C (symboles vides).

Toluène pur : courbes du haut ; toluène dans une phase organogel : courbes du bas. Encart : cliché obtenu par microscopie électronique montrant la structure fibreuse des organogels.

## Diffusion

L'autodiffusion caractérise l'aptitude des particules à se déplacer dans un fluide au repos sous le seul effet de l'agitation thermique. Elle résulte de ce que l'on appelle communément le mouvement brownien. Cette théorie permet de relier le coefficient de diffusion, noté  $D$ , au déplacement quadratique moyen pendant le temps  $t$  :

$$L_q = \langle L^2 \rangle = 6Dt$$

L'existence d'une variation spatiale du champ magnétique statique  $B_0$  peut rendre certaines expériences dépendantes des phénomènes de diffusion, si tant est que cette variation implique des distances de l'ordre de  $L_q$ . Par exemple, l'effet de la diffusion moléculaire est mis en évidence comme dans l'expérience d'écho de spin, où elle contribue, en plus de la relaxation transversale, à la décroissance du signal en fonction du temps (*figure 2*). Bien que cette expérience puisse être utilisée en principe pour évaluer le coefficient de diffusion, on cherche généralement à minimiser cette contribution (en réduisant les inhomogénéités de  $B_0$  au moyen de dispositifs appropriés), de façon à déterminer le plus précisément possible le temps de relaxation transversale  $T_2$ .

### Mesure du coefficient d'autodiffusion

La méthode couramment utilisée consiste à superposer au champ magnétique statique  $B_0$  (supposé homogène) un gradient de champ  $g$  qui correspond à une composante magnétique variant linéairement dans une direction donnée (par exemple  $Z$ ). Un codage de la dimension  $Z$  est ainsi réalisé du fait de la relation de proportionnalité entre fréquence de résonance et valeur du champ magnétique statique

$\nu_0 = \gamma(B_0 + gZ)/2\pi$ ,  $\gamma$  étant la constante gyromagnétique. Les gradients sont appliqués par impulsions brèves dont la durée  $\delta$  est de quelques millisecondes comme dans les expériences d'imagerie par résonance magnétique (IRM).

Quelle que soit la technique utilisée, le principe de fonctionnement des expériences de diffusion suit un schéma commun, comme par exemple celui faisant appel à un écho de spin (voir *encadré 1* [14]) : après une excitation initiale du système de spins qui transforme l'aimantation d'équilibre (colinéaire à  $B_0$ ) en aimantation transversale, donc animée d'un mouvement de précession à la fréquence  $\nu_0$ , une première impulsion de gradient est appliquée afin de réaliser un codage spatial de la fréquence de résonance  $\nu_0$  (voir ci-dessus). Intervient ensuite une période d'évolution, appelée intervalle de diffusion  $\Delta$ , durant laquelle les molécules portant les spins nucléaires vont diffuser au sein de l'échantillon. Une deuxième impulsion de gradient, identique à la première mais dont l'effet est inversé (par l'impulsion  $\pi$  de la séquence d'écho de spin), est ensuite appliquée. Il en résulte une annulation du codage spatial de la première impulsion de gradient (on dit qu'il y a « refocalisation »). L'acquisition de l'écho permet alors de mesurer la décroissance de l'aimantation transversale. En effet, si les molécules restaient immobiles pendant  $\Delta$ , la refocalisation serait parfaite car chaque molécule subirait le même champ magnétique pendant les deux impulsions de gradient. En revanche, si les molécules se déplacent dans la direction du gradient pendant  $\Delta$ , le champ perçu par les spins n'est pas le même pendant les deux impulsions de gradient. La refocalisation est alors incomplète, ce qui se traduit par une atténuation du signal RMN :

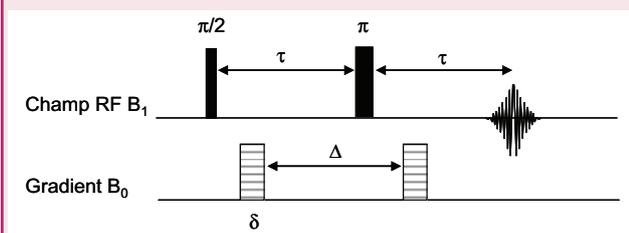
$$S = S_0 \exp(-\delta^2 \gamma^2 g^2 D \Delta) \quad (2)$$

Dans (2), l'atténuation du signal due aux phénomènes de relaxation a été omise.  $D$ , le coefficient de diffusion, peut en

#### Encadré 1

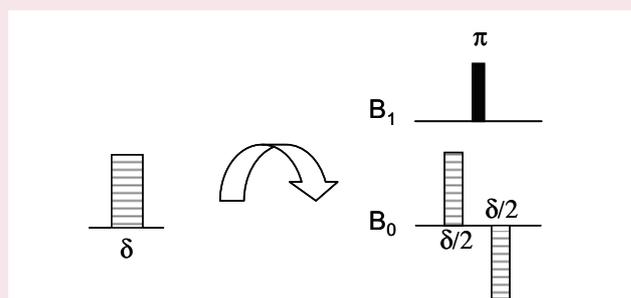
### Mesure du coefficient de diffusion

La séquence d'écho de spin en présence d'impulsions de gradient (dans chacune des deux parties de la séquence) constitue la méthode la plus simple pour mesurer la diffusion :



Pour les systèmes dont le temps de relaxation transversale  $T_2$  est plus court que  $T_1$ , il est plus avantageux de mettre en œuvre une autre catégorie de séquences utilisant un écho stimulé plutôt qu'un écho de spin. La technique d'écho stimulé consiste à ramener l'aimantation selon la direction du champ  $B_0$  après l'application de la première impulsion de gradient de telle sorte que la perte d'aimantation durant  $\Delta$  ne dépend plus que de  $T_1$ . Cela permet donc de bénéficier d'un meilleur rapport signal/bruit et donne la possibilité d'explorer de plus grandes valeurs de  $\Delta$ . L'effet des gradients de champ locaux sur la courbe de diffusion peut être minimisé en jouant sur la polarité du gradient appliqué. Ces gradients de champ locaux, qui se superposent aux gradients de champ nécessaires à la mesure du coefficient de diffusion, ont pour origine les différences de susceptibilité magnétique au sein d'un échantillon hétérogène. Ainsi, chaque impulsion de gradient

est remplacée par une ou plusieurs paires de gradients de polarité opposée séparés par une impulsion  $\pi$  :



Les deux impulsions de gradient, chacune d'une durée de  $\delta/2$ , agissent de la même manière qu'une seule impulsion de durée  $\delta$ . En revanche, l'effet des gradients locaux est annihilé par l'impulsion  $\pi$ . Ces méthodes sont efficaces tant que les molécules sont en présence du même gradient local de part et d'autre de l'impulsion  $\pi$ . Leur limite est donc dictée par le caractère incompressible de la durée des impulsions de gradient qui peut difficilement descendre en deçà de quelques centaines de microsecondes. Il existe une approche alternative qui offre une insensibilité totale aux gradients de champs locaux. Son principe réside dans l'utilisation de gradients de champ radiofréquence au lieu de gradients de champ statique [14]. Sa mise en œuvre requiert cependant un appareillage adapté.

principe être déterminé en faisant varier l'un des trois paramètres  $\delta$ ,  $g$  ou  $\Delta$ . En pratique, il est plus commode d'incrémenter l'intensité du gradient en gardant constant l'ensemble des délais de la séquence. Cette procédure permet principalement de maintenir constante toute décroissance due à la relaxation.

La gamme de coefficients de diffusion accessible est en pratique limitée aux faibles valeurs par le gradient de champ magnétique disponible et le temps de relaxation  $T_1$  du proton de l'espèce suivie. Lorsque la diffusion est très lente, par exemple dans des milieux très visqueux ou confinés, ou lorsque l'on a à faire à des biomolécules, polymères ou complexes de taille importante, la précision obtenue avec les méthodes traditionnelles n'est pas suffisante car les valeurs de  $\Delta$  accessibles sont trop courtes pour permettre un déplacement significatif des molécules. Un allongement de l'intervalle de diffusion est possible si l'information spatiale pendant ce délai est stockée soit dans des états de spins de longue durée de vie (produits par exemple par des systèmes de spin  $1/2$  couplés dans des molécules partiellement deutérées) [15], soit dans l'aimantation longitudinale d'hétéronoyaux possédant des  $T_1$  plus longs (tels que l'azote-15 dans des composés isotopiquement enrichis [16]).

### Intérêt du coefficient d'autodiffusion

L'aptitude d'une molécule à se déplacer dans un fluide dépend de la température, mais aussi de sa taille, de sa forme et des interactions avec les autres molécules. Pour ces différentes raisons, la mesure du phénomène d'autodiffusion est utilisée dans de nombreux domaines : elle permet de sonder le phénomène de complexation, en particulier l'interaction protéine/ligand ou la formation de phases organisées dans les liquides (dimères, micelles, cristaux liquides...), d'étudier les processus d'échanges chimiques, et de mesurer *in situ* la viscosité ou l'état de confinement d'un fluide dans un milieu complexe [17]. La mesure de  $D$  en fonction de la masse moléculaire donne accès à la dimension fractale  $\alpha$  associée à une famille de composés. Cet exposant, dont la valeur est comprise entre 1 et 3, traduit la compacité d'une molécule, *i.e.* la manière dont elle occupe l'espace à trois dimensions. Inversement, une fois  $\alpha$  déterminé, la masse molaire d'espèces en solution peut être déterminée. La méthode représente ainsi une alternative intéressante à la chromatographie d'exclusion stérique et est utilisable *in vivo* [18]. Dans un autre domaine, la diffusion couplée à l'imagerie fonctionnelle (IRMf) constitue l'un des outils majeurs utilisés pour établir une cartographie précise du cerveau et de ses interconnections.

Au lieu de considérer le coefficient  $D$  associé à l'ensemble ou à une partie du spectre RMN, le résultat de l'expérience peut également être représenté sous forme d'un diagramme à deux dimensions. Une transformée de Fourier est d'abord appliquée à la série de FID (« free induction decay ») qui correspondent aux signaux acquis lors d'une expérience de diffusion. On génère ainsi la première dimension qui sera celle des déplacements chimiques. La seconde dimension, constituée de courbes décroissantes, est traitée au moyen d'une procédure d'optimisation utilisant la transformée de Laplace inverse (TLI). Cette opération mathématique permet d'obtenir la distribution des facteurs d'amortissements, donc des coefficients de diffusion, à partir de chaque courbe considérée comme une somme d'exponentielles. Un tel diagramme bidimensionnel fait donc apparaître les corrélations coefficient de diffusion-déplacement chimique.

Une application importante de ce procédé (connu sous le nom de DOSY) est de séparer en solution les spectres RMN associés à chaque espèce en fonction de leur coefficient de diffusion [6]. L'efficacité de cette méthode ou de versions 3D plus élaborées a été montrée, entre autres, pour l'étude de mélanges complexes de produits naturels tels que les extraits de plantes ou de fluides biologiques [19-20], ou pour l'analyse et le suivi des réactions de polymérisation et de purification de copolymères à blocs [21]. La faible résolution dans la dimension de diffusion constitue la limitation majeure de cette technique. Celle-ci dépend principalement de l'algorithme utilisé pour l'optimisation et se dégrade fortement en présence de recouvrement spectral dans le spectre RMN. Il est possible d'augmenter la résolution de l'expérience DOSY pour l'étude de mélanges en exacerbant les différences de mobilité moléculaire au moyen d'une phase stationnaire ajoutée à l'échantillon analysé (figure 6). Cette approche dite « RMN chromatographique », ou « chrom-NMR », est un moyen de séparation qui présente des analogies avec la chromatographie en phase liquide, mais son mode de fonctionnement est statique et sans colonne. La formation d'un système biphasique induit cependant des élargissements de raies dus essentiellement aux différences de susceptibilités magnétiques aux interfaces. Cet inconvénient peut être quasiment éliminé en recourant à la procédure de rotation à l'angle magique MAS utilisée habituellement pour les solides. Les mesures réalisées à fréquence MAS modérée sur des échantillons de petite taille montrent que la rotation a peu d'effet sur la diffusion [22].

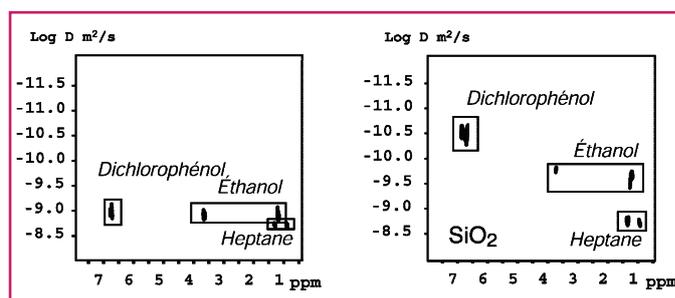


Figure 6 - Spectre DOSY d'un mélange de dichlorophénol, éthanol et heptane dans le cyclohexane deutéré : solution pure (à gauche), et après addition d'une phase de silice poreuse (à droite).

Il existe des variantes plus élaborées de la technique DOSY combinant la mesure de  $D$  avec une expérience sensible à l'échange chimique ou avec la mesure des temps de relaxation  $T_1$  ou  $T_2$ . Les diagrammes ( $D, D$ ) ou ( $D, T_1$ ) ou ( $D, T_2$ ) sont alors obtenus à l'issue d'une double TLI. Ces diagrammes permettent de caractériser chaque entité par des aspects différents de sa dynamique (nature et rapidité de tous les mouvements pouvant affecter l'entité considérée). Elles offrent donc un pouvoir discriminatoire accru par rapport à une simple mesure de chacune de ces observables. Ce type d'approche est très utile pour la quantification des phases aqueuses et organiques, en particulier lorsque les moyens mis en œuvre se limitent, pour des raisons de coût, d'environnement ou de manque d'accessibilité, à des mesures de spectres basse résolution. En prospection pétrolière, elle permet de caractériser *in situ* les roches pétrolières des puits de forages [23], et dans l'industrie agroalimentaire, elle sert à déterminer la qualité ou le degré de maturation d'un fromage [24] (figure 7).

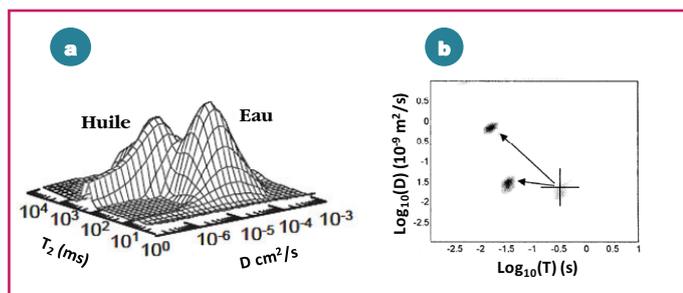


Figure 7 - Diagrammes  $(D, T_2)$  (a) d'une roche pétrolière montrant la séparation des signaux du pétrole et de l'eau (en représentation tridimensionnelle) [23], (b) d'un échantillon de gouda après 74 jours de maturation (la croix indique l'emplacement initial des pics après seulement 1 jour) [24].

### Diffusion en milieu confiné

Lorsque les dimensions du système dans lequel évoluent les molécules de liquide pendant  $\Delta$  sont grandes vis-à-vis de leur déplacement quadratique moyen, on mesure un coefficient de diffusion libre qui constitue une grandeur intrinsèque du liquide. Dans le cas contraire, la présence des parois influe fortement sur la diffusion des particules, ce qui rend la mesure RMN sensible à son environnement. La mesure fournit alors un coefficient de diffusion apparent  $D_{app}$  qui diminue en fonction de  $\Delta$ .

Dans un composé poreux imprégné par un liquide, cette évolution est reliée aux caractéristiques structurales (figure 8) : pour des valeurs faibles de  $\Delta$ , les espèces diffusantes restent confinées localement, la diminution de  $D_{app}$  dépend quasi linéairement du rapport  $S/V$  caractérisant la porosité –  $S$  étant la surface des pores et  $V$  le volume du liquide en interaction avec cette surface. Ainsi, moyennant un modèle de cavité, il est possible de déterminer les dimensions et un facteur de forme caractéristiques des porosités. Lorsque les valeurs de  $\Delta$  sont suffisamment grandes pour que les molécules diffusent dans la structure poreuse,  $D_{app}$  atteint une valeur limite appelée « tortuosité » du réseau. Cette grandeur, qui traduit le degré de connectivité entre les pores, conditionne les propriétés de perméabilité et de conductivité [25].

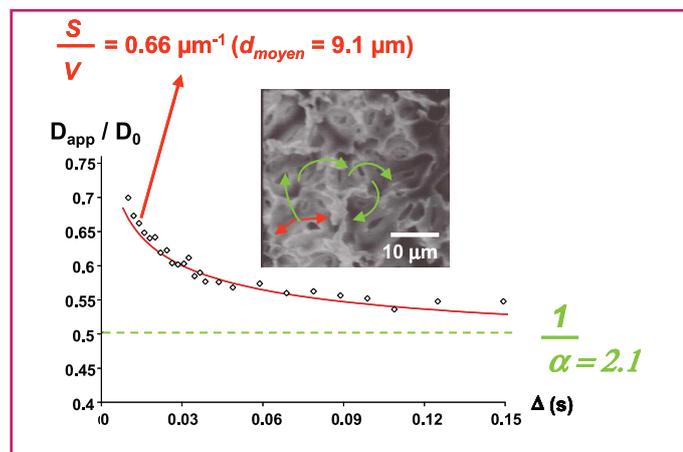


Figure 8 - Évolution du rapport  $D_{app}/D_0$  (avec  $D_0$ , coefficient de diffusion libre) en fonction de l'intervalle de diffusion  $\Delta$  obtenu pour un matériau polystyrène poreux.

L'analyse de la courbe permet de déterminer une dimension caractéristique moyenne  $d_{moyen}$  des cavités et la tortuosité  $\alpha$  du réseau interconnecté.

### Encadré 2

#### Hétérogénéité structurale et hétérogénéité de susceptibilité magnétique

Dans les milieux hétérogènes comportant des zones de susceptibilité magnétique différente, les interfaces sont le siège de modifications du champ magnétique, ce qui se traduit par l'apparition de gradients locaux qui sont ressentis, entre autres, par les noyaux atomiques. L'intensité et la direction de ces gradients ayant une certaine distribution, au lieu d'une résonance unique, le spectre RMN est constitué d'une multitude de résonances, d'où un élargissement et, éventuellement, une forme de raie particulière. Un second effet survient lorsque le déplacement quadratique moyen ne peut plus être considéré comme négligeable devant les dimensions caractéristiques des hétérogénéités structurales. Une telle situation peut survenir pour des tailles de cavités inférieures à quelques dizaines de micromètres. Les gradients locaux peuvent alors interférer avec les gradients appliqués en vue de la mesure du coefficient de diffusion. Ces gradients locaux sont alors responsables d'une mesure erronée du coefficient de diffusion.

### Mesure de l'hétérogénéité structurale

L'existence d'une hétérogénéité structurale s'accompagnant d'une hétérogénéité de susceptibilité magnétique induit un élargissement des raies RMN (voir encadré 2). Il a été montré récemment que chaque intervalle de fréquence élémentaire correspond à une taille donnée de pore [26]. Ainsi l'élargissement et la forme de la raie reflètent la distribution des dimensions des cavités au sein du réseau poreux (figure 9, en haut à droite). On peut prévoir que plus la taille d'un pore est petite, plus les gradients locaux sont importants et plus la fréquence de résonance augmente, ce qui explique la forme de raie.

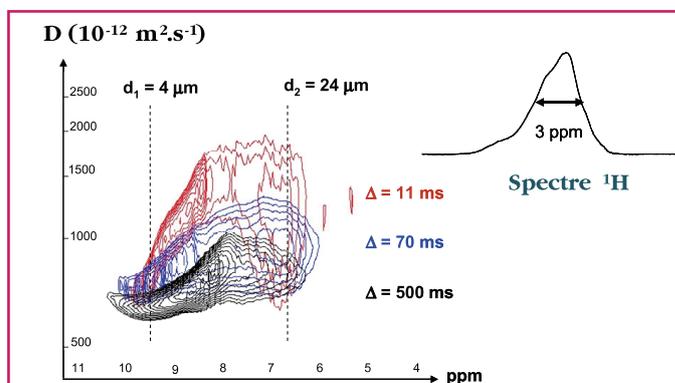


Figure 9 - Expérience DOSY appliquée à un polystyrène poreux pour trois valeurs de l'intervalle de diffusion  $\Delta$ . Les diamètres des pores sont indiqués par  $d_1$  et  $d_2$ . En haut à droite : le spectre RMN classique.

Ces propriétés peuvent être précisées et complétées par des mesures du coefficient de diffusion en fonction de la fréquence de résonance (expérience DOSY, figure 9). On constate en effet une diminution du coefficient de diffusion lorsque la fréquence de résonance augmente (pores de plus petite taille). Cependant, cette propriété n'est vraie que pour de faibles valeurs de  $\Delta$  (pour lesquelles les molécules restent plus ou moins confinées). Pour un temps plus long, on tend vers le palier de tortuosité et cet effet s'amenuise.

### La diffraction diffuse

Généralement, la décroissance du signal de diffusion  $E(q, \Delta)$ , exprimée en fonction de  $q = (2\pi)^{-1} \gamma \delta g$ , est de nature

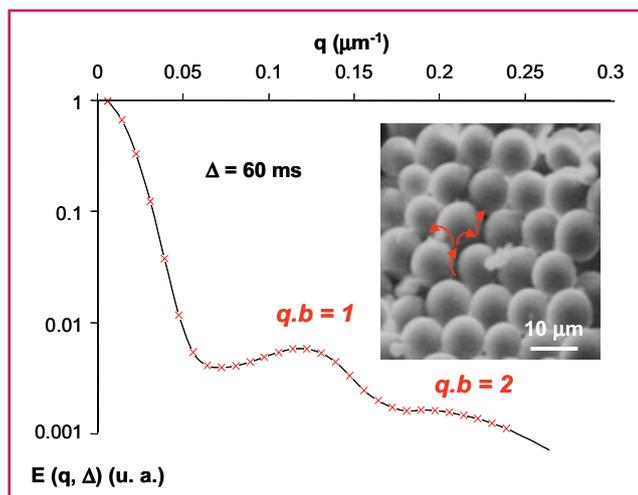


Figure 10 - Courbes de diffusion obtenues pour un système poreux modèle constitué de billes de polystyrène empilées.

La fréquence de l'oscillation détectée dans l'espace réciproque correspond à la distance moyenne  $b$  séparant deux cavités dans le réseau.

gaussienne. Cette forme est le reflet de la distribution  $P(r)$  des déplacements qui se déduit de  $E(q, \Delta)$  par transformée de Fourier et qui est également de nature gaussienne. La grandeur  $q$  constitue ainsi un espace réciproque comme en diffraction X. Dans un système périodique de pores interconnectés, il est possible d'observer une déviation au régime gaussien en utilisant des valeurs particulières de gradients et de temps de diffusion. Des « pics de diffraction » peuvent être détectés à des valeurs de  $q$  égales à l'inverse (ou des multiples) de la distance moyenne séparant deux cavités [27-28] (figure 10).

Dans des systèmes poreux réels, l'observation de ce phénomène est rendue difficile du fait de la forte hétérogénéité structurale associée à la présence de forts gradients de champs locaux qui, dans ce cas, sont particulièrement néfastes. La technique à base de gradients de champ radiofréquence [14] est la seule qui ait permis de détecter le phénomène de diffraction dans un composé poreux réel [29].

## Conclusion et perspectives

Il est bien clair que de nos jours, les mesures du coefficient d'autodiffusion par RMN jouissent d'un succès considérable. On parle même de « RMN diffusionnelle » qui, vraisemblablement, continuera à s'enrichir de nouvelles expériences (par le biais d'une instrumentation qui ne cesse de s'améliorer), permettant une investigation de plus en plus précise des milieux complexes. Les limitations liées à la faible sensibilité inhérente à la RMN peuvent être, en partie, levées grâce à des instruments à haut champ dotés d'une électronique de plus en plus performante. Cependant, l'augmentation du champ entraîne nécessairement un accroissement des gradients locaux (s'ils existent) et, par conséquent, des difficultés (voire des impossibilités) lors de la mesure du coefficient de diffusion.

Bien que les temps de relaxation RMN requièrent une interprétation plus fouillée que les coefficients de diffusion, ils apportent des informations complémentaires parce que spécifiques d'un site donné dans un édifice moléculaire, supramoléculaire ou macromoléculaire. Dans le même ordre

d'idée, l'étude des nanosystèmes peut bénéficier de la conjonction des mesures de diffusion et de relaxométrie (mesures de relaxation de spin en fonction de la valeur du champ magnétique statique), ce qui remet en perspective la RMN à bas champ.

## Références

- [1] Gutowsky H.S., Hoffmann C.J., *J. Chem. Phys.*, **1951**, 19, p. 1259.
- [2] Bloembergen N., Purcell E.M., Pound R.V., *Phys. Rev.*, **1948**, 73, p. 679.
- [3] Hahn E.L., *Phys. Rev.*, **1950**, 80, p. 580.
- [4] Bagno A., Rastrelli F., Saielli G., *Prog. Nuc. Magn. Spect.*, **2005**, 47, p. 41.
- [5] Klingenfus J., Palmas P., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, 13, p. 10661.
- [6] Johnson S.J. Jr., *Encyclopedia of NMR*, John Wiley & Sons, **1996**, p. 1626-1643.
- [7] Kimmich R., *NMR: Tomography, Diffusometry, Relaxometry*, Springer, **1997**.
- [8] Vold R.L., Waugh J.S., Klein M.P., Phelps D.E., *J. Chem. Phys.*, **1968**, 48, p. 3831.
- [9] Overhauser A.W., *Phys. Rev.*, **1953**, 92, p. 401.
- [10] Canet D., Bouguet-Bonnet S., Leclerc S., *RMN Express: Spins 1/2, État liquide*, Presses Universitaires de Nancy, **2010**.
- [11] Kowaleski J., Mäler L., *Nuclear Spin Relaxation in Liquids: Theory, Experiments and Applications*; Taylor & Francis, **2006**.
- [12] Cuc D., Bouguet-Bonnet S., Morel-Desrosiers N., Morel J.P., Mutzenhardt P., Canet D., *J. Phys. Chem. B*, **2009**, 113, p. 10800.
- [13] Yemloul M., Steiner E., Robert A., Bouguet-Bonnet S., Allix F., Jamart-Grégoire B., Canet D., *J. Phys. Chem. B*, **2011**, 115, p. 2511.
- [14] Canet D., *Prog. Nuc. Magn. Spect.*, **1997**, 30, p. 101.
- [15] Ahuja P., Sarkar R., Vasos P.R., Bodenhausen G., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, p. 7498.
- [16] Augustyniak R., Ferrage F., Paquin R., Lequin O., Bodenhausen G., *J. Biomol. NMR*, **2011**, 50, p. 209.
- [17] Johnson S.J. Jr., *Prog. Nuc. Magn. Spect.*, **1999**, 34, p. 203.
- [18] Augé S., Schmit P.O., Crutchfield C.A., Islam T.I., Douglas J.H., Durand E. et al., *J. Phys. Chem.*, **2009**, 113, p. 1914.
- [19] Balayssac S., Delsuc M.-A., Gilard V., Prigent Y., Malet-Martino M., *J. Magn. Reson.*, **2009**, 196, p. 78.
- [20] Balayssac S., Trefi S., Gilard V., Malet-Martino M., Martino R., Delsuc M.A., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2009**, 50, p. 602.
- [21] Viel S., Mazarin M., Giordanengo R., Phan T.N.T., Charles L., Caldarelli S., Bertin D., *Anal. Chim. Acta*, **2009**, 654, p. 45.
- [22] Carrara C., Viel S., Delaurent C., Ziarelli F., Excoffier G., Caldarelli S., *J. Magn. Reson.*, **2008**, 194, p. 303.
- [23] Sun B., Dunn K., *Magn. Reson. Imag.*, **2005**, 23, p. 159.
- [24] Godefroy S., Callaghan P.T., *Magn. Reson. Imag.*, **2003**, 21, p. 381.
- [25] Blümich B., *NMR Imaging of Materials*, Oxford Science Publications, Clarendon Press, **2000**.
- [26] Kuntz J.-F., Palmas P., Level V., Canet D., *J. Magn. Reson.*, **2008**, 191, p. 239.
- [27] Callaghan P.T., *Principle of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*, Oxford Science Publications, **1991**.
- [28] Kuntz J.-F., Palmas P., Canet D., *J. Magn. Reson.*, **2007**, 188, p. 322.
- [29] Kuntz J.-F., Palmas P., Trausch G., Mutzenhardt P., Canet D., *J. Chem. Phys.*, **2007**, 126, p. 134904.



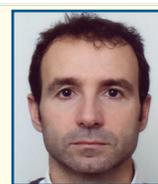
**Daniel Canet**

(auteur correspondant)

est professeur à la Faculté des Sciences et Technologies, Vandœuvre-lès-Nancy\*.

**Pascal Palmas**

est chercheur au centre du Commissariat à l'Énergie Atomique du Ripault à Monts\*\*.



**P. Palmas**

\* Méthodologie RMN (CRM<sup>2</sup>, UMR 7036, UHP-CNRS), Université Henri Poincaré, Faculté des Sciences et Technologies, BP 239, F-7054506 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex.

Courriel : Daniel.Canet@crm2.uhp-nancy.fr

\*\* CEA, DAM, Le Ripault, F-37260 Monts.

Courriel : pascal.palmas@cea.fr