

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

DÉVELOPPEMENT DE RÉVÉLATEURS FLUORESCENTS
POUR LA RÉVÉLATION DES EMPREINTES DIGITALES

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE EXTENSIONNÉE DE
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

PAR
CLODIE GAGNÉ-BLAIS

AVRIL 2022

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire, de cette thèse ou de cet essai a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire, de sa thèse ou de son essai.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire, cette thèse ou cet essai. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire, de cette thèse et de son essai requiert son autorisation.

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, le professeur Benoit Daoust, qui a su m'accompagner et bien me guider à travers mes différents essais et résultats. Je le remercie de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir rendu ce projet réalisable. Il est un très bon directeur de recherche et avant tout une très bonne personne. Merci à toi d'avoir été aussi présent et d'avoir su t'adapter à mon horaire quelquefois un peu rocambolesque. J'ai beaucoup apprécié ta grande disponibilité et générosité, ainsi que les pauses café surprenamment très efficaces. J'ai grandement appris durant ces deux belles années et c'est sans aucun doute grâce à toi.

J'aimerais également remercier mon co-directeur de recherche, Alexandre Beaudoin, qui a su me guider à travers mes résultats parfois surprenants. Je te remercie pour tes précieux conseils et ta disponibilité malgré ton horaire chargé. Ce projet n'aurait pas été possible sans ton implication. Je remercie également les collaborateurs de mon projet, dont Gabrielle, Marie-Ève, Charlotte et Marianne pour leur aide en testant les méthodes de révélations.

Je veux remercier Simon Ricard, agent de recherche au laboratoire et ami, qui a toujours su embellir mes journées de travail (après son deuxième café du matin bien sûr). Merci de m'avoir pris sous ton aile durant ces deux années, mon « Memories Snapchat » en garde particulièrement de beaux souvenirs. Tu as une passion pour la recherche qui est contagieuse et garde cette belle énergie. Je remercie également mes collègues et amis de laboratoire Alexis, Francis et Guillaume, qui ont su endurer mes « talents » de chanteuse professionnelle avec patience. Je remercie mes amies Gabrielle et Annick, avec qui j'ai partagé des chocolaines, des croissants, du café, mais aussi de longues discussions sur l'angoisse de commencer tranquillement la vie d'adulte.

Vous avez été de précieuses compagnies durant ces années d'étude. Je remercie le personnel de l'université, Jocelyn, Amy et JP, qui m'ont rendu de nombreux services.

Je tiens à remercier ma famille et mes amis qui ont toujours su m'encourager et me supporter dans ce parcours. À mes parents qui m'ont toujours motivé, vous avez été présent lorsque j'en avais besoin et je vous en remercie grandement.

Un merci spécial à mon meilleur ami, partenaire de vie, copain Olivier. Tu as toujours su bien m'écouter et me donner de judicieux conseils (pas des conseils en chimie, bien sûr). Ton calme et ta patience m'ont si bien aidé à passer à travers ces nombreuses étapes, tu as su les rendre comme des défis, des accomplissements. Merci de toujours m'avoir encouragé dans mes projets et continue d'être la belle et généreuse personne que tu es.

Finalement, j'aimerais remercier vous, chers lecteurs, qui prenez le temps de consulter mon mémoire. J'espère que vous en apprécierez le contenu.

« Science is always wrong, it never solves a problem
without creating ten more. »

-George Bernard Shaw

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES SCHÉMAS	xiii
LISTE DES GRAPHIQUES.....	xiv
LISTE DES SPECTRES.....	xv
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	xvi
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS	xviii
RÉSUMÉ	xix
CHAPITRE I Introduction.....	1
1.1 Révélation des empreintes digitales	1
1.1.1 Types d'empreintes et de traces digitales.....	1
1.2 Objectif du projet.....	5
CHAPITRE II Paramètres guidant le choix des techniques de révélations	8
2.1 Le choix des techniques de révélation selon les supports et leur condition de vie.....	8
2.1.1 Les surfaces non poreuses	9
2.1.2 Les surfaces poreuses	11
2.1.3 Surfaces ayant été soumises à l'eau	13
2.2 Intérêt du projet	15
2.3 Les révélateurs lipidiques	16
2.3.1 Le noir de soudan.....	18
2.3.2 Le violet de gentiane	18
2.3.3 Le jaune naturel 3 (curcumine).....	19
2.3.4 Le chélate d'euporium.....	20

2.3.5	Le révélateur physique	21
2.3.6	Le rouge du Nil	22
2.3.7	L'Oil Red O	24
CHAPITRE III Généralité sur les composés azoïques et la fluorescence		28
3.1	Les composés azoïques et leur synthèse	28
3.1.1	Généralité sur les colorants azoïques	28
3.1.2	Synthèse des colorants azoïques via diazotation et copulation	33
3.1.3	Relation entre la structure chimique et la couleur	36
3.2	La fluorescence	42
3.2.1	Processus de relaxation non radiatif et radiatif	42
3.2.2	Les différents paramètres favorisant la fluorescence	45
3.2.3	Application de la fluorescence pour les composés azoïques	48
CHAPITRE IV Résultats		50
4.1	Analogues fluorescents de l'Oil Red O	50
4.1.1	Synthèse d'analogues de l'Oil Red O	50
4.1.2	Relation structure-activité de l'Oil Red O	53
4.1.3	Rigidification de la structure	58
4.1.4	Essais de révélations d'empreintes digitales	70
4.2	Zn-Hydroxyquinoline	81
4.2.1	Recette de révélation dans les solvants organiques	82
4.2.2	Brevet sur le 8-hydroxyquinoline complexé avec différents métaux pour la révélation des traces digitales	104
4.2.3	Recette de révélation dans l'eau	108
4.2.4	Compréhension du mécanisme de révélation.	115
4.2.5	Proposition d'amélioration de la recette et perspectives sur le Zn-hydroxyquinoline	129
CHAPITRE V Conclusion et perspectives de recherche		133

CHAPITRE VI	Partie expérimentale.....	137
6.1	Remarques générales	137
6.2	Modes opératoires	139
ANNEXE A	Spectres RMN ^1H et ^{13}C	150
RÉFÉRENCES	161

LISTE DES FIGURES

Figure	Page	
2.1	Exemple de révélations obtenues par la technique de poudre dactyloscopiques fluorescentes (gauche), Cyanoacrylate (centre) et VMD (droite) (Bandey <i>et al.</i> , 2014, p. 639, 719).....	10
2.2	Séquences de révélations recommandées selon le type de surface (Champod <i>et al.</i> , 2017, p. 233 et 258).....	13
2.3	Séquences de révélations recommandées pour les surfaces soumises à l'eau (Champod <i>et al.</i> , 2017, p. 233 et 258).....	15
3.1	Structures chimiques de quelques colorants azoïques.....	30
3.2	Différents colorants ayant des structures similaires à l'Oil Red O.....	33
3.3	Endroits de copulation favorisées selon le pH pour le 6-amino-4-hydroxynaphtalène (22) (Zollinger, 2003, p. 175).....	36
3.4	Le cercle chromatique, relation entre la longueur d'onde absorbée et la couleur perçue (couleur complémentaire).....	38
3.5	Les différentes transitions électroniques possibles du formaldéhyde ainsi que leur niveau d'énergie (Valeur, 2004, p. 11). HOMO (Highest Occupied Molecular Orbitals). LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals).....	40
3.6	Longueur maximale d'absorption de différents systèmes conjugués.....	41
3.7	Diagramme Perrin-Jablonski (Valeur, 2004, p. 23).....	43
3.8	Structure chimique de l'acridine (28).....	46

3.9	Le vert de malachite (29) et l'auramine (30) qui ont une fluorescence très sensible à la viscosité.....	47
3.10	Structures de la phénolphthaléine dianionique (31) et de la fluorescéine (32) en milieu basique	47
3.11	Structures de la rhodamine B (33) et de la rhodamine 101 (34).....	48
3.12	Stratégie envisagée pour la rigidification de la structure de l'Oil Red O....	49
4.1	Évaluation de la contamination de 48 par 38 par intégration des signaux ¹ H RMN.....	65
4.2	Essais de révélations d'empreintes digitales à la lumière blanche avec le (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (48) dans le méthanol (gauche), l'éthanol (centre) et l'acétone (droite)	72
4.3	Révélation obtenue à la lumière blanche (à gauche) et en fluorescence (à droite) avec 75 mg de (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (48) dans 50 mL de méthanol et avec l'ajout de 25 mL d'eau pour 50 mL.....	74
4.4	Révélation obtenue dans les mêmes conditions qu'à la figure 4.3, mais résultat différent en fluorescence. Révélation à la lumière blanche (à gauche) et en fluorescence (à droite).....	75
4.5	Révélation obtenue avec et sans séchage au P2O5 à la lumière blanche (à gauche) et en fluorescence (à droite) avec 75 mg (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (48) dans 50 mL de méthanol et avec l'ajout de 25 mL d'eau.	76
4.6	Illustration de la variation du ration 38 : 48 avant l'ajout d'eau et après l'ajout d'eau.....	79
4.7	Révélation obtenues à l'aide de l'analogue 50 dans 50 mL de méthanol avec ajout de 20 mL d'eau.....	80
4.8	Révélation d'empreintes digitales provenant de deux donneurs différents obtenues à partir de 82 mg d'hydroxyquinoline et 62 mg de Zn(CH ₃ COO) ₂ · 2H ₂ O dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL. Temps de trempage : 15 minutes	85

4.9	Révélation d'empreinte obtenue à partir de 82 mg d'hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL d'eau, 45 minutes après le mélange méthanol/eau. Temps de trempage : 15 minutes	86
4.10	Révélation d'empreintes obtenues à partir de 82 mg d'hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL d'eau	87
4.11	Différence entre la solution dans le méthanol avec l'ajout de 5 mL d'eau et 50 mL d'eau à 250 mL de méthanol et Zn-Hydroxyquinoline (entrée 1 et 2 du Tableau 4.4).....	89
4.12	Révélation obtenues avec l'ajout de NaOH dans la solution de révélation après 15 minutes de trempage (empreinte à gauche) et 30 minutes de trempage (empreinte à droite) dans la solution de révélation (entrée 3 du Tableau 4.4).....	90
4.13	Révélation d'empreintes digitales obtenues à partir de la même solution de révélation utilisant le ZnCl_2 dans l'éthanol (entrée 7 Tableau 4.4) sur une période d'une heure	93
4.14	Révélation obtenue avec une empreinte préalablement trempée dans l'eau avant la révélation. Solution de révélation utilisée : 82 mg d'hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL d'eau	94
4.15	Exemples de révélation obtenues avec le donneur 1 et donneur 2. Révélation obtenues avec la recette à l'entrée 5 du tableau 4.6.....	103
4.16	Exemples d'erreurs retrouvées dans le brevet indiquées par des flèches sur les structures 54a , 55 a et 56a et les corrections (54 b , 55 b , 55c et 56 b)	107
4.17	Série de déplétions (en ordre de gauche à droite) du donneur 2 pour le papier rouge	111
4.18	Série de déplétions du donneur 3 sur le papier thermique.....	112
4.19	Exemple de traînées fluorescentes observées (indiquées par les flèches) lors des tests préliminaires sur le magazine blanc	113
4.20	Deux structures possibles du Zn-hydroxyquinoline, où OR= solvant	116

4.21	Révélation obtenue à partir du Zn-hydroxyquinoline commercial et l'ajout de HCl (gauche) et révélation obtenue à partir de gants de nitrile préalablement trempés dans l'huile végétale (droite)	126
4.22	Illustration de l'amélioration de la fluorescence avec un chauffage à l'étuve durant 20 minutes à 80 °C.....	130

LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
1.1	Les trois types de glandes, leur localisation et leur composition.....	4
2.1	Résumé des différents révélateurs lipidiques	17
4.1	Couleur, liposolubilité et fluorescence des analogues et de l'Oil Red O	54
4.2	Résumé des deux méthodes de synthèses pour la préparation de (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (48).....	62
4.3	Couleur, liposolubilité et fluorescence dans l'octane des nouveaux analogues avec l'ajout d'une source de bore (50 et 48)	69
4.4	Résumé des différentes conditions de révélations d'empreintes essayées ..	88
4.5	Résumé des différentes recettes testées en utilisant le ZnCl ₂ comme source de zinc.....	95
4.6	Révélations obtenues avec les différentes recettes à 0, 2 et 4 heures après le mélange eau/solvant	99
4.7	Résumé des observations faites sur les deux recettes et hypothèses du complexe présent en solution.....	118
4.8	Résumé des observations faites sur les deux recettes et conclusion sur le complexe présent en solution.....	123
5.1	Tableau comparatif des deux techniques au niveau du coût, des risques et du temps.....	135

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma		Page
3.1	Réaction de diazotation à partir de l'aniline (12).....	34
3.2	Réaction de copulation azoïque du 2-naphtholate (19) (agent copulant) avec le sel de diazonium (18)	34
4.1	Synthèse du sel de diazonium (18) à partir de l'aniline (12).....	50
4.2	Structure et synthèse des analogues de l'Oil Red O (37 , 38 et 39) via la copulation azoïque du sel de diazonium (18) avec différents phénols (37a , 38a et 39a) et l'Oil Red O commercial (4).....	52
4.3	Complexes métalliques de cuivre (II), cobalt (III) et nickel (II) synthétisés à partir du 1-(phényldiazényl) naphthalèn-2-ol (38).....	59
4.4	Synthèse du 2-(boryloxy) azobenzène (44) à partir du 2-hydroxyazobenzène (43)	61
4.5	Synthèse du (2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (50) à partir de 37 via la méthode B	67
4.6	8-hydroxyquinoline (51) et chlorure de zinc (52 si M=Zinc) pour former des complexes métalliques fluorescents (53)	82
4.7	Fonctionnement de la méthode de révélation de la recette 2.....	125
4.8	Illustration du fonctionnement de la méthode	128

LISTE DES GRAPHIQUES

Graphique	Page
4.1 Courbes d'absorption de l'analogue 38 à pH 8 (bleu) et 13 (orange).....	57
4.2 Variation de l'émission de fluorescence de l'analogue 48 selon différentes conditions	78
4.3 Spectres d'excitation (en bleu) et d'émission (en orange) de la recette à l'entrée 1 du tableau 4.7 dans l'éthanol à des pH de 3,33; 7,33; 8,24; 9,24; 10,20; 12,44 de gauche à droite et de haut en bas respectivement. Les pH ont été ajustés avec l'ajout d'hydroxyde d'ammonium.....	120
4.4 Spectre d'excitation (en bleu) et d'émission (en orange) de 57 solubilisé dans l'éthanol.....	122

LISTE DES SPECTRES

Spectre	Page
A.1 4-méthyl-2-(phényldiazenyl)phénol (37) (CDCl ₃).....	151
A.2 (1-(phényldiazenyl)naphthalèn-2-ol) (38) (CDCl ₃)	151
A.3 1-(phényldiazenyl)naphthalèn-2, 6-ol (39) (CD ₃ COCD ₃).....	153
A.4 (2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (50) (CDCl ₃).....	154
A.5 (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (48) (CDCl ₃)	155
A.6 4-méthyl-2-(phényldiazenyl)phénol (37) (CDCl ₃).....	155
A.7 (1-(phényldiazenyl)naphthalèn-2-ol) (38) (CD ₃ COCD ₃)	157
A.8 1-(phényldiazenyl)naphthalèn-2,6-ol (39) (CD ₃ COCD ₃).....	158
A.9 (2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (50) (CDCl ₃).....	159
A.10 (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (48) (CDCl ₃)	160

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

CCM	Chromatographie sur couche mince
d	Doublet (RMN)
DCM	Dichlorométhane
DFO	1,8-Diazafluoren-9-one
DMSO	Diméthylsulfoxyde
dd	Doublet de doublet (RMN)
éq.	Équivalent
f	Faible (IR)
Fluo	Fluorescence
HOMO	Orbitale moléculaire occupée de plus haute énergie (Highest occupied molecular orbital)
i	Intense (IR)
IR	Spectroscopie infrarouge
LUMO	Orbitale moléculaire inoccupée la plus basse en énergie (Lowest unoccupied molecular orbital)
m	Moyen (IR)
m	Multiplet (RMN)
Me	Méthyl
MeOH	Méthanol
NR	Rouge du nil

ORO	Oil Red O
OLEDs	Dispositifs électroluminescents organiques Organic light-emitting devices
PD	Révélateur physique (<i>Physical Developer</i>)
p. ex.	Par exemple
Ph	Phényl
PMA	Acide phosphomolybdique
Rdt	Rendement
RMN	Résonance magnétique nucléaire
s	Singulet
t	Triplet (RMN)
tt	Triplet de triplet (RMN)
T	Température
T _{éb.}	Température ébullition

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

°C	Degré Celsius
cm	Centimètre
cm ⁻¹	Par centimètre
δ	Déplacement chimique
g	Gramme
h	Heure
Hz	Hertz
J	Constante de couplage (RMN)
L	Litre
M	Molaire ou mol/L
%m/v	% Masse sur volume ou g/100mL
m/z	Masse sur charge
mesh	Maille par pouce ou trou par pouce
mg	Milligramme
mL	Millilitre
mmol	Millimole
mol	Mole
nm	Nanomètres
ppm	Partie par million
µg	Microgramme

RÉSUMÉ

La révélation des traces digitales peut résulter de réactions chimiques entre les composés présents dans les sécrétions laissées par nos doigts et un réactif (appelé révélateur). Les acides aminés, les lipides ou encore les protéines sont des exemples de composés pouvant être ciblés pour la révélation des traces digitales. Les lipides sont particulièrement intéressants à cibler lorsque la trace a été soumise à l'eau. Le projet s'intéresse à l'Oil Red O (ORO), un révélateur ciblant les lipides et donnant une couleur rouge aux traces digitales. L'ORO fonctionne bien sur des surfaces poreuses (c.-à-d. du papier) et claires. Il est toutefois inefficace sur des surfaces sombres dues à un manque de contraste. Le but du projet est donc de développer une version fluorescente de l'Oil Red O. Ceci permettrait de la rendre efficace sur les surfaces foncées. De plus, les révélateurs lipidiques fluorescents se font plutôt rares pour les surfaces poreuses, d'où l'intérêt du projet.

La stratégie visée pour rendre l'ORO fluorescent fut de rigidifier sa structure chimique afin de ralentir le processus de relaxation non radiatif et favoriser la fluorescence. Des analogues de l'Oil Red O ont donc d'abord été synthétisés afin de travailler sur des structures chimiques plus simples. Ces analogues ont également permis de mieux comprendre la relation structure-activité de l'Oil Red O. Pour rendre les analogues et l'ORO fluorescents, des complexes métalliques et l'ajout d'une source de bore sur les structures chimiques ont été faits. L'ajout d'une source de bore s'est avéré l'avenue la plus intéressante, car elle a permis l'obtention de composés liposolubles et fluorescents. Des révélations d'empreintes digitales fluorescentes ont été obtenues à l'aide de ces composés fluorescents. Cependant, la méthode de révélations a rapidement montré des faiblesses. L'ajout de la source de bore semble donner des analogues fluorescents relativement fragiles et pouvant facilement se dégrader, causant ainsi des révélations la plupart du temps non fluorescentes.

Toujours dans le but de développer un révélateur lipidique fluorescent, nous nous sommes intéressés au Zn-hydroxyquinoline. Ce complexe fluorescent a été proposé pour la révélation des traces digitales sur des surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau, mais peu d'information est disponible à ce jour sur cette technique. Nous l'avons donc étudié davantage, en évaluant la performance de la méthode sur différentes surfaces et dans différents solvants. Nous avons également émis des hypothèses, sur la base de nos observations et résultats, sur les raisons pour lesquelles le Zn-hydroxyquinoline fonctionne pour la révélation des traces digitales. Finalement,

au cours des recherches, quelques améliorations à la méthode se sont avérées intéressantes. Le Zn-hydroxyquinoline est une avenue beaucoup plus intéressante pour le développement d'un révélateur lipidique fluorescent.

Mots clés : Traces digitales, Oil Red O, fluorescence, Zn-hydroxyquinoline.

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Révélation des empreintes digitales

Une empreinte digitale est le dessin formé par un doigt déposé sur une surface. Elle est d'un fort intérêt en criminalistique étant donné son caractère discriminant. Le principe d'individualité des empreintes digitales repose essentiellement sur le fait qu'elles sont immuables, variables et inaltérables (Champod *et al.*, 2017, p. 1). William Herschel est l'un des premiers à avoir identifié la pérennité et le caractère discriminant des empreintes digitales à des fins d'identification. Il faisait d'ailleurs signer des contrats via l'apposition d'empreintes digitales dans les années 1850 (Holder *et al.*, 2011, p. 11). Au fil du temps, les empreintes digitales furent proposées à des fins d'identification de récidivistes, de cadavres inconnus ou encore d'auteurs de délits. Avec l'affaire Francisca Rojas en 1892 et l'affaire Scheffer en 1902 (Holder *et al.*, 2011, p. 16), où les auteurs des crimes furent trahis par leurs traces digitales, l'identification dactyloscopique prit de plus en plus d'intérêt dans le domaine de la criminalistique. L'utilisation d'empreintes digitales comme moyen d'identification a, au fil des années, supplanté les autres méthodes biométriques utilisées à l'époque telles que le bertillonnage (Champod *et al.*, 2017, p. 1).

1.1.1 Types d'empreintes et de traces digitales

Le terme **empreinte digitale** est employé pour désigner une impression complète, déposée par une source connue et qui a été produite dans un contexte contrôlé, faisant

ainsi davantage référence à celles retrouvées sur les fiches décadactylaires. À l'inverse, le terme **trace digitale** est employé pour désigner une impression partielle, qui a été déposée par une source inconnue et qui a été faite dans un contexte non contrôlé. Ce terme est celui utilisé pour désigner celles retrouvées sur les scènes de crime.

Deux types de traces digitales peuvent être retrouvées sur un lieu d'investigation. Il y a d'abord les traces digitales patentes qui sont visibles à l'œil nu. Ces dernières peuvent se présenter sous trois formes différentes : positives, négatives ou dentelées (Champod *et al.*, 2017, p. 189). Les traces patentes positives sont visibles puisqu'il y a eu un dépôt de matière d'une substance colorée telles que le sang ou la peinture sur une surface. À l'inverse, celles négatives sont visibles, car il y a eu un retrait de matière sur la surface. Par exemple, une surface poussiéreuse est sujette à laisser ce type de trace, puisque l'apposition d'un doigt sur cette surface retirerait l'excédant de poussière, laissant ainsi le dessin papillaire visible. Finalement, les traces patentes dentelées sont celles qui sont marquées en trois dimensions. Une surface malléable telle que de la peinture fraîche ou de la pâte molle peuvent donner lieu à ce type de trace.

Le second type de trace digitale pouvant être retrouvée sur les scènes de crime est la trace digitale latente. Les traces digitales latentes sont, contrairement à celles patentes, invisibles ou mal vues à l'œil nu. Elles sont donc sujettes à des techniques de révélations afin de les rendre visibles. Des techniques de révélations optiques, physiques et chimiques sont possibles afin de permettre une détection de ce type de trace et d'y exploiter toute l'information qu'elle détient. La plupart des techniques de révélation ciblent des composés présents dans les sécrétions qui recouvrent nos doigts. Il est donc primordial de connaître les différents types de sécrétions et leur composition afin de choisir les bonnes méthodes de détection à appliquer pour révéler les traces digitales latentes.

Il y a trois types de glandes qui produisent les sécrétions naturelles de la peau : les glandes sudoripares eccrines, apocrines et les glandes sébacées (voir Tableau 1.1) (Champod *et al.*, 2017, p. 192). Les glandes eccrines sont situées partout sur le corps et sont d'ailleurs les seules glandes que l'on retrouve sur les doigts. Les sécrétions des glandes eccrines sont composées en grande majorité d'eau, mais également d'acides aminés, d'ions métalliques (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}), de sulfates, de phosphates, etc. Les glandes apocrines sont quant à elles situées dans les régions de l'aîne et des aisselles et les sécrétions de ces glandes contiennent en grande majorité de l'eau, mais aussi du fer, des carbohydrates, du cholestérol et des protéines. Finalement, les glandes sébacées sont situées partout sur le corps à l'exception de la paume des mains et la plante des pieds. Ces glandes sécrètent des substances grasses (sébum), telles que des acides gras, des glycérides, des esters gras, etc. Une trace latente est donc un mélange complexe de composés provenant des trois types de glandes (Holder *et al.*, 2011, p. 163). En effet, bien que les glandes eccrines sont les seules glandes à se retrouver sur les mains, de simples activités quotidiennes telles que se frotter le visage ou les cheveux contaminent nos doigts de sécrétions sébacées. Les sécrétions apocrines sont plus rarement retrouvées sur les doigts, mais dans des cas d'agressions sexuelles, elles peuvent être présentes en plus grande partie dans la trace latente (Houck *et al.*, 2017, p. 284). La composition des traces latentes peut grandement varier selon l'âge, le sexe, l'alimentation, l'origine ethnique de la personne en question. De plus, les conditions dans lesquelles la trace a été déposée et préservée influencent aussi grandement la composition des traces latentes (Champod *et al.*, 2017, p. 192; Holder *et al.*, 2011, p. 162; Houck *et al.*, 2017, p. 284).

Tableau 1.1

Les trois types de glandes, leur localisation et leur composition

Glande	Localisation	Composés	
		Inorganiques	Organiques
Eccrines	Partout sur le corps.	Ion chlorure Ions métalliques Ammoniaque Sulfate Phosphate	Acides aminés Urée Acide lactique Sucres Créatine Choline Acide urique
Apocrines	Dans les zones génitales et les aisselles.	Fer	Protéines Carbohydrates Cholestérol
Sébacées	Partout sur le corps sauf les mains et les pieds. Forte concentration sur le front et le dos.	-	Esters de stérols (2-3 %) Triglycérides (30-40 %) Acide gras libre (15-20 %) Esters gras (20-25 %) Scalène (10-12 %) Cholestérol (1-3 %) Esters de cholestérol (2-3 %)

La composition des traces latentes est généralement divisée en deux catégories, le dépôt hydrosoluble (DHS) et le dépôt non hydrosoluble (DNHS) (Holder *et al.*, 2011, p. 163). La partie DHS des traces latentes est essentiellement composée des sécrétions eccrines telles que les ions métalliques et les acides aminés. Des techniques de révélations chimiques telles que la ninhydrine (qui réagit avec les acides aminés) ou encore le nitrate d'argent (qui réagit avec les ions chlorures) sont des techniques efficaces pour rendre visible le dépôt hydrosoluble des traces latentes. La partie DNHS des traces latentes peut être divisée en deux autres sous-catégories, la première fraction étant composée de grandes molécules insolubles à l'eau telles que les protéines. La deuxième fraction est plutôt composée de lipides non polaires tels que les acides gras. Des techniques de révélation telle que le révélateur physique (Morris et Goode, 1974) réagit avec cette première fraction pour leur donner une coloration gris sombre. L'Oil

Red O (Beaudoin, 2004) ou le rouge du Nil (Saunders, 1993) cible plutôt les lipides non polaires pour leur donner respectivement une coloration rouge foncé ou fluorescente (Holder *et al.*, 2011, p. 163).

Il existe donc plusieurs constituants sécrétés par nos glandes et pouvant se retrouver sur nos doigts. Conséquemment, ces constituants sont déposés sur une surface lorsqu'on y touche et peuvent être ciblés par des techniques de révélation pour rendre visibles les traces digitales latentes. Une connaissance des constituants qui composent les différentes sécrétions ainsi que leur localisation aide donc grandement à faire un choix éclairé sur les techniques de révélation à utiliser. Un deuxième facteur important à considérer qui guidera le choix des méthodes de révélation est le type de support sur lequel se trouve la trace latente ainsi que les conditions dans laquelle elle a été préservée, qui seront abordées au Chapitre II.

1.2 Objectif du projet

La plupart des techniques de révélations visent soit le dépôt hydrosoluble des traces digitales tel que les acides aminés ou bien le dépôt non hydrosoluble des traces digitales tel que les gras. Les techniques visant le dépôt non hydrosoluble sont particulièrement intéressantes lorsque la surface sur laquelle se retrouve la trace digitale a été soumise à l'eau. En effet, ces techniques sont les seules méthodes encore efficaces dans de telles circonstances. Également, les techniques de révélations donnent soit une coloration, soit une fluorescence aux traces digitales. La fluorescence est avantageuse puisqu'elle permet d'obtenir un bon contraste entre la trace et le support, ce qui est parfois une problématique pour les révélateurs donnant une coloration. Le contraste entre la trace et le support est un critère important dans les révélations des traces digitales puisque sans contraste, la trace digitale ne peut pas être bien visualisée.

L'objectif du projet est de développer une version fluorescente de l'Oil Red O (ORO) pour la révélation des traces digitales. L'Oil Red O cible le dépôt non hydrosoluble des traces digitales et donne une coloration rouge foncé à celles-ci (Beaudoin, 2004). L'ORO, qui sera abordé plus en détail dans les prochaines sections, est inefficace sur les surfaces sombres. En effet, le révélateur donne une coloration rouge foncé aux traces, ce qui ne permet pas de bien les visualiser sur des supports foncés dus à un manque de contraste. Une version fluorescente de l'Oil Red O permettrait de pallier cette problématique. Ce révélateur est également l'une des rares techniques efficaces sur les supports poreux (tel que le papier) ayant été mouillés. En effet, comme présenté dans les prochaines sections, les techniques efficaces sur les supports poreux ayant été soumis à l'eau ne sont pas nombreuses. D'autant plus, il n'existe à ce jour aucune technique efficace, approuvée ou régulièrement utilisée permettant de donner une fluorescence aux traces digitales sur des supports poreux ayant été mouillés. Ceci rajoute de l'intérêt au développement d'une version fluorescente de l'Oil Red O.

Toujours dans l'idée de développer un révélateur fluorescent ciblant les composés non hydrosolubles sur les surfaces poreuses, le second objectif du projet est de tester et comprendre le fonctionnement du Zn-hydroxyquinoline. Ce révélateur donne une fluorescence aux traces digitales sur des supports poreux ayant été mouillés (Arndt, 2005). En effet, Arndt déposa en 2005 un brevet sur l'utilisation du 8-hydroxyquinoléine combiné avec différents métaux pour la révélation des traces digitales. L'auteur propose entre autres que le sulfate 8-hydroxyquinoléine soit mélangé en proportion stœchiométrique avec le chlorure ferrique dans l'eau pour donner une coloration aux traces digitales. Le chlorure de zinc peut être utilisé plutôt que le chlorure ferrique afin de donner une fluorescence aux traces digitales. Outre ce brevet, il n'y a pas d'autre information sur l'efficacité ou le fonctionnement de ce révélateur pour la révélation des traces digitales. De plus, comme il sera présenté dans le Chapitre IV à la section 4.2.2, certaines incohérences et lacunes dans le brevet justifient la nécessité de reproduire les résultats pour s'assurer de leurs validités.

La méthode n'est actuellement pas approuvée ou régulièrement utilisée, d'où l'intérêt de la recherche sur ce révélateur. De plus, le Zn-hydroxyquinoline est une avenue intéressante pour le développement d'une méthode fluorescente efficace sur les surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau.

CHAPITRE II

PARAMÈTRES GUIDANT LE CHOIX DES TECHNIQUES DE RÉVÉLATIONS

2.1 Le choix des techniques de révélation selon les supports et leur condition de vie

Il existe un grand nombre de techniques qui permettent de rendre visibles les traces digitales latentes retrouvées sur des lieux d'investigation. Plusieurs méthodes peuvent être appliquées sur une seule et même surface afin de rendre visibles les traces digitales latentes. Les méthodes sont généralement appliquées dans une séquence logique, soit du moins destructif au plus destructif. Comme dit plus haut, les techniques de révélations ciblent soit les composés DHS ou les composés DNHS de la trace digitale. Cependant, il n'y a pas seulement le type de composés ciblés qui guide le choix des méthodes de révélation. Un facteur qui influence grandement le choix des méthodes est le type de support sur lequel se retrouve la trace digitale latente. Les types de supports/surfaces sont généralement divisés en deux grandes catégories, soit les surfaces poreuses et les surfaces non poreuses. Selon le type de supports sur lequel se retrouve la trace digitale latente, certaines méthodes seront plus appropriées que d'autres. La meilleure façon de déterminer si une surface est poreuse ou non est d'y déposer une goutte d'eau et de voir si celle-ci pénètre la surface (poreuse) ou non (non poreuse) (Houck *et al.*, 2017, p. 284). Il existe d'autres types de surfaces sur lesquelles une trace digitale peut se retrouver. Il y a par exemple les surfaces semi-poreuses, adhésives ou encore les surfaces particulières comme la peau.

2.1.1 Les surfaces non poreuses

Les surfaces non poreuses, telles que le verre ou encore certains plastiques, ne sont pas absorbantes. Ainsi, lorsqu'une trace digitale se retrouve sur ce type de support, les sécrétions eccrines, apocrines et sébacées ne seront pas absorbées et resteront en surface. De ce fait, les traces digitales laissées sur des surfaces non poreuses sont plus fragiles et peuvent facilement être endommagées par la friction (Champod *et al.*, 2017, p. 194). Les techniques de révélations pouvant être appliquées sur ce type de support sont nombreuses. Le cyanoacrylate est une technique de révélation chimique efficace sur les surfaces non poreuses (Carrick, 1983; Lee et Gaensslen, 1984; Wood, 1991). Cette technique utilise des esters de cyanoacrylate (des monomères incolores) qui, sous forme de vapeur, interagissent avec certains composants des sécrétions eccrines pour polymériser le long des crêtes des traces digitales (Bumrah, 2017). Les polymères de cyanoacrylate formés le long des crêtes sont d'une couleur blanche. Ceci permet donc de visualiser la trace latente blanche (voir image du centre à la Figure 2.1). Il existe plusieurs renforcements pouvant être appliqués suite au cyanoacrylate pour mieux visualiser la révélation. Par exemple, un renforcement au jaune basique 40 ou à la rhodamine 6G permet de donner aux traces digitales traitées au cyanoacrylate une fluorescence (Jian et Dao-An, 1991; Morris, 1992). Ces renforcements augmentent le contraste entre la trace et le support, permettant ainsi de mieux visualiser la trace digitale. Une technique également utilisée sur les surfaces non poreuses est l'utilisation de poudres dactyloscopiques. Cette technique consiste en l'application d'une poudre via un pinceau sur la surface en question. Cette technique révèle les traces digitales via un processus physique où la poudre adhère aux substances humides et grasses telles que les sécrétions retrouvées sur les doigts (Ramotowski, 2012, p. 1). Cette technique est davantage réservée pour des pièces ne pouvant pas être apportées au laboratoire (pour subir une révélation au cyanoacrylate par exemple). Une grande variété de poudres dactyloscopiques existe pour permettre de bien visualiser la trace, peu importe la coloration du support. Des poudres dactyloscopiques

fluorescentes peuvent d'ailleurs être utilisées pour augmenter le contraste entre la trace et le support et ainsi mieux les observer (voir image de gauche à la Figure 2.1) (Ramotowski, 2012, p. 3). Les poudres dactyloscopiques sont également utilisées comme renforcement suite au cyanoacrylate pour donner une coloration ou fluorescence aux polymères. Finalement, une autre technique recommandée pour les surfaces non poreuses est la déposition métallique sous vide (VMD – Vacuum Metal Deposition) (Theys *et al.*, 1968). Cette technique se déroule en deux étapes et consiste d'abord à évaporer de l'or sous vide qui se dépose sur toute la surface. L'or pénètre les sécrétions de la trace digitales. Dans une seconde étape, du zinc est évaporé et se dépose sur les particules d'or, sauf celles ayant pénétré les sécrétions de la trace digitale. Les crêtes restent donc transparentes alors que le fond est plaqué de zinc (voir image de droite Figure 2.1) (Champod *et al.*, 2017, p. 254). Suite à cette technique, il peut également avoir l'application d'un colorant luminescent tel que le jaune basique 40 pour augmenter le contraste.



Figure 2.1 Exemple de révélations obtenues par la technique de poudre dactyloscopiques fluorescentes (gauche), Cyanoacrylate (centre) et VMD (droite) (Bandey *et al.*, 2014, p. 639, 719).

2.1.2 Les surfaces poreuses

Les surfaces poreuses telles que le papier, le carton et certains tissus absorbent très rapidement les composés des sécrétions solubles dans l'eau. Les composés insolubles dans l'eau peuvent être absorbés après quelques heures ou jours alors qu'une petite partie des composés peuvent rester à la surface un certain temps, des mois voire des années (Champod *et al.*, 2017, p. 194). Ceci fait en sorte que la trace latente est relativement bien protégée contre le frottement. Les techniques de révélation pouvant être appliquées sur ce type de support sont nombreuses. Les techniques généralement recommandées en début de séquence sur des supports poreux sont les révélateurs aux acides aminés (Marriott *et al.*, 2014). Ces révélateurs réagissent avec les acides aminés pour former à la fin du processus un complexe coloré ou fluorescent. Parmi ces révélateurs, on retrouve plus communément la ninhydrine, l'indanedione et la diazafluorenone (DFO). Les acides aminés sont particulièrement intéressants à cibler puisque chaque individu en possède une certaine quantité et cette composition est relativement constante d'un individu à l'autre (Champod *et al.*, 2017, p. 204). De plus, les acides aminés sont très stables et ne migrent presque pas dans le papier. Ainsi, des traces digitales âgées de plus de trente ans ont déjà été révélées à l'aide des techniques ciblant les acides aminés (Involdstad, 1976). L'indanedione permet de donner une fluorescence aux traces digitales (Ramotowski *et al.*, 1997) et cette fluorescence peut être accentuée par un traitement subséquent au zinc (Stoilovic *et al.*, 2007). Le DFO permet également de donner une fluorescence aux traces digitales (Lemon, 1989; Brennan, 1989) alors que la ninhydrine donne une coloration pourpre (Oden et Von Hofsen, 1954). Le révélateur physique (PD) est un autre révélateur efficace sur les surfaces poreuses (Morris et Goode, 1974). Il est généralement appliqué en fin de séquence suite aux révélateurs ciblant les acides aminés (Bandey *et al.*, 2014). Il cible des composés insolubles dans l'eau qui persistent sur le papier tels que les protéines et lipoprotéines (Salma *et al.*, 2008). Le révélateur physique met en œuvre une réaction d'oxydoréduction, où l'argent sous l'état d'oxydation +1 est réduit par le

fer ferreux. Les particules d'argents métalliques formées se déposent ensuite sélectivement sur le dépôt des crêtes digitales. En effet, une première couche d'argent se dépose sur toute la surface, puis celles déposées sur les crêtes de la trace digitale forment un site de nucléation pour la déposition d'autres particules d'argents (processus autocatalytique). La déposition des particules d'argent permet de visualiser la trace digitale après révélation d'une couleur gris sombre. Le processus est relativement plus complexe et plusieurs agents sont ajoutés à la solution de révélation pour permettre une déposition stable de l'argent métallique sur les traces digitales (Champod *et al.*, 2017, p. 225-228). Le support doit aussi être préalablement neutralisé dans une solution d'acide maléique pour éviter une déposition d'argent trop importante sur le support, ce qui nuirait à la révélation due à un manque de contraste.

Ainsi, plusieurs techniques de révélations peuvent être appliquées dans une séquence logique selon le type de surface en question (voir Figure 2.2). Une détection optique est toujours faite avant l'application de techniques de révélations. Cette étape consiste à appliquer une lumière à différentes longueurs d'onde et à différentes orientations afin de photographier des traces qui pourraient déjà être visibles. La détection optique permet l'enregistrement et la conservation de ces traces déjà visibles qui pourraient être altérés par les techniques de révélations.

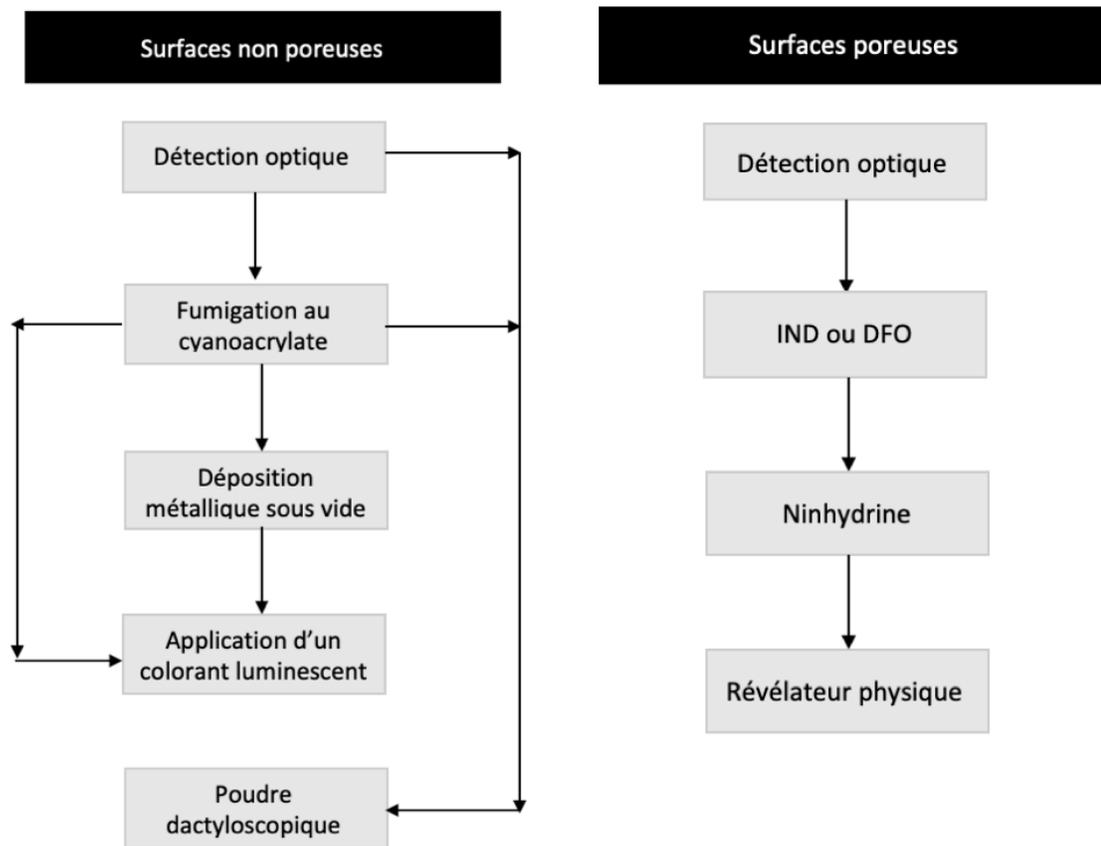


Figure 2.2 Séquences de révélation recommandées selon le type de surface (Champod *et al.*, 2017, p. 233 et 258).

2.1.3 Surfaces ayant été soumises à l'eau

Un autre facteur important à considérer pour le choix des techniques de révélation est les conditions dans lesquelles la trace digitale a été conservée avant d'être retrouvée sur une scène d'investigation. Entre autres, si la surface sur laquelle se retrouve la trace digitale a été soumise à l'eau, plusieurs techniques s'avèrent alors inefficaces. Pour les surfaces non poreuses, le cyanoacrylate donne de moins bons résultats et les poudres dactyloscopiques sont inefficaces lorsque la surface a été mouillée (Champod *et al.*, 2017, p. 237 et 258). On recommande alors dans de telles circonstances d'utiliser le réactif aux petites particules (SPR – small particle reagent) ou la suspension de poudre

épaisse. Le SPR cible les composés des sécrétions sébacées insolubles dans l'eau et est une technique de saupoudrage liquide s'appliquant par vaporisateur ou immersion. La technique traditionnelle consiste à mettre en suspension dans l'eau de petites particules de disulfure de molybdène (Goode et Morris, 1983) via l'action d'un détergent (Bandey *et al.*, 2014, p. 657). Les particules de détergent forment une micelle autour du disulfure de molybdène, lui permettant d'être en solution dans l'eau. La micelle est déstabilisée lorsqu'elle interagit avec les crêtes de la trace digitale, permettant au disulfure de molybdène d'interagir avec les composés sébacés et de s'y déposer, colorant la trace digitale gris sombre (Bandey *et al.*, 2014, p. 657). Plusieurs formulations de SPR sont disponibles, le disulfure de molybdène peut être remplacé par du carbonate de zinc pour avoir une révélation blanche (Frank et Almog, 1993). L'ajout d'une solution éthanolique de jaune basique 40 permet d'avoir une révélation fluorescente (Springer et Bergman, 1995). Ces différentes formulations permet d'avoir une révélation noire, blanche ou fluorescente pour assurer un contraste entre la trace et le support en utilisant la technique de SPR. Pour la suspension de poudres épaisses, la technique était originalement proposée pour la révélation des traces digitales sur les côtés adhésifs (Burns, 1994). Ce n'est que plus tard que la technique s'est avérée efficace sur une multitude de surfaces non poreuses (Auld, 2004). Il n'y a pas eu d'étude détaillée sur le fonctionnement de cette technique, mais il est porté à croire qu'elle fonctionne d'une façon similaire au SPR (Bandey *et al.*, 2014, p. 645). De l'oxyde de titane peut également être utilisé plutôt que l'oxyde de fer pour une révélation blanche (Wade, 2002). La suspension de poudres épaisses est plus efficace sur des traces âgées alors que le SPR est plus efficace sur des traces fraîches (Bandey *et al.*, 2014, p. 629 et p. 646). Pour les surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau, les techniques ciblant les acides aminés s'avèrent inefficaces puisque ces composés sont solubles dans l'eau. L'alternative généralement recommandée est donc d'utiliser une méthode ciblant les lipides, tel que le révélateur physique. La Figure 2.3 illustre la séquence recommandée selon le type de surface lorsque celle-ci a été soumise à l'eau.



Figure 2.3 Séquences de révélation recommandées pour les surfaces soumises à l'eau (Champod *et al.*, 2017, p. 233 et 258).

2.2 Intérêt du projet

Nous avons vu que le choix des techniques de révélation repose essentiellement sur la connaissance des composés qui peuvent recouvrir nos doigts et le type de support sur lequel se retrouve la trace digitale. Nous avons vu également que peu importe le type de support, il y a la possibilité d'obtenir une révélation fluorescente. Cette dernière est particulièrement intéressante puisqu'elle augmente le contraste entre la trace et le support, ce qui permet une meilleure visualisation de la trace digitale. Toutefois, les révélation fluorescentes se font plus rares lorsque nous avons une surface poreuse qui a été soumise à l'eau. En effet, les révélateurs aux acides aminés qui permettent une fluorescence sont inefficaces dans de telles conditions, puisque les acides aminés sont solubles dans l'eau. La méthode généralement recommandée lorsque la surface a été mouillée est l'utilisation du révélateur physique (Champod *et al.*, 2017; Bandey *et al.*, 2014) qui donne une révélation gris sombre.

Le révélateur physique ne permet toutefois pas en une seule étape d'obtenir une révélation exploitable sur les surfaces sombres dues à un manque de contraste. De plus, cette technique est relativement complexe et laborieuse, ce qui décourage souvent son utilisation (Beaudoin, 2004). Contrairement aux surfaces non poreuses où une multitude de techniques simples et efficaces sont disponibles même si la surface a été

soumise à l'eau, il n'en n'est pas de même pour les surfaces poreuses. Les surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau étaient d'ailleurs une problématique jusqu'à l'introduction du révélateur physique en 1970. En effet, avant 1970, il n'existait pas de méthode fiable pour révéler les empreintes sur des supports poreux ayant été mouillés (Holder *et al.*, 2011, p. 163). Le révélateur physique reste à lui seul inefficace sur les surfaces sombres. Le développement d'une méthode fluorescente ciblant les lipides (c.-à-d. une version fluorescente de l'Oil Red O ou Zn-hydroxyquinoline) pourrait permettre de pallier non seulement la problématique de contraste, mais également d'offrir une méthode plus simple d'utilisation.

2.3 Les révélateurs lipidiques

Pour les supports ayant été mouillés, les composés des sécrétions pouvant être ciblés pour la révélation des traces digitales sont ceux qui sont insolubles dans l'eau (DNHS). Il existe plusieurs révélateurs qui ciblent la partie DNHS et qui sont résumés dans le Tableau 2.1. À noter que le SPR et la suspension de poudres épaisses (techniques recommandées pour les surfaces non poreuses soumises à l'eau) n'ont pas été intégrés dans le Tableau 2.1 puisqu'ils ont suffisamment été discutés plus haut. Le tétroxyde d'osmium et le tétroxyde de ruthénium, qui sont des réactifs spécifiques aux lipides, n'ont pas été intégrés dans le Tableau 2.1. En effet, ces méthodes sont classées de catégorie F selon le FVM (Bandey 2014, p. 341 et 343) (procédés qui ne doivent pas être utilisés pour des raisons de santé et de sécurité). À noter que les techniques de catégories A selon le FVM (Fingermark Visualisation Manual) sont des processus qui ont été largement évalués par le Home Office et qui sont considérés comme suffisamment efficaces. Les techniques de catégories B sont des processus établis connus pour être généralement moins efficaces que d'autres et qui n'ont pas été entièrement évalués par le Home Office. Finalement, les techniques de catégories C sont des processus à un stade de développement présentant un potentiel (Bandey *et al.*, 2014).

Tableau 2.1
Résumé des différents révélateurs lipidiques

Nom du révélateur	Type de surface ^a	Fluorescence	Révélation	Avantages	Désavantages
Noir de soudan ^c	NP	Non	Bleu noir	Catégorie A selon le FVM ^b ; Efficace sur des traces riche en sébum.	Peut causer un important bruit de fond.
Violet de Gentiane	NP, A	Oui	Pourpre (NP) ou (A) $\lambda_{exc.}=577$ nm $\lambda_{em.}=720$ nm	Catégorie A selon le FVM ^b ; Efficace sur des surfaces sombres et claires.	Peut occasionner un important bruit de fond; Formulation à base de phénol est toxique.
Jaune naturel 3 (curcumine)	NP	Oui	$\lambda_{exc.}=480$ nm $\lambda_{em.}=500-650$ nm	Simple, peu dispendieux et non toxique; Fonctionne sur les surfaces sombres.	Classé de catégorie B selon le FVM ^b .
Chélate d'euporium	NP	Oui	$\lambda_{exc.}=350$ nm $\lambda_{em.}=614$ nm	Grand décalage de Stokes; Efficace sur des surfaces fluorescentes de base.	Inefficace sur des traces âgées de quelques jours; Catégorie B selon FVM ^b .
Révélateur physique ^c	P	Non	Gris sombre	Méthode très sensible; Catégorie A selon le FVM ^b .	Peut occasionner un important bruit de fond; Méthode relativement laborieuse et complexe.
Rouge du Nil	P, SP, NP	Oui	Fluorescent $\lambda_{exc.}=515$ nm $\lambda_{em.}=585$ nm	Efficace sur des surfaces foncées; Efficace après révélateur physique; Efficace pour des traces fraîches.	Important bruit de fond fluorescent; Catégorie C selon le FVM ^b ; Technique dispendieuse.
Oil Red O ^c	P, SP	Non	Rouge	Simple, peu toxique et peu dispendieuse; Méthode complémentaire au révélateur physique.	Efficace sur des traces âgées de moins d'un mois; Catégorie B selon FVM ^b .

a : NP= Non poreuse, SP= semi-poreuse, P= poreuse et A = Adhésive.

b : FVM = Fingermarks visualisation manual (Bandey 2014). c : Méthode inefficace sur des surfaces sombres.

2.3.1 Le noir de soudan

Le noir de soudan est un colorant lipidique qui a été introduit au milieu des années 1930. Il fait partie de la famille des colorants azo et a été utilisé pour la coloration de solvant organique, d'encre d'imprimerie, de cires, etc. (Horobin et Kiernan, 2002) La première publication sur l'utilisation de ce colorant pour le développement des traces digitales latentes fut en 1980 par Mitsui *et al.* Le noir de soudan peut causer un bruit de fond important, particulièrement sur des surfaces avec une certaine porosité. De ce fait, il est plus efficace sur des surfaces non poreuses (Bandey *et al.*, 2014, p. 658). Le noir de soudan a été comparé au VMD et au SPR, où ces deux derniers se sont avérés plus efficaces (Pounds et Strachan, 1986). Cette technique de révélation n'est donc généralement pas recommandée comme traitement primaire. Elle est toutefois particulièrement efficace sur des traces riches en sébum ou contaminées par les graisses (contenants de restauration rapide ou les canettes à boires) (Bandey *et al.*, 2014, p. 536). Comme le Tableau 2.1 l'indique, le noir de soudan donne une coloration bleu noir et est donc inefficace sur des surfaces sombres dues à un manque de contraste. Il est inefficace sur des surfaces poreuses puisqu'il donne un bruit de fond trop important, son utilisation est donc davantage destinée aux surfaces non poreuses. Une alternative possible au noir de soudan est le violet de gentiane.

2.3.2 Le violet de gentiane

Le violet de gentiane est utilisé en microbiologie pour la coloration des parois bactérienne afin de mettre en évidence les structures de la paroi (coloration de Gram). La recette originale du violet de gentiane pour la révélation des traces digitales était à base de phénol et fut proposée pour colorer spécifiquement les cellules épithéliales et les composés lipidiques des traces digitales (Knowles et Thomas, 1974; Haylock, 1979). Le violet de gentiane est efficace sur des surfaces adhésives et non poreuses en donnant

une couleur pourpre sombre aux traces digitales. Il est généralement recommandé en fin de séquence suite au VMD, au SPR ou suspension de poudre sur les surfaces non poreuses (Bandey *et al.*, 2014). Il donne des résultats comparables au noir de soudan et les deux techniques peuvent être utilisées en séquence pour cibler des contaminants graisseux des traces digitales (Bandey *et al.*, 2014, p. 236). Le violet de gentiane peut donner des révélations fluorescentes, plus communément sur les surfaces adhésives (Hardwick *et al.*, 1990). Cette fluorescence se fait plus rare sur les surfaces non poreuses. Le violet de gentiane n'est pas recommandé sur les surfaces poreuses et son utilisation est seulement destinée aux surfaces adhésive et non poreuse (Bandey *et al.*, 2014, p. 479).

2.3.3 Le jaune naturel 3 (curcumine)

Un révélateur pouvant être appliqué suite au noir de soudan et au violet de gentiane est le jaune naturel 3 (curcumine). Ce révélateur donne une fluorescence aux traces digitales sur les surfaces non poreuses (Gaskell *et al.*, 2013a). Le jaune naturel 3 migre sur les traces digitales riches en lipides, milieu où il se retrouve plus soluble que la solution à partir de laquelle il est appliqué (Bandey *et al.*, 2018, p. 354). La curcumine s'avère donc particulièrement intéressante pour révéler des traces contaminées par les graisses sur des surfaces sombres où le noir de soudan et le violet de gentiane ne permettraient pas la visualisation (Gaskell *et al.*, 2013a). En effet, grâce à sa luminescence, le jaune naturel 3 peut être un bon produit de remplacement du noir de soudan pour les surfaces non poreuses sombres contaminées par des graisses (Gaskell *et al.*, 2013a). Le jaune naturel 3 pourrait être utilisé en séquence après le noir de soudan pour révéler davantage de traces digitales (Perry et Sears, 2015). Il s'avère de plus une méthode moins toxique que le violet de gentiane, ce dernier étant connu pour être cancérigène (Fitzgerald, 2005). Toutefois, le jaune naturel 3 est plus efficace sur les surfaces non poreuses et n'est pas recommandé sur les surfaces poreuses (Bandey *et al.*, 2014, p. 768).

2.3.4 Le chélate d'euporium

Un autre révélateur utilisé dans les conditions similaires au jaune naturel 3 est le chélate d'euporium (Gaskell *et al.*, 2013b). Le chélate d'euporium permet de donner une fluorescence aux traces digitales sur les surfaces non poreuses et poreuses (Wilkinson, 1999), mais la technique est davantage efficace sur les surfaces non poreuses (Gaskell *et al.*, 2013; Gaskell *et al.*, 2013b). Le chélate d'euporium permet d'observer les traces digitales fluorescentes après la révélation. En effet, une fois absorbées dans les lipides, les molécules d'eau attachées au complexe d'euporium seront remplacées par divers ligands à base de lipides, donnant un complexe fluorescent (Wilkinson, 1999). L'un des avantages du chélate d'euporium est qu'il possède un grand décalage de Stokes (Bandey *et al.*, 2018, p. 344). Le décalage de Stokes se définit comme la différence entre la longueur d'onde d'excitation et d'émission. Le chélate d'euporium peut donc s'avérer particulièrement intéressant pour les supports possédant une fluorescence de base. Le chélate d'euporium est présentement classé de catégorie B selon le FVM. En effet, il peut être utilisé sur des surfaces sombres, où le Noir de Soudan (solvent black 3) et le violet de gentiane seraient inefficaces. Au niveau de l'efficacité, le chélate d'euporium est comparable au noir de Soudan et violet de gentiane. Il pourrait être utilisé en séquence, toutefois, le chélate d'euporium n'a pas suffisamment été testé et comparé pour être classé de catégorie A (Bandey *et al.*, 2018, p. 346). Il est très efficace pour révéler les traces digitales riches en lipides, mais fonctionne moins bien sur des traces déposées naturellement. Également, il peut générer un important bruit de fond et est inefficace sur des traces âgées de plus de quelques jours. La curcumine offre une méthode plus simple et moins dispendieuse (Gaskell *et al.*, 2013a), mais ces deux techniques restent destinées aux surfaces non poreuses seulement.

2.3.5 Le révélateur physique

Le révélateur physique (PD) est une technique, comme décrite plus haut, qui peut être appliquée suite aux révélateurs d'acide aminé puisqu'il cible d'autres composés tels que les protéines et lipoprotéines (Salma, 2008). C'est une technique efficace sur les supports poreux ayant été soumis à l'eau et donne une révélation gris sombre aux traces digitales. Le révélateur physique consiste en une déposition d'argent métallique sélectivement sur les crêtes de la trace digitale et est une technique très sensible. Il a déjà permis de révéler un certain nombre de traces digitales sur un document vieux de 60 ans (Diamante, 2009). Également, il a été démontré que le PD pouvait révéler des traces digitales sur des documents ayant été soumis à des conditions similaires à un incendie (200 °C) (Bleay, 2006). Ces différentes études démontrent que le PD cible des composés dans le dépôt des traces digitales qui sont stables et ceci rend la technique intéressante. Toutefois, elle comporte plusieurs désavantages. La méthode est relativement complexe et comporte plusieurs étapes. En effet, le révélateur physique nécessite la préparation de 4 solutions différentes, soit une solution d'acide maléique, une solution redox, une solution de détergent et une solution de nitrate d'argent (Bandey *et al.*, 2014, p. 582). La solution de redox, de détergent et de nitrate d'argent sont mélangées ensemble dans différentes proportions pour former la solution de travail. Le papier est par la suite trempé dans la solution d'acide maléique, puis dans la solution de travail. À travers la préparation de ces différentes solutions, une attention particulière doit être mise sur la propreté des instruments utilisés pour éviter que l'argent ne soit réduit par des contaminants. De plus, la verrerie contenant la solution de travail doit être déparée de toute imperfection, sinon l'argent s'y déposera. La solution de travail sera alors appauvrie en argent métallique et les révélations seront de moins bonne qualité. La manipulation des supports à révéler doit également être faite avec précaution. Toutes imperfections sur les surfaces peuvent causer la déposition d'argent à ces endroits, nuisant à la révélation. Finalement, la neutralisation des supports dans l'acide maléique peut rendre le document relativement fragile et une

manipulation délicate est nécessaire. Certains supports, tels que le papier très recyclé, peuvent même déchirer suite au traitement à l'acide maléique (Bandey *et al.*, 2014, p. 582-590). De plus, le révélateur physique est à lui seul une méthode inefficace sur les surfaces sombres dues à un manque de contraste. Il existe des traitements subséquents qui permettent de changer la couleur de l'argent en une couleur blanc ou bleu afin d'obtenir un bon contraste sur les surfaces sombres (Bandey *et al.*, 2014, p. 608), mais ce traitement rajoute une étape supplémentaire. Malgré les multiples étapes et précautions minutieuses à prendre pour cette technique, elle reste une méthode recommandée lorsque la surface poreuse a été soumise à l'eau. Elle est une méthode qui a été largement étudiée avec une efficacité éprouvée (catégorie A selon le FVM). Tel qui le sera présenté dans les sections 2.3.6 et 2.3.7 suivantes, les recherches se sont beaucoup concentrées dernièrement au développement d'une méthode pouvant remplacer le révélateur physique.

2.3.6 Le rouge du Nil

Le rouge du Nil (NR-Nile red) fut initialement utilisé comme colorant biologique fluorescent pour les lipides intracellulaires (Greenspan *et al.*, 1985). Ce n'est qu'en 1996 qu'il fut introduit pour la révélation des empreintes digitales comme traitement subséquent au cyanoacrylate (Day et Bowker, 1996). Le rouge du Nil a été étudié plus récemment comme alternative à l'Oil Red O et au révélateur physique pour les traces digitales sur les surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau (Braasch *et al.*, 2013). Le rouge du Nil est efficace sur des surfaces poreuses, semi-poreuses et non poreuses et devient fortement fluorescent dans un milieu riche en lipides. En effet, il n'est pas fluorescent dans les solvants polaires, mais le devient dans des solvants non polaires comme les lipides (Bandey *et al.*, 2018, p. 360). Il permet de donner une fluorescence aux traces digitales qui sont riches en sébum. Le NR permet d'avoir de bons rehaussements pour les traces fraîches et riches en sébum, mais le révélateur physique (PD) donne de meilleurs résultats pour des traces âgées et naturelles. De ce fait,

le rouge du Nil devrait être appliqué après les développeurs physiques, en fin de séquence (Braasch *et al.*, 2013). Le NR a également été comparé au Noir de Soudan et à l'ORO sur des papiers soumis à l'eau. Les résultats ont permis de conclure que le NR et le Noir de Soudan donnaient des résultats similaires, mais que l'ORO permet d'avoir un rehaussement légèrement supérieur (Dhakal, 2013). Le rouge du Nil pourrait être envisagé lorsqu'une révélation fluorescente sur des surfaces poreuses soumises à l'eau est nécessaire (c.-à-d. surface foncée où le révélateur physique serait inefficace) (Bandey *et al.*, 2018, p. 361). Cependant, la technique n'est pas encore optimale. En effet, il est classé de catégorie C selon le FVM, car il n'a pas été suffisamment étudié et comparé (Bandey *et al.*, 2018, p. 360). De plus, la technique est relativement dispendieuse et elle est inefficace sur des traces âgées de plus de quelques jours (Beadoin 2012). Le rouge du Nil peut procurer un bruit de fond relativement important. Une version modifiée du rouge du Nil a été proposée par Braasch en 2013 où de bonnes révélations étaient possibles sur des empreintes âgées jusqu'à 1 mois. Une version moins dispendieuse du rouge du Nil (le bleu du Nil) a également été proposée par Frick *et al.* en 2014 et davantage de recherche sur cette version est à venir.

Les surfaces non poreuses soumises à l'eau ne sont donc pas à première vue une problématique. Le SPR et la suspension de poudre épaisse sont des techniques efficaces et elles offrent différentes alternatives pour fonctionner sur les surfaces foncées. De plus, le violet de gentiane peut être utilisé suite à ces techniques et offre la possibilité de fonctionner autant sur des surfaces claires que foncées. Finalement, d'autres révélateurs luminescents tels que le chélate d'euporium et le jaune naturel 3 (qui ciblent tous deux des composés DNHS) assurent une efficacité sur les surfaces non poreuses foncées soumises à l'eau. On ne retrouve toutefois pas ces mêmes alternatives pour les surfaces poreuses. En effet, tel que présenté, le révélateur physique est actuellement la méthode recommandée pour les surfaces poreuses soumises à l'eau, mais n'offre pas la possibilité d'être fluorescent et est, de plus, relativement complexe. Une méthode pouvant être utilisée en séquence avec le révélateur physique est le rouge

du Nil, qui offre la possibilité d'obtenir une révélation fluorescente. Le rouge du Nil possède toutefois plusieurs désavantages et la méthode n'est pas encore optimale. Une technique simple et complémentaire au révélateur physique est l'Oil Red O (ORO). Ce révélateur, qui est décrit plus en détail dans la prochaine section, procure une méthode simple et efficace pour la révélation des traces digitales sur les supports poreux ayant été mouillés (Beaudoin, 2004). Cependant, il possède un désavantage commun au révélateur physique. En effet, il est inefficace sur des surfaces sombres dues à un manque de contraste. C'est pourquoi nous voulons développer une version fluorescente de l'Oil Red O. De plus, un révélateur fluorescent permet non seulement d'optimiser le contraste sur les surfaces sombres, mais également sur des surfaces multicolores ou avec motifs. Ceci pourrait permettre le développement d'une technique supplémentaire pour les surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau. De plus, les techniques fluorescentes se font rares dans de telles conditions, d'où l'intérêt du projet.

2.3.7 L'Oil Red O

L'Oil Red O (ORO), également connu sous le nom de solvant red 27 ou encore Sudan Red 5B, est un colorant azoïque très liposoluble (Bandey *et al.*, 2018, p. 427). L'ORO a largement été utilisé pour la coloration des lipides neutres et les esters de cholestérols en microscopie (Mehlem *et al.*, 2013). Il a également été utilisé comme colorant dans l'industrie des cires, des huiles et des graisses (Bandey *et al.*, 2018, p. 427). L'Oil Red O a été suggéré comme un colorant lipidique pour la première fois en 1926 par French et utilisé pour la première fois en 1927 par Proescher (French, 1926) (Proescher, F. 1927). La raison pour laquelle l'ORO colore spécifiquement les lipides hydrophobes est due à un processus de solubilité préférentielle (Horobin, 1988, p. 31, 41 et 98). En effet, la structure chimique de l'ORO est essentiellement non polaire, il est donc soluble dans les milieux lipidiques. L'Oil Red O est d'abord placé dans une solution où il est partiellement soluble (méthanol/eau) et se transfère de façon préférentielle dans

les milieux lipidiques, telle une trace digitale, colorant ainsi le milieu. La force qui explique ce transfert est en fait l'augmentation d'entropie et l'effet hydrophobe (Horobin, 1988, p. 31, 41 et 98), rendant le processus de coloration favorable du point de vue thermodynamique. Ce processus sera expliqué plus en détail à la fin de la section 3.1.1.

L'Oil Red O fut initialement étudié en criminalistique par le PSDB (Police Scientific Development Branch) pour la révélation des empreintes digitales sur les surfaces non poreuses (Sutcliffe, 2000). Dans cette étude, plusieurs colorants lipidiques ont été comparés afin de trouver une alternative au noir de soudan, mais ce dernier s'est avéré le plus performant sur les surfaces non poreuses testées (Bandey *et al.*, 2018, p. 427). L'ORO a également été étudié pour la révélation des empreintes de lèvres sur des surfaces poreuses (Castello *et al.*, 2002). Dans cette étude, trois colorants lipidiques étaient comparés (l'ORO, le Sudan III, et le noir de soudan) et appliqués de deux façons différentes, soit sous forme de poudre et en solution. L'étude conclut que le noir de soudan a donné les meilleurs résultats pour la révélation d'empreintes de lèvres, suivi de l'Oil Red O, puis du Sudan III, autant pour l'application en poudre qu'en solution. C'est en 2004 que Beaudoin introduit une formulation de l'Oil Red O pour le développement des empreintes digitales sur des surfaces ayant été soumises à l'eau. Cette technique fut apportée dans le but de trouver une alternative au révélateur physique. La formulation de l'Oil Red O proposée dans cette étude consistait en trois étapes simples, soit la coloration, la neutralisation ainsi qu'une étape de séchage. La surface poreuse est d'abord trempée dans une solution de méthanol, d'eau et d'Oil Red O durant 90 minutes. Cette solution a un pH légèrement basique et la pièce est donc par la suite neutralisée dans une solution tampon à un pH de 7 afin de stabiliser la révélation. La surface est finalement séchée à l'air libre ou à l'étuve à 50 °C. Dans cette étude, plusieurs surfaces furent testées et l'ORO s'est avéré efficace sur des surfaces poreuses, voire semi-poreuse en donnant une coloration rouge foncé.

L'ORO procurait une méthode plus simple et facile contrairement au révélateur physique pour la révélation des empreintes digitales sur des surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau. L'ORO et le révélateur physique ont donc été grandement comparés dans plusieurs études (Rawji et Beaudoin, 2006; Salama *et al.*, 2008). Les études concluent que l'Oil Red O est efficace pour des traces âgées de moins de quatre semaines sur les supports poreux, mais que le révélateur physique donne de meilleurs résultats sur des traces plus âgées déposées naturellement (pas particulièrement riche en sébum). En effet, l'ORO s'avèrerait être une technique complémentaire plutôt qu'une technique de remplacement au révélateur physique. Il ciblerait des lipides éphémères et fragiles alors que le PD ciblerait des composés insolubles dans l'eau qui sont davantage persistants à travers le temps (Frick *et al.*, 2012). D'ailleurs, les deux techniques s'intègrent bien en séquence. En effet, selon l'étude menée par Guigui et Beaudoin en 2007, la séquence DFO → Ninhydrine → ORO → PD permettrait de révéler davantage de traces digitales que celle omettant l'ORO (DFO → Ninhydrine → PD). Les résultats permettent de conclure que l'Oil Red O peut être utilisé en séquence sans nuire aux résultats. Quelques modifications ont été proposées à la formulation originale de l'Oil Red O. Entre autres, Frick proposa l'utilisation du propylène glycol plutôt que le méthanol, ce qui évite l'utilisation d'une solution tampon (Frick *et al.*, 2012). Beaudoin proposa également en 2012 l'utilisation de la rhodamine 6G suite à l'Oil Red O pour optimiser le contraste sur des supports foncés.

L'Oil Red O et le révélateur physique sont donc deux techniques complémentaires puisqu'ils s'intègrent bien en séquence et qu'ils ciblent des composés différents. De plus, malgré certaines limitations de l'ORO sur les empreintes âgées, il reste l'une des rares méthodes efficaces sur des surfaces poreuses ayant été soumises à l'eau. Il peut d'ailleurs être la meilleure méthode lorsque les empreintes sont reconnues pour être contaminées par des graisses ou riches en sébum (Dhakal, 2013). Finalement, l'Oil Red O reste une bonne alternative lorsque la surface poreuse soumise à l'eau ne peut

pas être traitée avec le révélateur physique (support trop fragile pouvant être détruit par le procédé du PD par exemple) (Bandey *et al.*, 2018, p. 433). Cependant, ces deux méthodes sont connues pour être inefficaces sur des surfaces sombres. En effet, les deux méthodes reposent sur une différence de couleur entre la trace et le support pour une révélation optimale, laquelle est absente lorsque le support est foncé. Nous voulons développer une version fluorescente de l'Oil Red O ciblant les DNHS qui permettrait l'utilisation simple et en une étape d'obtenir des révélations exploitables sur des supports foncés. Ce projet permettrait de développer une méthode alternative supplémentaire pour les supports poreux soumis à l'eau, circonstances dans lesquelles peu de méthodes sont disponibles.

CHAPITRE III

GÉNÉRALITÉ SUR LES COMPOSÉS AZOÏQUES ET LA FLUORESCENCE

3.1 Les composés azoïques et leur synthèse

3.1.1 Généralité sur les colorants azoïques

Un colorant est caractérisé par sa capacité à absorber ou émettre de la lumière dans la région du visible (400-700 nm) (Zollinger, 2003, p. 1). Les colorants peuvent être divisés en deux grandes classes, soit les colorants inorganiques et les colorants organiques. Ces deux classes peuvent être sous-divisées en deux autres classes, soit les colorants synthétiques ou naturels. Les colorants naturels peuvent être obtenus à partir de chauffage ou de broyage d'extraits de matière minérale ou organique et les colorants synthétiques peuvent être obtenus à l'aide de réactions chimiques à partir de matière première telle que les dérivés du pétrole (Benosmane, 2009). Cette sous-division n'est toutefois pas toujours représentative puisque la plupart des colorants naturels sont aujourd'hui produits par synthèse chimique (Zollinger, 2003, p. 1). Une différenciation plus significative entre les colorants est qu'ils sont soit des pigments ou des colorants. Les pigments sont décrits comme étant de petites particules qui sont insolubles dans la solution à partir de laquelle ils sont appliqués. Ils sont donc généralement liés à un autre composé (polymères pour les peintures). À l'inverse, les colorants sont décrites comme étant solubles ou partiellement solubles dans la solution à partir de laquelle ils sont appliqués. Les colorants doivent, contrairement aux pigments, posséder une affinité pour le substrat afin d'être appliquées (Zollinger, 2003, p. 1-2). Les colorants peuvent être classées selon s'ils portent une charge positive ou négative, laissant place à

deux catégories, soit les colorants cationiques ou anioniques. Elles peuvent aussi être classées selon leur structure chimique et on en distingue 22 groupes dont les nitroso, nitro, monoazo, diazo, indophénol, amineketone, pigments inorganiques, etc. Les colorants peuvent finalement être classés selon leur application industrielle. Il existe dix catégories, par exemple les colorants de type dispersé, acide, base, solvant, direct, réactive etc. (Nikfar et Jaberidoost, 2014) Le « Colour Index » a également fait une classification des colorants où un numéro de constitution composé de cinq chiffres et un nom générique leur sont associés. Le nom générique est composé de la catégorie chimique, puis de sa couleur ainsi qu'un numéro d'identification, permettant ainsi d'avoir de l'information rapide sur le composé. L'Oil Red O est un colorant non ionique faisant partie du groupe des diazo (colorant azoïque) et est du type solvant. Il est également appelé « Solvent Red 27 » dans le Colour Index et numéro de constitution est 26 125.

Les colorants azoïques sont des colorants ou des pigments qui peuvent être caractérisés par la présence d'une fonction azo ($R-N=N-R'$) dans leur structure chimique. Ils peuvent détenir plus d'une fois cette fonction et le préfixe mono-, di-, tri-, etc. azo peut être utilisé. La fonction azo est généralement liée à un cycle aromatique tel que le benzène ou naphthalène. Elle peut aussi être liée à une chaîne aliphatique et occasionnellement à des hétérocycles tels que le pyrazole (Zollinger, 2003, p. 166). Les composés azoïques sont de loin la plus grande famille de colorants, étant relativement simples à synthétiser et possédant un coefficient d'extinction molaire grand. Le coefficient d'extinction molaire désigne la capacité d'une solution à absorber la lumière, critère particulièrement intéressant pour les colorants. Les colorants azoïques couvrent une large gamme de propriétés et on les retrouve dans plusieurs catégories d'application industrielle. Le « reactive yellow 17 » (voir **1** Figure 3.1) par exemple est un colorant azoïque qui fait partie de la catégorie des colorants réactives, où un lien covalent est formé entre le substrat et la molécule **1** pour la coloration. L'« acid red 1 » (voir **2** Figure 3.1) est un colorant azoïque faisant

partie des colorants acides (ou des colorants anioniques). Dans les applications des colorants acides telles que la coloration des fibres synthétiques en polyamide, le processus se fait dans une solution faiblement acide (pH 2-6) et le colorant se dépose sur le substrat par force électrostatique. Le « disperse orange 3 » (voir **3** Figure 3.1) est un colorant azoïque qui fait partie de la catégorie des colorants dispersées. À l'inverse des colorants acides, le disperse orange 3 est peu soluble dans l'eau, ce qui lui permet d'être mis en suspension dans une solution aqueuse et d'être appliqué entre autres sur des fibres synthétiques (Zollinger, 2003, p. 194-202). Finalement, l'Oil Red O (voir Oil Red O **4** Figure 3.1) fait partie de la catégorie des colorants de type solvant. Ces colorants sont solubles dans les solvants organiques tels que le benzène, les huiles et les graisses étant donné leur structure essentiellement non polaire. Ils sont donc utilisés pour la coloration de matériel non polaire tels que le polyéthylène, le polypropylène et les cires.

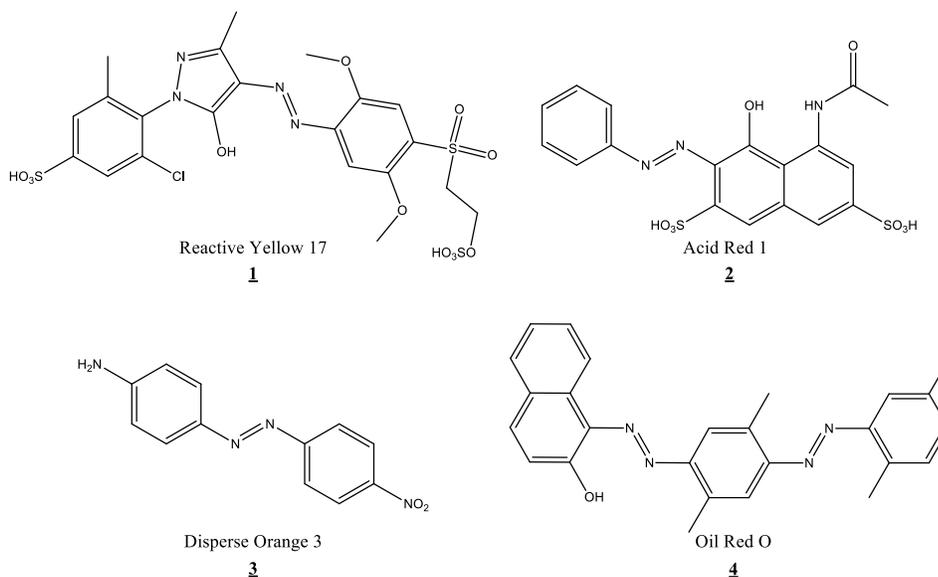
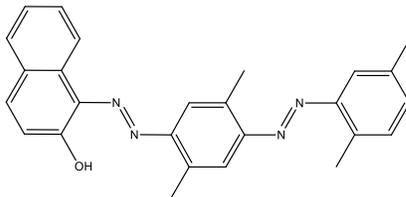


Figure 3.1 Structures chimiques de quelques colorants azoïques.

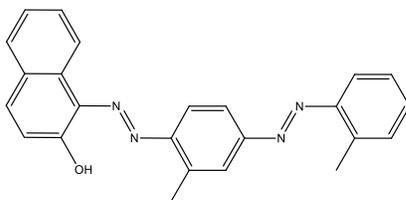
L'Oil Red O est un colorant de type diazo qui absorbe à une grande longueur d'onde (518 nm dans le toluène), il donne donc une couleur rouge foncé au matériel non polaire (Horobin et Kiernan, 2002, p. 128). L'Oil Red O est très liposoluble, dû à sa structure essentiellement non polaire, et il colore donc les milieux lipidiques. Il peut être utilisé pour l'identification des graisses dans l'alimentation (Flint, 1994) ou encore pour la différenciation d'adipocytes dans les cultures (Sorisky *et al.* 1996). L'Oil Red O est généralement appliqué à partir d'une solution aqueuse. Le processus de coloration des milieux lipidiques par l'Oil Red O fait intervenir deux lois de la thermodynamique. Rappelons que les colorants doivent posséder une affinité avec le substrat pour qu'il y ait coloration (contrairement aux pigments). Par exemple, les colorants réactives forment des liens covalents avec le substrat, ce qui cause la coloration. Pour l'Oil Red O, c'est plutôt l'effet hydrophobe et l'augmentation d'entropie qui explique la coloration des milieux lipidiques (Survana et Layton, 2013, p. 159). L'effet hydrophobe est la tendance des molécules non polaires à s'agréger dans un milieu aqueux et à exclure les molécules d'eau (Survana et Layton, 2013, p. 159). Cet effet se produit puisque du point de vue enthalpique, il n'est pas favorable pour un système de briser les liaisons hydrogène qui existent entre les molécules d'eau pour y insérer des molécules non polaires et former des liaisons intermoléculaires faibles. L'effet hydrophobe explique d'ailleurs pourquoi de l'huile et de l'eau ne se mélangent pas, leur mélange nécessiterait un apport en énergie, ce qui n'est pas favorable pour le système. Plus la molécule est non polaire et plus l'effet hydrophobe augmente. L'augmentation d'entropie est la deuxième loi de la thermodynamique qui stipule que tout système tend vers une augmentation du désordre (augmentation d'entropie). La solubilisation de l'Oil Red O dans les milieux lipidiques est un processus favorable du point de vue de la thermodynamique. En effet, l'eau en contact avec une molécule hydrophobe est forcée d'adopter des configurations restreintes pour maximiser ses ponts hydrogènes. Lorsque la molécule hydrophobe, telle que l'Oil Red O, se déplace en milieu organique tel qu'une trace digitale, l'eau n'est plus obligée d'adopter les configurations restreintes. Ceci résulte en une augmentation globale en désordre et en

entropie, ce qui rend le processus avantageux du point de vue thermodynamique (Horobin, 1988, p. 31). L'effet hydrophobe et l'augmentation d'entropie rendent donc le processus de coloration des milieux lipidiques par l'Oil Red O en solution aqueuse favorable du point de vue thermodynamique. L'ORO n'est pas le seul colorant où l'effet hydrophobe et l'augmentation d'enthalpie sont mis en jeu pour le processus de coloration. Le même principe est utilisé pour plusieurs colorants ayant des structures similaires à l'Oil Red O, c'est-à-dire ayant des structures essentiellement non polaires (voir Figure 3.2).



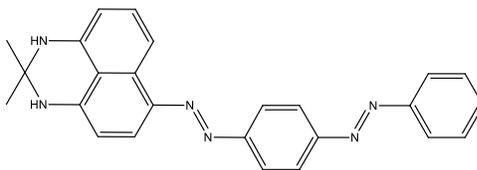
Oil Red O
(Sudan red 5B ou solvent red 27)

4



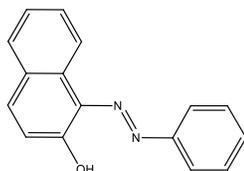
Sudan IV
(Solvent red 24)

5



Sudan black B
(Solvent black 3)

6



Sudan I
(Solvent yellow 14)

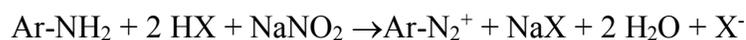
7

Figure 3.2 Différents colorants ayant des structures similaires à l'Oil Red O.

3.1.2 Synthèse des colorants azoïques via diazotation et copulation

La synthèse par laquelle la plupart des colorants azoïques sont synthétisés se compose de deux étapes successives, la première étant la diazotation d'une amine primaire aromatique ou hétéroaromatique (voir Équation 3.1). Normalement, la réaction se produit dans une solution aqueuse à 0-5 °C où l'amine (Ar-NH₂) est convertie en sel de diazonium (Ar-N₂⁺) par l'ajout de nitrite de sodium et d'acide minéral (Zollinger, 2003, p. 166).

Équation 3.1 : Réaction de diazotation d'une amine primaire aromatique.



Le nitrite de sodium doit être utilisé dans des proportions équivalentes à l'amine, sans quoi un excès a tendance à déstabiliser le sel de diazonium formé, alors qu'un excès d'acide doit toujours être utilisé (Fierz -david et Vittum, 1949).

Le mécanisme de la diazotation d'amines aromatique a été élucidé pour la première fois par Hughes, Ingold et Ridd en 1958. En condition d'acide dilué, l'oxygène du nitrite de sodium est d'abord protoné à deux reprises pour donner **10** (voir Schéma 3.1), puis convertit en **11**. X dans le schéma est le contre-ion de l'acide utilisé, soit Cl⁻ pour l'acide chlorhydrique. Toutefois, sous des conditions plus acides, **10** peut simplement perdre H₂O pour donner le réactif N≡O⁺ (Zollinger, 2003, p. 168). Rys décrit plus en détail les étapes de la diazotation d'amine sous des conditions plus acides (Rys, 1996). L'étape déterminante dans la réaction de diazotation est la nitrosation de l'amine aromatique (**11** à **13**). Dans le cas d'amine primaire aromatique simple tel que l'aniline,

le nitrosamine est ensuite rapidement convertie en sel de diazonium (**14** à **18**). Il est important de noter que le sel de diazonium formé (**18**) est très instable. En effet, à de plus hautes températures, il peut y avoir un clivage hétérolytique de la liaison carbone-azote. Cette rupture forme un cation aromatique très réactif qui peut facilement réagir avec le solvant, tel que l'eau, et former un phénol (Zollinger, 2003, p. 169). C'est pourquoi la réaction est normalement maintenue à de basses températures telles que 0-5 °C afin de ralentir la dégradation du produit formé (**18**) lors de cette étape.

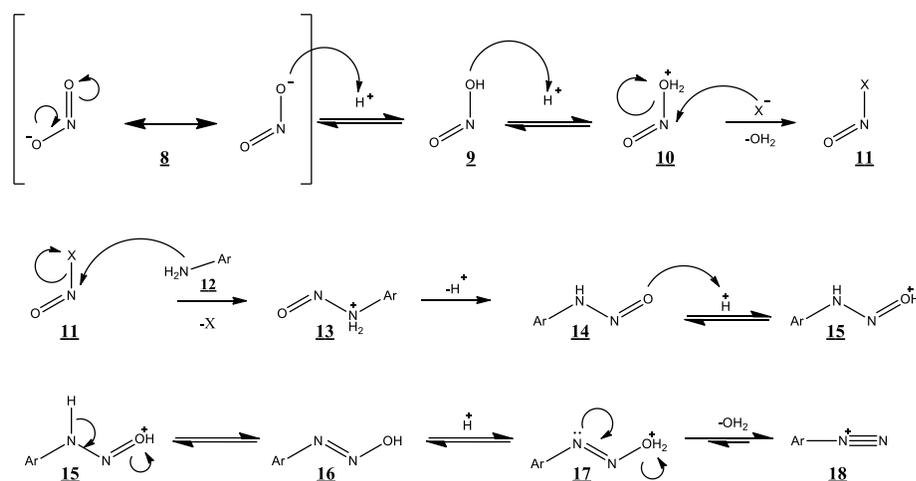


Schéma 3.1 Réaction de diazotation à partir de l'aniline (**12**).

La deuxième étape suivant la synthèse des colorants azoïques est la copulation azoïque. Cette étape consiste à mettre le sel de diazonium (**18**) formé à l'étape précédente avec un agent copulant (**19**) (voir Schéma 3.2) (Zollinger, 2003, p. 176).

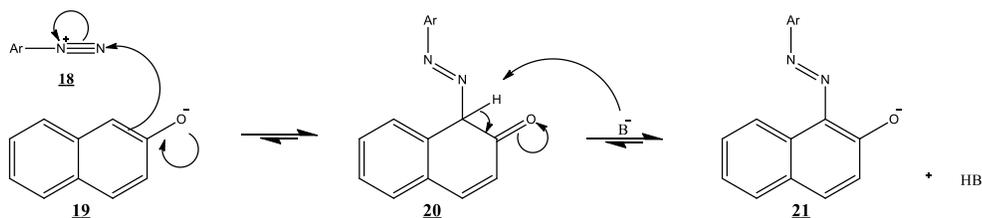


Schéma 3.2 Réaction de copulation azoïque du 2-naphtholate (**19**) (agent copulant) avec le sel de diazonium (**18**).

Le sel de diazonium (**18**) agit durant cette seconde étape comme électrophile alors que l'agent copulant (**19**) agit comme nucléophile. Des carbones activés de chaînes aliphatiques, d'hétérocycle ou encore de cycles aromatiques peuvent être utilisés comme agents copulants (Szele et Zollinger, 1983). Puisque la fonction azo des colorants azoïques est généralement reliée à des cycles aromatiques, seuls ces derniers seront abordés comme agent copulant. Le sel de diazonium est un électrophile relativement faible et ainsi, seulement des cycles aromatiques comportant des groupements électrodonneurs (permettant ainsi d'être suffisamment riche en électrons) peuvent être normalement amenés en réaction (Zollinger, 2003, p. 173). Des substituant tels que $-NR_2$ ou $-OR$ (où R = chaîne aliphatique) peuvent permettre d'enrichir suffisamment le cycle aromatique pour que la copulation ait lieu. Lorsque le substituant est un groupement hydroxyle ($-OH$), l'efficacité de la réaction de copulation dépend essentiellement du pH. En effet, l'utilisation par exemple du 2-naphtholate (**19**) comme agent copulant est un bien meilleur nucléophile que son équivalent protoné (naphthol). L'efficacité de la réaction de copulation est donc meilleure à de plus hauts pH puisque l'espèce déprotonée est favorisée. Le meilleur taux de couplage se situe généralement lorsque le $pH \approx pK_a$ de l'agent copulant. Par exemple, pour le phénol ($pK_a = 9,95$), la réaction de copulation atteint de meilleurs rendements lorsque le $pH \approx 10$ (Szele et Zollinger, 1983). À des pH inférieurs, le taux de couplage diminue linéairement et est inversement proportionnel à l'augmentation de la concentration en ions hydronium (H_3O^+). À de plus hauts pH, le taux de couplage diminue également, puisque l'augmentation de la concentration en ion hydroxyde favorise la dégradation du sel de diazonium en diazoate ($Ar-N=N-O^-$) (Szele et Zollinger, 1983). En effet, l'ion hydroxyde peut lui aussi agir en tant que nucléophile pour réagir avec le sel de diazonium. C'est pourquoi à de plus hauts pH, la réaction de copulation s'avère moins efficace. Il en est de même pour des agents copulant portant une amine primaire telle que l'aniline. La copulation aura de meilleurs rendements à des pH entre 4-9, favorisant l'aniline plutôt que son équivalent protoné (l'anilinium) (Zollinger, 2003, p. 174).

Le couplage se produit où il y a une densité d'électrons accrue, soit en position ortho ou para du groupement électrodonneur de l'agent copulant. Le pH peut être un contrôle non seulement du rendement de copulation, mais également de l'endroit où la copulation a lieu, particulièrement pour les composés naphтол aminosubstitué (Zollinger, 2003, p. 175). Par exemple, pour le 6-amino-4-hydroxynaphtalène (**22**) (voir Figure 3.3), des conditions légèrement acides mènent à une substitution en position 5, alors qu'en condition alcaline, un mélange de substitution en position 1 (position para du groupement hydroxyle) et 3 (position ortho du groupement hydroxyle) est obtenu.

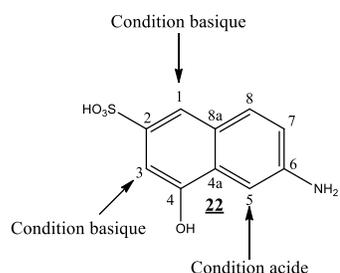


Figure 3.3 Endroits de copulation favorisées selon le pH pour le 6-amino-4-hydroxynaphtalène (**22**) (Zollinger, 2003, p. 175).

Lors de cette étape de copulation, un composé coloré apparaît. Ceci indique la formation du colorant azoïque qui possède un système de conjugaison suffisamment étendu pour absorber dans le visible et ainsi être coloré (notion abordée plus en détail dans la prochaine section).

3.1.3 Relation entre la structure chimique et la couleur

Le spectre électromagnétique visible pour l'œil humain s'étend des longueurs d'onde entre 400 et 700 nm. Selon la longueur d'onde reçue par l'œil, un processus complexe d'information sera transféré et analysé au cerveau et mènera à la perception de la couleur. À titre d'exemple, un objet recevant toutes les longueurs d'onde de la région

du visible et n'en absorbant aucune sera perçu comme blanc par l'œil humain. À l'inverse, un objet recevant toutes les longueurs d'onde et les absorbe tous sera alors perçu comme noir. Si l'objet absorbe une certaine portion de la lumière équivalente sur toute la région du visible, ceci donne lieu à différentes teintes de gris (Zollinger, 2003, p. 1). Les couleurs blanc, noir et gris sont dites des couleurs achromatiques et sont caractérisées par une constante d'absorption sur toute la région du visible (Zollinger, 2003, p. 1). Les couleurs dites chromatiques telles que le violet, le bleu, le vert, le jaune, l'orange et le rouge sont caractérisées par un objet possédant une absorbance maximale à une certaine longueur d'onde. En effet, une radiation de 400, 450, 550 ou 650 nm sera respectivement perçue par l'œil comme étant violet, bleu, vert ou rouge (Champod *et al.*, 2017, p. 138). C'est la combinaison de toutes les longueurs d'onde de la région du visible qui forme le blanc. Cependant, lorsqu'un objet absorbe à une certaine longueur d'onde précise, par exemple 450 nm, toutes les longueurs d'onde seront transmises sauf celles absorbées et c'est ce qui donne lieu à la perception des couleurs chromatiques. Par exemple, un corps ayant une absorbance maximale entre 400-430 nm, 430-480 nm, 480-550 nm, 550-600 nm ou encore 600-700 nm sera perçu respectivement jaune, orange, rouge, violet et bleu (Zollinger, 2003, p. 1). Le cercle chromatique (voir Figure 3.4) aide à établir la relation entre la longueur d'onde absorbée et la couleur perçue. En effet, la couleur perçue par un objet qui absorbe fortement dans le violet sera la couleur complémentaire au violet, soit le jaune.

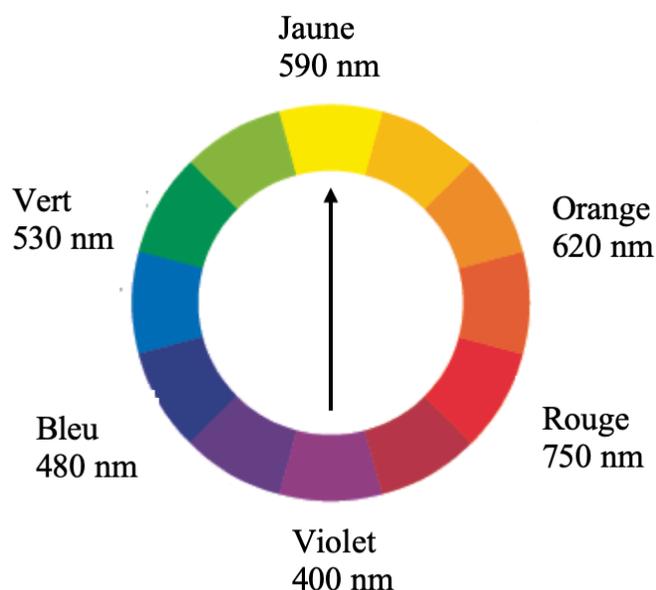


Figure 3.4 Le cercle chromatique, relation entre la longueur d'onde absorbée et la couleur perçue (couleur complémentaire). Adapté de : Guérin-Bodeau et Madani, 2016.

Il est important de noter que la longueur d'onde maximale absorbée dans le visible ne sera pas toujours le seul facteur établissant la couleur perçue. D'autres facteurs tels que l'allure de la courbe d'absorption dans le visible ou encore la sensibilité de l'œil aux différentes longueurs d'onde peuvent également influencer la perception de la couleur (Zollinger, 2003, p. 52). La longueur d'onde maximale absorbée dans le visible reste cependant un bon indice de la couleur qui sera observée.

Un colorant se définit donc comme ayant la capacité à absorber dans la région du visible (400-700 nm). Ce ne sont pas tous les composés qui ont cette capacité et ceci dépend essentiellement de la structure chimique. Pour bien comprendre le processus permettant aux molécules d'être colorées, il est important d'aborder les orbitales moléculaires.

Une liaison chimique est le partage d'une paire d'électrons entre deux atomes via le recouvrement d'orbitales atomiques de chaque atome impliqué dans la liaison. La liaison simple, appelée liaison sigma (σ) est formée par le recouvrement de deux orbitales atomiques s ou hybridés (Sp^3 , Sp^2 , Sp), donnant ainsi lieu à l'orbitale moléculaire σ . Une liaison double est formée d'une liaison σ et d'une liaison pi (π), cette dernière est formée par le recouvrement d'orbitales atomiques p, donnant ainsi lieu à l'orbitale moléculaire π . Les électrons qui sont mis en partage entre deux atomes pour former une liaison chimique occupent l'orbitale moléculaire et sont dits à l'état fondamental. Ils peuvent cependant passer à un état excité via l'absorption d'un photon d'énergie appropriée et cette transition correspond à la promotion d'un électron dans une orbitale moléculaire inoccupée d'énergie supérieure (dites orbitales antiliantes) (Valeur, 2004, p. 11). Il y a plusieurs transitions électroniques possibles selon la position de l'électron impliqué dans la transition (voir Figure 3.5). Un électron dans l'orbitale moléculaire π peut passer à l'orbitale moléculaire antiliante pi (notée π^*) et la transition correspond à $\pi \rightarrow \pi^*$. Un électron dans l'orbitale moléculaire σ peut également passer à cette orbitale moléculaire antiliante et cette transition est notée $\sigma \rightarrow \pi^*$. Cette transition est bien plus énergétique que la transition $\pi \rightarrow \pi^*$. En effet, les électrons dans l'orbitale moléculaire π sont beaucoup plus éloignés du noyau de l'atome contrairement aux électrons de l'orbitale moléculaire σ . La transition vers l'orbitale moléculaire antiliante des électrons dans l'orbitale π nécessite donc moins d'énergie, puisqu'ils sont moins bien retenus par le noyau de l'atome (Zollinger, 2003, p. 22). Des électrons non liés situés sur un hétéroatome peuvent également être promus. Ces électrons non liés sont situés sur une orbitale moléculaire appelée n et la transition électronique est dénotée $n \rightarrow \sigma^*$ ou $n \rightarrow \pi^*$. Dans la Figure 3.5, l'HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) désigne l'orbitale moléculaire occupée de plus haute énergie alors que LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) désigne l'orbitale moléculaire antiliante de plus basse énergie. Dans le bas de la Figure 3.5, les transitions entre les orbitales liantes et antiliantes sont schématisées et l'ordre croissant d'énergie

requis est la suivante :

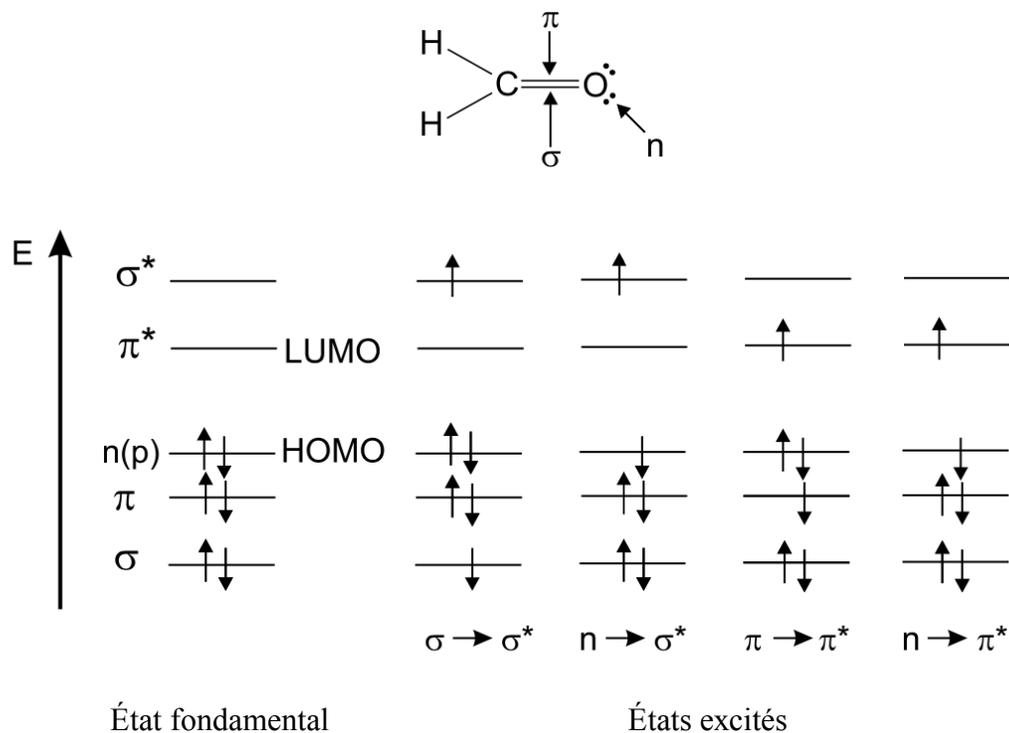
$$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \pi \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$$


Figure 3.5 Les différentes transitions électroniques possibles du formaldéhyde ainsi que leur niveau d'énergie (Valeur, 2004, p. 11). HOMO (Highest Occupied Molecular Orbitals). LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals).

C'est via l'absorption d'un photon possédant l'énergie appropriée que les transitions électroniques entre l'orbitale liante et antiliante peuvent avoir lieu. L'énergie d'un photon est inversement proportionnelle à sa longueur d'onde. Une longueur d'onde se définit comme la distance séparant deux maxima d'une onde monochromatique et possède comme unité les nanomètres (nm). Ainsi, plus la longueur d'onde augmente, plus l'énergie du photon associé est petite. À titre d'exemple, le dihydrogène absorbe à une très courte longueur d'onde en dehors du spectre du visible ($\lambda=160$ nm),

ce qui correspond avec la seule transition possible dans cette molécule, soit $\sigma \rightarrow \sigma^*$, qui est hautement énergétique (Zollinger, 2003, p. 21).

Lorsqu'il y a au sein de la structure chimique une alternance de liaison double et liaison simple carbone-carbone (système dit conjugué), il y a un recouvrement des orbitales moléculaires π qui permet la délocalisation des électrons (effet de résonance) (Valeur, 2004, p. 11). L'énergie de la première transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est d'autant plus faible à mesure que la délocalisation des électrons π est étendue (l'HOMO augmente en énergie alors que la LUMO diminue en énergie) (Valeur, 2004, p. 11). De ce fait, la longueur d'onde absorbée par une molécule sera plus grande à mesure que le système de résonance sera étendu. L'existence d'une séquence suffisamment longue d'alternance de doubles et simples liaisons (appelé également chromophore) peut éventuellement permettre à la molécule d'absorber à de plus grandes longueurs d'ondes (dans le domaine du visible entre 400-700 nm) et d'être ainsi colorée. Cet effet s'illustre bien en comparant les longueurs d'onde maximales d'absorption du benzène (**23**), du naphthalène (**24**), de l'anthracène (**25**), du tétracène (**26**) et du pentacène (**27**) (voir Figure 3.6). En effet, **23** et **24** sont incolores, alors que **25**, **26** et **27** possèdent des systèmes de conjugaisons suffisamment étendus pour pouvoir absorber dans le visible et ainsi être colorés (Valeur, 2004, p. 36; Kafilé, 2019, p. 132).

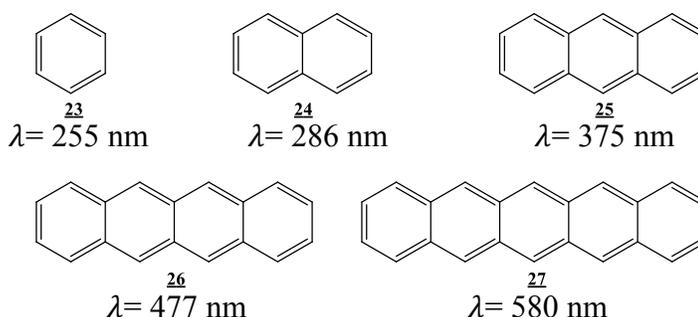


Figure 3.6 Longueur maximale d'absorption de différents systèmes conjugués.

Lorsqu'un substituant relié au groupement chromophore vient changer la longueur d'onde absorbée par la molécule, ce dernier est appelé groupement auxochrome. Lorsque l'auxochrome déplace la longueur d'onde absorbée du chromophore vers l'infrarouge (plus grande longueur d'onde), le déplacement est dit bathochromique, alors qu'un déplacement vers l'ultraviolet est appelé hypsochromique. Les groupements auxochromes peuvent être soit des groupements électroattracteurs, tels que les groupements sulfonique et carbonyle, soit des groupements électrodonneurs tels que les groupements amines ou alcools. La présence d'une paire d'électrons libres sur les atomes d'azotes et d'oxygène peut entrer en résonance avec le système de conjugaison du chromophore. Ceci permet une délocalisation des électrons n et ainsi un changement dans la longueur d'onde absorbée. La paire d'électrons doit être dans le même plan que les électrons π du système de résonance (Valeur, 2004, p. 37). Les électrons libres situés sur l'azote de la pyridine par exemple n'entrent pas en résonance avec le cycle aromatique, car ils ne sont pas dans le même plan que les orbitales π .

3.2 La fluorescence

3.2.1 Processus de relaxation non radiatif et radiatif

La fluorescence est la capacité d'une molécule à absorber la lumière à une certaine longueur d'onde et la réémettre à une plus grande longueur d'onde. La fluorescence a diverses applications telles que le marquage de sécurité sur un passeport ou un billet de banque ou encore pour le dosage de composés. Pour mieux expliquer le processus de fluorescence, le diagramme de Perrin-Jablonski sera nécessaire (Figure 3.7) :

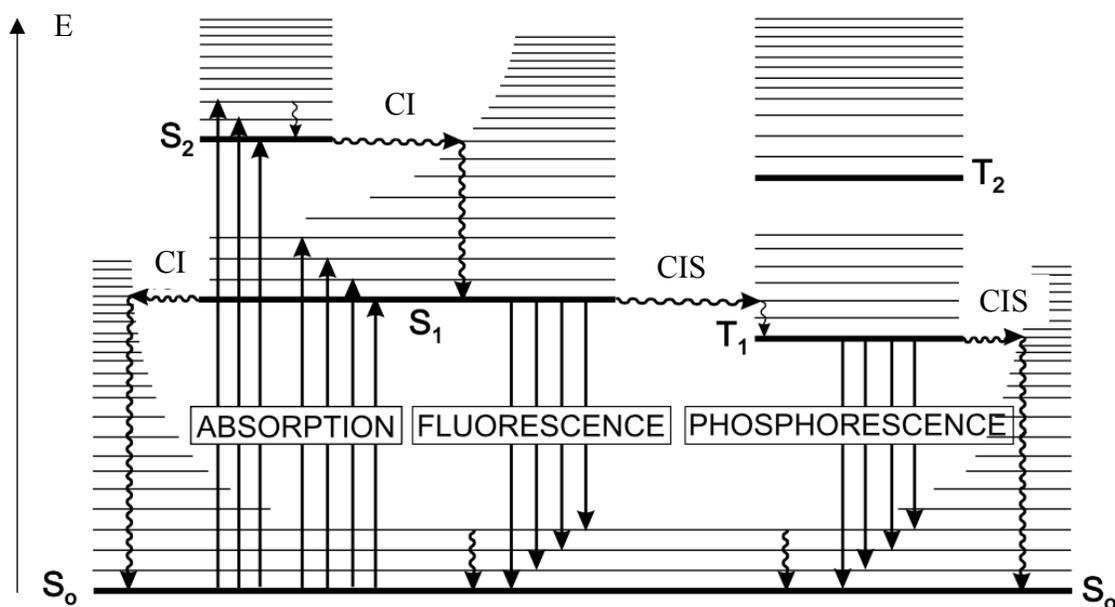


Figure 3.7 Diagramme Perrin-Jablonski (Valeur, 2004, p. 23).

Dans le diagramme de Perrin-Jablonski, l'état fondamental est désigné par S_0 à partir duquel les électrons peuvent être promus vers des états électroniques de plus haute énergie (S_1 , S_2 , etc.). L'électron est amené à l'état excité via le processus d'absorption d'un photon possédant l'énergie correspondant à la transition impliquée ($\lambda_{excitation}$). S_1 désigne l'état électronique excité le plus bas en énergie et S_2 désigne le prochain état excité en énergie. Par exemple, le formaldéhyde (Figure 3.5) à l'état S_1 et S_2 aurait une configuration électronique dite n, π^* et π, π^* respectivement. Il existe deux états excités, l'état excité singulet (désignés par S_1 , S_2 , etc.) et l'état excité triplet (désigné T_1 , T_2 , etc.). Lorsqu'un électron est promu vers une orbitale moléculaire de plus haute énergie (processus d'absorption à la Figure 3.7), son spin est en principe inchangé. Il conserve donc un spin antiparallèle ($\uparrow\downarrow$) par rapport à son électron de paire et la multiplicité des états fondamental et excité reste égale à 1. Ces états sont donc appelés états électroniques singulets (S_0 , S_1 , S_2 , etc.) (Valeur, 2004, p. 10). Cependant, lorsque l'électron est promu vers un état excité, il n'occupe plus la même orbitale moléculaire et la règle d'exclusion de Pauli ne s'applique plus (Zollinger, 2002, p. 21). L'électron

promu dans une orbitale moléculaire de plus haute énergie peut alors subir un passage intersystème (désigné CIS à la Figure 3.7) vers un état où son spin serait changé (vers T_1 par exemple). L'électron aurait alors un spin parallèle ($\uparrow\uparrow$) par rapport à son électron de paire. La multiplicité des états fondamentaux et excités dans ces conditions est alors de trois et l'état est appelé état triplet (désigné T_1 , T_2 , etc.). L'état triplet est toujours de plus basse énergie par rapport à l'état singulet de même niveau (Valeur, 2004, p. 11). Chaque état électronique (S_0 , S_1 et T_1 par exemple) possède des niveaux vibrationnels d'énergie différente représentés par les légers traits horizontaux.

Suite au processus d'absorption, l'électron étant dans un état excité peut subir différents processus de relaxation afin de retourner à l'état fondamental. Il y a d'abord la conversion interne (désigné CI dans la Figure 3.7) qui est une transition non radiative entre deux états électroniques de même multiplicité de spin (Valeur, 2004, p. 22). La conversion interne est souvent suivie d'une relaxation vibrationnelle (flèches oscillantes pointant vers le bas sur la Figure 3.7) durant laquelle l'électron retourne à l'état fondamental (S_0) via la collision de la molécule excitée avec d'autres molécules environnantes telles que les molécules de solvant. Ce processus de relaxation non radiatif conduit la molécule de l'état excité vers l'état fondamental entre 10^{-12} à 10^{-10} seconde. Un autre processus de relaxation possible est la fluorescence. Cette dernière se traduit comme une relaxation radiative où la relaxation de l'état S_1 vers S_0 ($S_1 \rightarrow S_0$) (voir Figure 3.7) est accompagnée de l'émission d'un photon. La fluorescence se produit à partir de l'état S_1 et le photon émis durant la relaxation a une longueur d'onde plus grande que celui impliqué durant l'absorption ($\lambda_{excitation} < \lambda_{émission}$). En effet, il y a des pertes d'énergie par relaxation vibrationnelle entre l'absorption et la fluorescence (Valeur, 2004, p. 23). Le photon émis lors de la fluorescence sera donc toujours de plus faible énergie par rapport au photon impliqué lors de l'excitation. Pour qu'il y ait fluorescence, la durée de vie de l'état excité S_1 doit être entre 10^{-10} et 10^{-7} seconde. Finalement, le croisement intersystème (désigné CIS à la Figure 3.7)

suivi de la phosphorescence est également un processus de désexcitation possible. Le passage intersystème est une transition non radiative entre deux états excités de multiplicité différente ($S_1 \rightarrow T_1$). Cette transition est moins fréquente, mais la présence d'atomes lourds tels que le brome, l'iode ou le plomb peut favoriser ce type de passage (Valeur, 2004, p. 24). À partir de l'état T_1 , la phosphorescence peut ensuite se produire où un photon est émis via ce processus de relaxation. La durée de vie de l'état excité T_1 doit être d'au moins 10^{-6} seconde pour que la phosphorescence ait lieu.

3.2.2 Les différents paramètres favorisant la fluorescence

Ce ne sont pas toutes les molécules qui émettent de la fluorescence. La plupart des molécules ne fluorescent pas lorsqu'elles sont excitées par une source lumineuse, car elles retournent à l'état fondamental via le processus de relaxation le plus rapide, soit généralement une relaxation non radiative (c.-à.-d. conversion interne suivie de relaxation vibrationnelle). Ces processus de relaxation non radiatifs sont généralement plus efficaces qu'une relaxation radiative et ramènent la molécule à l'état fondamental beaucoup trop rapidement pour que la fluorescence ait lieu. En effet, comme expliqué plus haut, le temps de vie de l'état excité doit être d'au moins 10^{-10} s pour qu'il y ait fluorescence. Cependant, les processus de relaxation non radiatifs ramènent normalement la molécule à l'état fondamental dans des temps plus courts (10^{-12} s). Pour qu'il y ait fluorescence, les processus de relaxation non radiatifs doivent donc être suffisamment ralentis pour permettre à la fluorescence de se produire. Il existe certaines conditions où les processus de relaxation non radiatifs deviennent moins efficaces et la fluorescence peut ainsi avoir lieu.

Le premier facteur pouvant favoriser la fluorescence est la température. En effet, l'élévation de la température favorise le mouvement des molécules et les collisions entre elles, entraînant une diminution de la durée de vie de l'état excité (Valeur, 2004, p. 30). Le processus de relaxation vibrationnelle est d'autant plus efficace à de hautes

températures et la fluorescence se voit donc inhiber. Une baisse de température a une tendance à ralentir ces processus de relaxation non radiatifs, pouvant éventuellement favoriser la fluorescence.

Il est à noter qu'il existe plusieurs paramètres environnementaux pouvant favoriser la fluorescence tels le pH ou la pression. La fluorescence peut par exemple dépendre du solvant. En effet, c'est le cas pour les hétérocycles tels que l'acridine (voir Figure 3.8), où la fluorescence est beaucoup plus élevée dans les solvants protiques que dans les solvants non polaires (Valeur, 2004, p. 39).

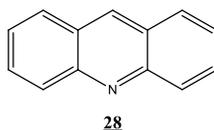


Figure 3.8 Structure chimique de l'acridine (**28**).

La viscosité est également un autre facteur qui peut avoir un impact sur la fluorescence. En effet, les colorants tels que le vert de malachite (**29**) ou encore l'auramine (**30**) (voir Figure 3.9) ont une fluorescence très sensible à la viscosité du solvant (Valeur, 2004, p. 43). Dans des solvants plus fluides, la fluorescence est moins favorisée puisque les groupements aromatiques peuvent faire des rotations internes, procurant des voies de désexcitation non radiationnelles plus efficaces (Valeur, 2004, p. 43). Ces rotations internes sont toutefois plus difficiles dans des environnements visqueux, ce qui ralentit les processus de relaxation non radiatifs et favorise la fluorescence. Certains composés tels que **29** et **30** sont donc fortement fluorescents en milieu visqueux et peu fluorescents en milieu fluide.

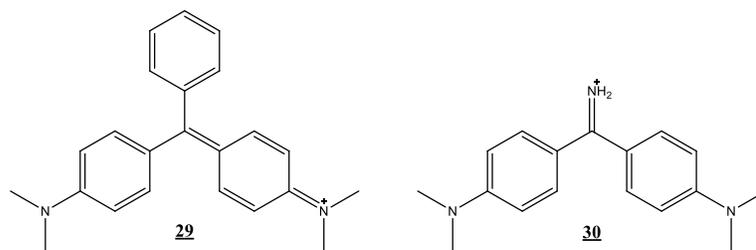


Figure 3.9 Le vert de malachite (**29**) et l'auramine (**30**) qui ont une fluorescence très sensible à la viscosité.

Dans un même ordre d'idées, les rotations internes offrent des voies de désexcitation non radiative supplémentaires, ce qui entre en compétition avec la fluorescence (Valeur, 2004, p. 43). C'est pourquoi la majorité des composés fluorescents organiques ont une structure essentiellement rigide, car autrement, les voies de désexcitation non radiative seraient davantage efficaces (Zollinger, 2002, p. 36). Cet effet s'illustre bien en comparant la phénolphtaléine dianionique (**31**) et la fluorescéine (**32**) (voir Figure 3.10). La phénolphtaléine dianionique (**31**) n'est pas fluorescente, car l'énergie de l'état excité est trop rapidement perdue par la rotation des cycles aromatiques (Zollinger, 2002, p. 36). Cependant, la fluorescéine (**32**), qui a une structure similaire, est une molécule très fluorescente. En effet, dû à l'ajout d'une liaison entre les deux cycles aromatiques, ceci ralentit suffisamment les processus de relaxation non radiatifs dus à la structure plus rigide. La fluorescence a ainsi le temps de se produire.

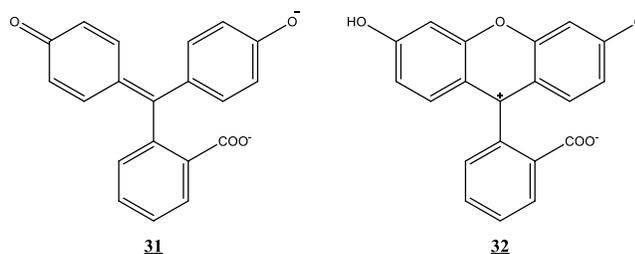


Figure 3.10 Structures de la phénolphtaléine dianionique (**31**) et de la fluorescéine (**32**) en milieu basique.

De même, plus la structure de la molécule est rigidifiée et plus la fluorescence est favorisée. Cet effet s'illustre bien en comparant la rhodamine B (**33**) et la rhodamine 101 (**34**) (voir Figure 3.11). En effet, la rhodamine 101 a un rendement quantique beaucoup plus élevé que la rhodamine B due à l'inclusion des atomes d'azote dans un cycle julolidine qui empêche des voies de désexcitation non radiatives supplémentaires (Valeur, 2004, p. 43 et 44). Le rendement quantique se définit comme le rapport entre le nombre de molécules qui retournent à l'état fondamental via la fluorescence et nombre de molécules totales à l'état excité.

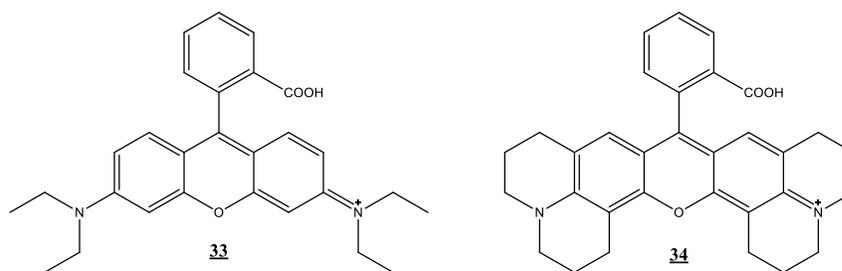


Figure 3.11 Structures de la rhodamine B (**33**) et de la rhodamine 101 (**34**).

3.2.3 Application de la fluorescence pour les composés azoïques

Nous avons vu que la fluorescence est un processus de relaxation qui permet aux molécules de retourner à l'état fondamental via l'émission d'un photon. Ce processus de relaxation est cependant en constante compétition avec les processus de relaxation non radiatifs (conversion interne et relaxation vibrationnelle). Ces derniers doivent être suffisamment ralentis pour que la fluorescence ait lieu. Nous avons vu qu'une baisse de température, un milieu essentiellement visqueux ou encore une structure davantage rigide peuvent augmenter suffisamment le temps de vie de l'état excité pour que la fluorescence se produise. Pour répondre à l'objectif du projet, soit développer une version fluorescente de l'Oil Red O, nous avons établi comme stratégie de rigidifier la structure de celui-ci. En effet, puisque le but du projet est destiné à la révélation des

traces digitales, une baisse de température pour obtenir des révélations fluorescentes rendrait le processus moins opérationnel. Également, la recette de révélation étant déjà optimisée afin d'obtenir un processus de solubilité préférentielle pour cibler le DNHS, créer un environnement visqueux pourrait changer complètement la méthode. Nous voulons donc rigidifier la structure de l'Oil Red O, tout en gardant sa structure essentiellement non polaire afin que la méthode continue à cibler le DNHS des traces digitales.

Rappelons que la recette de révélation des traces digitales a un pH basique (voir section 2.3.7), la forme anionique de l'ORO (**35**) a donc été illustrée à la Figure 3.12. Cette structure laisse place à de multiples rotations internes qui sont bien plus efficaces que la fluorescence. Pour une version fluorescente de l'Oil Red O, nous avons visé comme stratégie de rigidifier la fonction azo (-N=N-) dans la structure de l'Oil Red O. En effet, un pontage entre un cycle aromatique et la fonction azo pourrait ralentir la perte d'énergie trop rapide par rotation interne des cycles aromatiques et éventuellement favoriser la fluorescence (voir **36** Figure 3.12). L'azote de la fonction azo a d'ailleurs un doublet d'électrons libres, il peut donc facilement faire un lien de coordination avec un acide de Lewis (accepteur d'électrons). L'oxygène de la partie 2-naphthol peut de son côté former un lien covalent avec ce même acide de Lewis. Le tout formant un cycle à 6, ce qui est favorisé comme structure. La Figure 3.12 résume la stratégie visée pour une version fluorescente de l'Oil Red O :

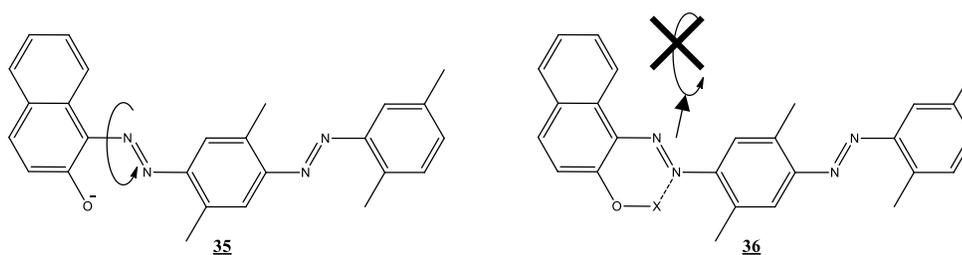


Figure 3.12 Stratégie envisagée pour la rigidification de la structure de l'Oil Red O. X = Acide de Lewis.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS

4.1 Analogues fluorescents de l'Oil Red O

4.1.1 Synthèse d'analogues de l'Oil Red O

Pour développer une version fluorescente de l'Oil Red O, plusieurs analogues de ce dernier ont d'abord été synthétisés. En effet, nous voulons d'abord travailler sur des molécules plus petites (c.-à-d. plus simples) avant d'essayer de rendre l'Oil Red O fluorescent. Les analogues ont été synthétisés via la diazotation-copulation azoïque (voir Schéma 3.1 et Schéma 3.2 à la section 3.1.2). La première étape consistait donc à former le sel de diazonium (voir Schéma 4.1).

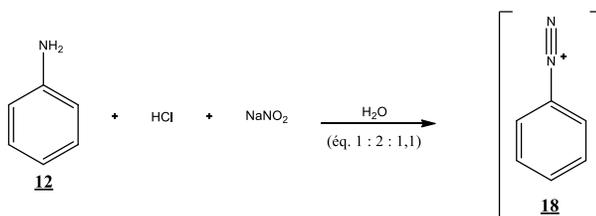


Schéma 4.1 Synthèse du sel de diazonium (**18**) à partir de l'aniline (**12**).

Le sel de diazonium (**18**) a par la suite été mis avec différents phénols (agent copulant) afin de synthétiser les analogues de l'Oil Red O (voir Schéma 4.2). Le paracrésol (**37a**), le 2-naphthol (**38a**) et le 2,6-dihydroxynaphtalène (**39a**) ont respectivement été utilisés comme agent copulant pour synthétiser les analogues, car ils permettaient d'obtenir des structures similaires à l'Oil Red O avec de légères variations. Ces agents copulants

permettent également d'obtenir un seul produit à la fin de la réaction. En effet, la position para est bloquée pour chacun des agents, la copulation se fait donc à un seul endroit, soit en position ortho du groupement hydroxyle (voir Figure 3.3, section 3.1.2). Ceci simplifie la synthèse puisque les produits obtenus peuvent être purifiés par recristallisation. Les structures finales obtenues sont **37** (4-méthyl-2-(phényldiazenyl)phénol), **38** (1-(phényldiazényl)naphthalèn-2-ol) et **39** (1-(phényldiazényl)naphthalèn-2,6-ol) (voir Schéma 4.2). Les rendements de **37**, **38** et **39** sont respectivement de 58-67, 32-68 et 36-43 %. Le rendement dans la littérature de chacun des produits est respectivement de 55 (Marder et Ruderman, 1951), 76 et 31 % (Hristova *et al.*, 2018). Une brève optimisation a permis une augmentation des rendements, se rapprochant ainsi davantage des rendements littéraires. Particulièrement pour le composé **38**, où le rendement a passé de 32 à 68 %. Les pertes de produits peuvent être associées aux diverses manipulations telles que la filtration sous vide afin d'isoler le produit ou encore la purification par recristallisation. En effet, du produit peut rester sur les parois du büchner ou encore passer à travers le filtre et rester dans le solvant de recristallisation, ce qui occasionne des pertes de produits et de moins bons rendements. La partie en rouge des analogues **37**, **38**, **39** et de l'Oil Red O commercial (pour comparaison) (**4**) au Schéma 4.2 représente les parties qui sont similaires entre chacune des structures alors que la partie en noir représente les parties qui diffèrent.

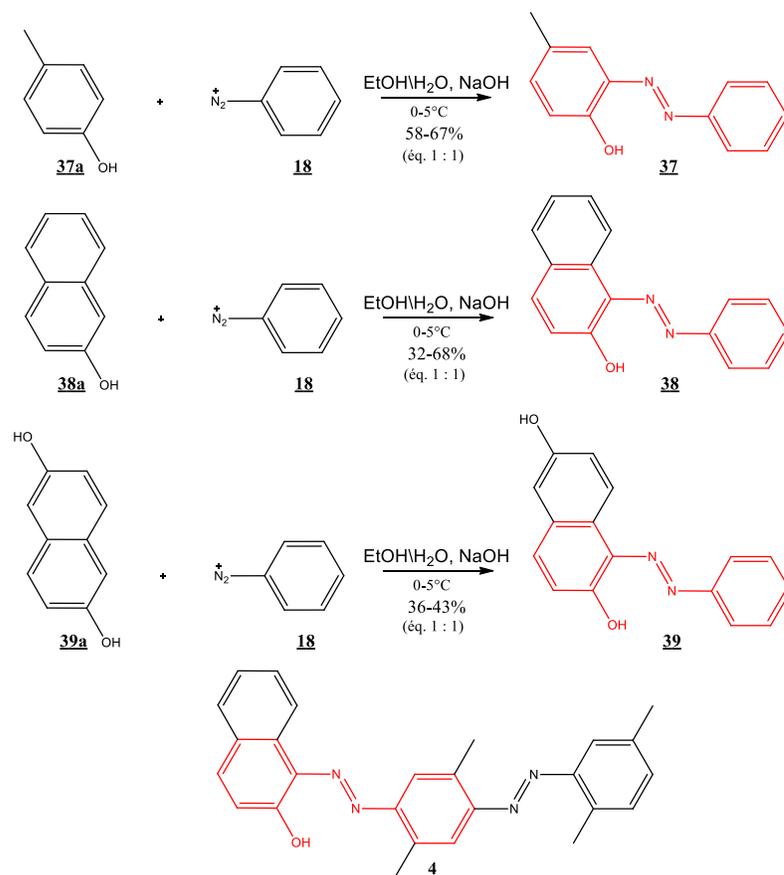


Schéma 4.2 Structure et synthèse des analogues de l'Oil Red O (**37**, **38** et **39**) via la copulation azoïque du sel de diazonium (**18**) avec différents phénols (**37a**, **38a** et **39a**) et l'Oil Red O commercial (**4**).

Suite à la synthèse des analogues, 3 paramètres ont été étudiés à travers les 4 structures pour mieux en comprendre la relation structure-activité de l'Oil Red O (voir section suivante 4.1.2). Nous voulions d'abord mieux comprendre en quoi la structure chimique de l'ORO lui permet de si bien fonctionner pour la révélation des traces digitales. La couleur et la liposolubilité ont donc été des paramètres étudiés, puisqu'ils ont un impact direct sur la révélation des traces digitales. En effet, la liposolubilité est importante puisque c'est ce critère qui permet au révélateur de cibler le DNHS des traces digitales (voir section 3.1.1). Également, la couleur du révélateur est importante puisqu'elle détermine la couleur qu'aura la trace digitale suite à la révélation.

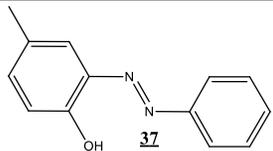
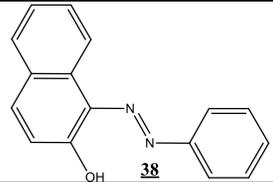
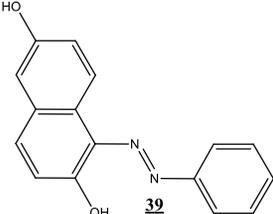
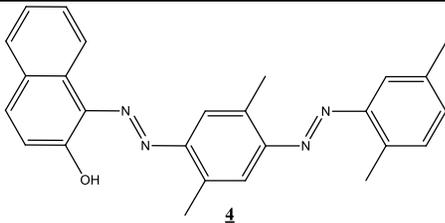
La fluorescence a également été étudiée afin de savoir si un analogue fluorescent avait déjà été synthétisé à cette étape.

4.1.2 Relation structure-activité de l'Oil Red O

Pour l'étude de la couleur de chaque analogue et de l'Oil Red O, ceux-ci ont été placés dans l'acétonitrile et le pH de ces solutions a été ajusté à 8 et à 13 à l'aide d'un pH-mètre et de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium ou de phosphate de potassium. Le solvant devait solubiliser les différents analogues et également les solutions aqueuses pour l'ajustement de pH, c'est pourquoi l'acétonitrile a été choisi pour ces tests. Le spectre d'absorption UV-visible a été pris de 200 à 800 nm pour chaque solution et la longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{\max}) a été notée dans le Tableau 4.1. La couleur des cases des colonnes 2 et 3 dans le Tableau 4.1 correspond à la couleur de la solution en question lorsqu'elle a été préparée. La liposolubilité de chacun des analogues a été évaluée de façon qualitative en regardant si ceux-ci étaient solubles dans l'octane et a été notée dans le Tableau 4.1. Finalement, la présence ou non de fluorescence pour chacun des composés solubilisés dans l'octane a également été notée dans le Tableau 4.1. L'octane a été choisi pour ces derniers tests puisqu'il pouvait bien simuler le DNHS des traces digitales.

Tableau 4.1

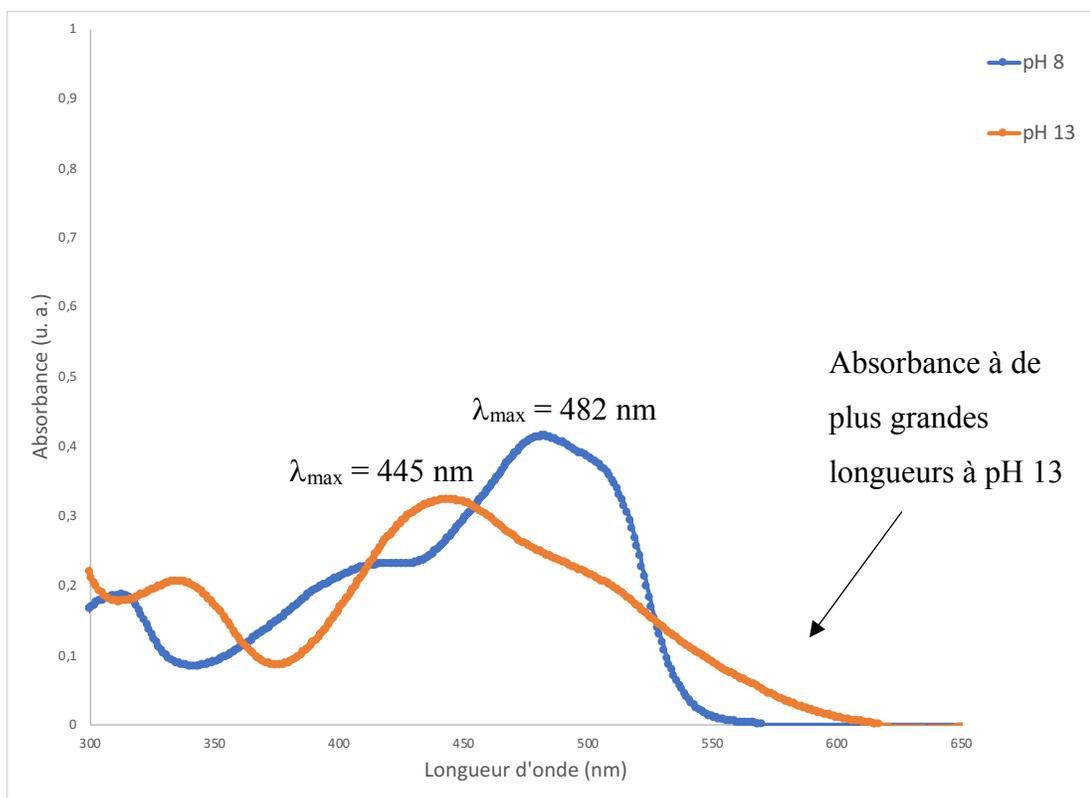
Couleur, liposolubilité et fluorescence des analogues et de l'Oil Red O

Structures chimiques	λ_{\max} absorption (nm) pH=8	λ_{\max} absorption (nm) pH=13	Liposolubilité	Fluorescence
 37	385	482	Grande	Aucune
 38	482	445	Grande	Aucune
 39	508	565	Faible	Aucune
 4	519	543	Grande	Aucune

Il est possible de remarquer en comparant les λ_{\max} d'absorptions à pH 8 des différents composés que les valeurs augmentent du haut vers le bas de la colonne. Cette tendance reflète bien la théorie expliquée à la section 3.1.3, où l'ajout de conjugaison au sein de la structure augmente la longueur d'onde absorbée. À titre d'exemple, le composé **38** absorbe à une plus grande longueur d'onde (482 nm) que le composé **37** (385 nm) dus à la partie 2-naphthol de **38** qui possède plus de conjugaison que la partie paracrésol de **37**. De plus, il est intéressant de comparer les λ_{\max} des composés **38** et **39**, où l'ajout d'un 2^e groupement hydroxyle sur la structure a permis de faire passer le λ_{\max} d'absorption de 482 nm à 508 nm. Comme attendu, le groupement hydroxyle a donc un effet bathochromique (voir fin de la section 3.1.3) sur la longueur d'onde absorbée. Il est possible de voir que l'Oil Red O (**4**) est celui qui absorbe à une plus grande longueur d'onde (519 nm) étant donnée la présence d'une forte conjugaison et d'un groupement hydroxyle dans sa structure chimique.

Une autre tendance intéressante à observer est la couleur des cases de haut en bas de la colonne 2. En effet, comme expliqué au début de la section 3.1.3, la longueur d'onde maximale absorbée dans le visible influence la couleur perçue. Il est possible de remarquer que la couleur perçue à pH 8 des différents analogues passe du jaune vert, au jaune, puis au rose-rouge. Ceci est en relation avec la longueur d'onde d'absorption qui est de plus en plus grande et ainsi, la couleur perçue se déplace vers le rouge. Aussi, les longueurs d'onde absorbées et les couleurs perçues présentées dans la colonne 2 du Tableau 4.1 concordent bien avec le cercle chromatique présenté à la Figure 3.4. Par exemple, le composé **37** absorbe près du violet (385 nm), la couleur complémentaire serait donc le jaune, voir le jaune vert selon le cercle chromatique présenté à la Figure 3.4, ce qui est effectivement le cas selon la couleur de la case dans le Tableau 4.1. Également, l'Oil Red O **4** absorbe dans la région du jaune vert (519 nm), la couleur perçue serait donc le rouge selon le cercle chromatique, ce qui est également le cas selon la couleur de la case.

Il est également intéressant d'observer les différences entre la colonne 2 et 3, où le λ_{\max} d'absorption a tendance à augmenter lorsque le pH augmente. En effet, à des pH plus basiques, le groupement hydroxyle de chacun des composés se déprotone, ce qui a un effet bathochromique sur la longueur d'onde maximale absorbée et conséquemment, la couleur perçue change. Ceci s'illustre bien en comparant les λ_{\max} à pH 8 et 13 du composé **37**, où la longueur d'onde absorbée passe de 385 à 482 nm. La couleur perçue change en passant du jaune vert au orange, se déplaçant ainsi vers le rouge sur le cercle chromatique (voir Figure 3.4). De même, il est intéressant de voir que **39** et l'Oil Red O (**4**) passe de 508 nm et 519 nm à 565 et 543 nm respectivement. La couleur perçue change également, passant du rouge au violet. Le composé **38** a cependant une tendance légèrement différente, où le λ_{\max} passe de 482 à 445 nm, mais la couleur perçue se déplace tout de même vers le rouge. Ceci peut cependant être expliqué par la forme de la courbe d'absorption. En effet, comme expliqué au début de la section 3.1.3, la longueur d'onde maximale absorbée n'est pas le seul facteur qui influence la couleur perçue. En regardant la courbe d'absorption du composé **38** à pH 8 et 13 (voir Graphique 4.1), il est possible de voir que même si le λ_{\max} diminue, la courbe d'absorption à pH 13 s'étale beaucoup plus loin dans le visible (absorbe à de plus grandes longueurs d'onde). Ceci explique le changement de couleur de jaune à orange lorsque le pH devient plus basique. En somme, pour les révélations de traces digitales, une solution davantage basique aura tendance à donner une couleur différente aux traces digitales, se déplaçant vers le rouge, voire le violet sur le cercle chromatique.



Graphique 4.1 Courbes d'absorption de l'analogue **38** à pH 8 (bleu) et 13 (orange).

La liposolubilité de chacun des analogues et de l'Oil Red O a également été évaluée. Elle a été évaluée de façon qualitative en regardant si ceux-ci étaient solubles dans l'octane. L'octane est un hydrocarbure composé de 8 carbones, pouvant ainsi bien simuler le DNHS des traces digitales. Il est intéressant de noter que les composés **37** et **38** sont, tout comme l'Oil Red O, solubles dans l'octane. Le composé **39** n'est cependant pas soluble dans l'octane. En effet, l'ajout d'un deuxième groupement hydroxyle rend la structure trop polaire pour que le composé soit soluble dans un milieu non polaire tel que les milieux lipidiques ou l'octane. Le composé **39** est donc à première vue un analogue moins intéressant pour la révélation des traces digitales ciblant le DNHS. Finalement, comme attendu, il n'y a aucun composé qui présente pour l'instant de fluorescence dans l'octane. C'est justement l'objectif de la prochaine

section, soit de rigidifier la structure des différents composés afin d'obtenir éventuellement de la fluorescence.

En somme, ces différentes tendances nous aident donc à comprendre que la présence de 4 groupements aromatiques au sein de la structure de l'Oil Red O (**4**) interrelié par la fonction azo lui permet d'absorber à une grande longueur d'onde et d'ainsi avoir une couleur rouge foncé. Il est intéressant de comprendre que le groupement hydroxyle a un effet bathochromique sur la longueur d'onde absorbée, ce qui contribue également à la couleur rouge foncé de l'Oil Red O. Le groupement hydroxyle permet aussi d'obtenir une couleur différente se déplaçant vers le rouge mauve à de plus hauts pH. Finalement, la structure essentiellement non polaire de l'Oil Red O (**4**) avec la présence d'un seul groupement hydroxyle lui permet d'être soluble dans les milieux non polaires tels que les graisses et donc de cibler le DNHS des traces digitales. Les composés **37** et **38** sont à première vue des structures intéressantes pour une version fluorescente de l'Oil Red O, alors que le composé **39** est moins intéressant étant donné sa structure trop polaire.

4.1.3 Rigidification de la structure

4.1.3.1 Complexes métalliques

La première tentative pour la rigidification de la structure afin de favoriser la fluorescence a été la synthèse de complexes avec des métaux. Nous avons d'abord essayé avec l'analogue **38** puisque des complexes métalliques avaient déjà été synthétisés avec ce même analogue (Ferreira et Oliveira, 2017). Le bis-1-(phényl-azo)-2-naphtholatecuivre(II) (**40**), le bis-1-(phényl-azo)-2-naphtholatenickel(II) (**41**) et le tris-1-(phénylazo)-2-naphtholatecobalt(III) (**42**) ont donc été synthétisés (voir Schéma 4.3).

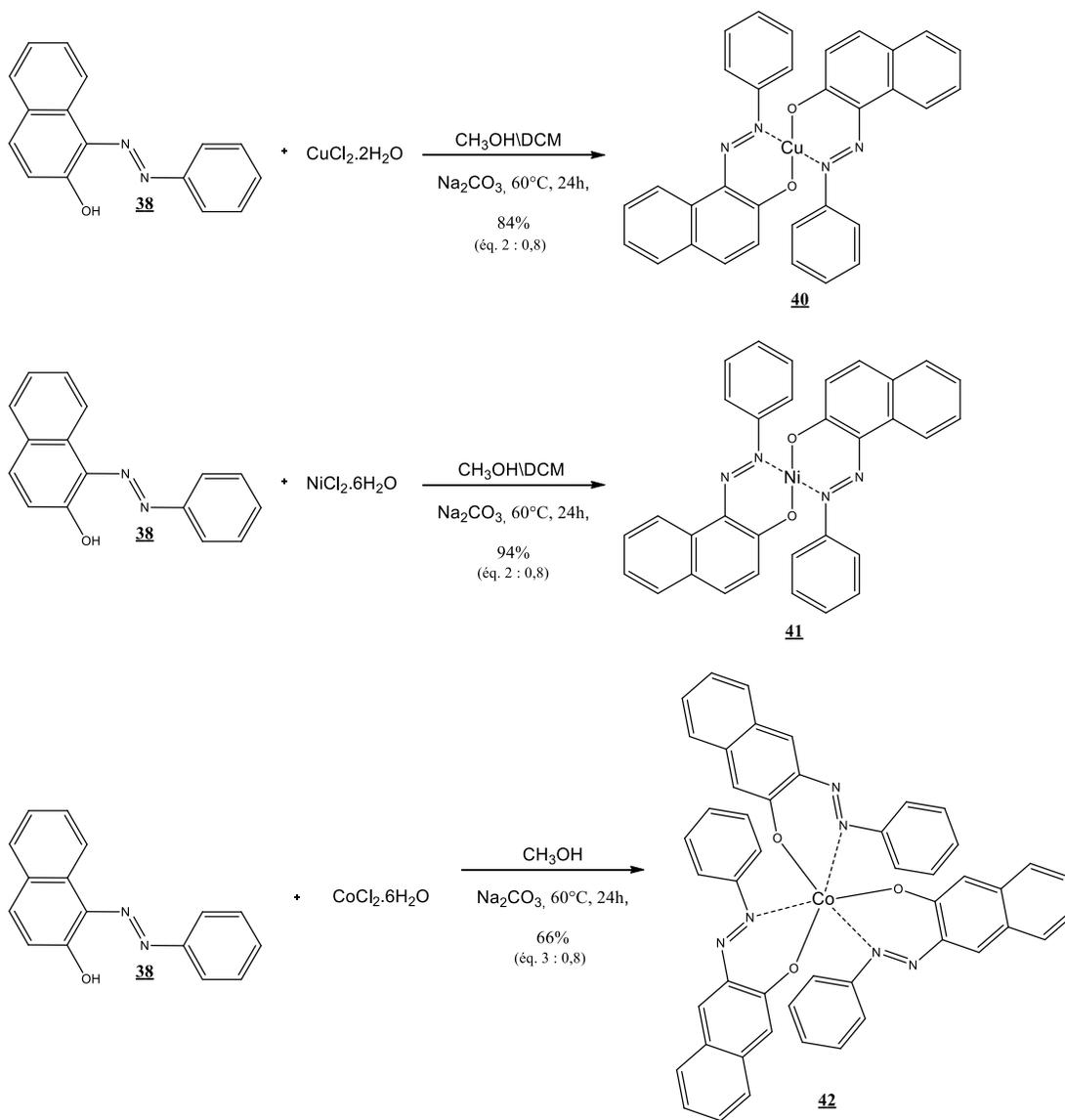


Schéma 4.3 Complexes métalliques de cuivre (II), cobalt (III) et nickel (II) synthétisés à partir du 1-(phenyldiazenyl) naphthalen-2-ol (**38**).

Les composés **40**, **41** et **42** ont respectivement un rendement de 84, 94 et 66 %. Les rendements littéraires sont respectivement de 67, 78 et 62 %. Le composé **40** était pratiquement insoluble dans la plupart des solvants, tels que le dichlorométhane, l'éthanol, et l'octane. Ceci est donc peu intéressant en tant qu'analogue de l'Oil Red O pour la révélation des traces digitales puisque, comme expliqué à la section 2.3.7,

l'ORO colore les traces digitales par un processus de solubilité préférentielle. Il serait donc difficile de développer une version fluorescente de l'Oil Red O basé sur un processus de solubilité préférentielle avec le composé **40** si celui-ci est peu soluble dans la plupart des solvants. Le composé **40** s'avèrerait donc peu intéressant pour le développement d'une version fluorescente de l'Oil Red O. Le composé **41** était partiellement soluble dans l'octane et dans l'éthanol alors que le composé **42** était soluble dans l'octane et l'éthanol. Cependant, aucune fluorescence n'a été détectée dans l'octane. Les complexes avec les métaux étaient donc à première vue une avenue moins intéressante pour le développement d'une version fluorescente de l'Oil Red O puisque certains présentaient une faible solubilité dans des solvants organiques et qu'ils n'ont pas présenté de fluorescence. Le chlorure d'euporium (EuCl_3) a également été essayé avec l'analogue **38** dans les conditions utilisées pour la synthèse des analogues **40**, **41** et **42**. En effet, comme présenté à la section 2.3.4, le chélate d'euporium est un complexe fluorescent utilisé pour la révélation des traces digitales, il s'avèrait donc intéressant de voir si l'analogue **38** pouvait former un complexe avec l'euporium et être fluorescent. Cependant, la réaction n'a pas semblé former de complexe métallique (seulement le produit de départ a été retrouvé dans le milieu réactionnel). Également, aucune fluorescence n'a été détectée dans le milieu réactionnel après reflux de 24 h. Étant donné les premiers résultats peu encourageants des complexes métalliques, nous n'avons pas essayé de former ces complexes métalliques avec l'analogue **37** et l'Oil Red O.

4.1.3.2 Ajout d'une source de bore.

Une autre méthode essayée pour rigidifier la structure des analogues et de l'Oil Red O et ainsi favoriser la fluorescence était l'ajout d'une source de bore. En effet, il a été rapporté dans la littérature la synthèse d'azobenzènes fluorescents par l'ajout d'une source de bore, soit le Bis (pentafluorophényl)-borane (Yoshino *et al.*, 2010). Dans cette étude, les auteurs mentionnent que le lien formé entre l'azote de la fonction azo et le bore rigidifie suffisamment la structure pour que le processus de relaxation radiatif devienne plus efficace que celui non radiatif (voir **44** Schéma 4.4). Plusieurs azobenzène fluorescents ont été synthétisés dans cet article tel que le 2-(boryloxy)azobenzène (**44**) à partir du 2-hydroxyazobenzène (**43**) (voir Schéma 4.4) (Yoshino *et al.*, 2010). Le composé **44** est fluorescent, avec un λ_{abs} à 474 nm et $\lambda_{\text{émis}}$ à 576 nm (Yoshino *et al.*, 2010).

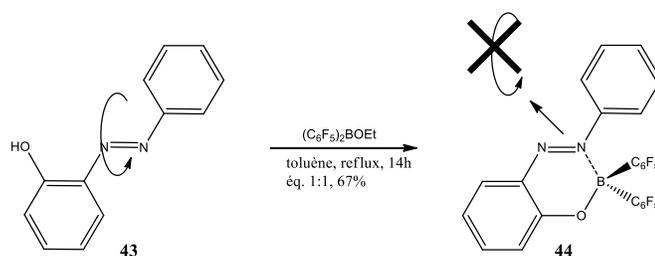


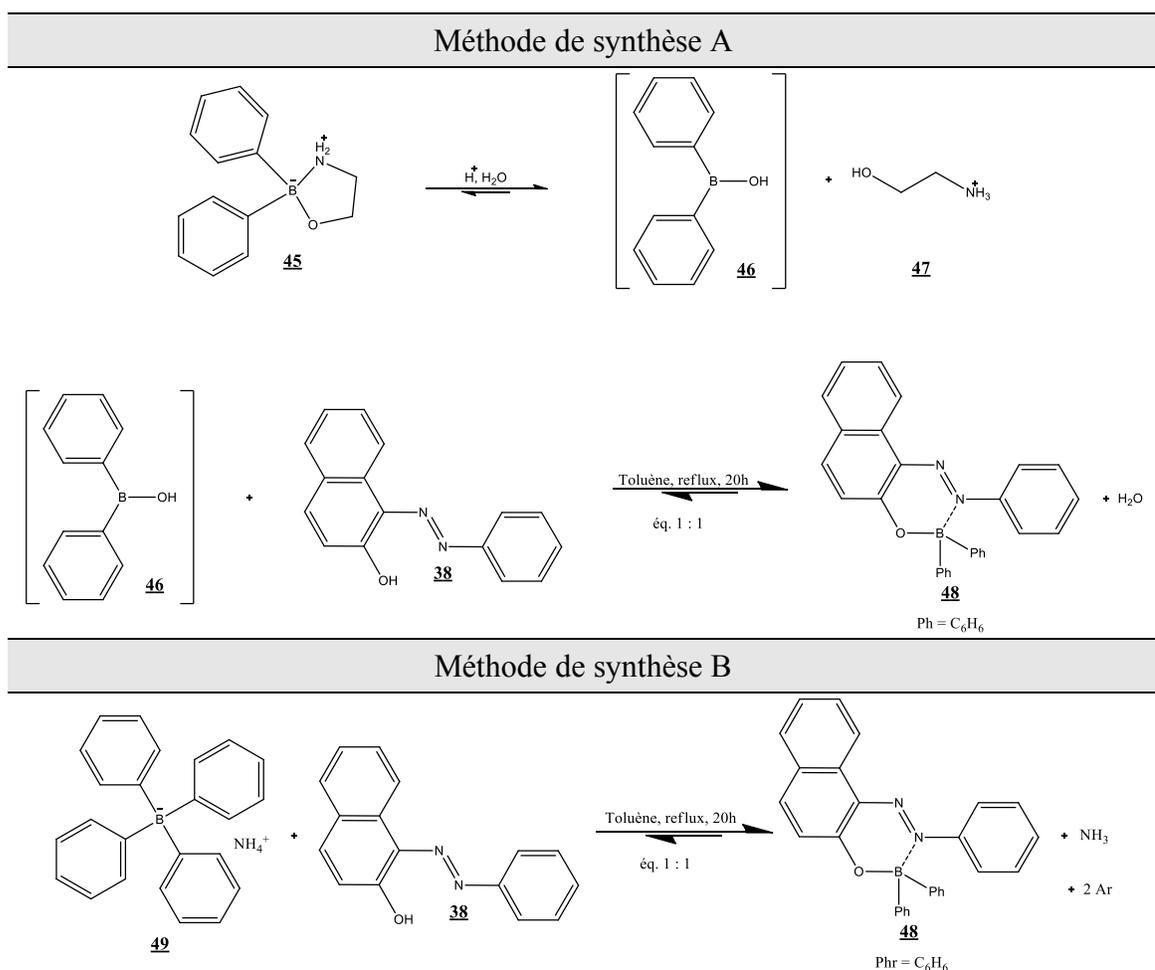
Schéma 4.4 Synthèse du 2-(boryloxy)azobenzène (**44**) à partir du 2-hydroxyazobenzène (**43**).

L'ajout d'une source de bore s'avérait donc une avenue intéressante pour le développement d'une version fluorescente de l'Oil Red O. Puisque la source de bore utilisée par les auteurs Yoshino *et al.*, 2010 était dispendieuse, nous avons débuté avec une autre source de bore plus accessible. L'ajout de la source de bore a d'abord été fait sur l'analogue **38**, car il était encore une fois le plus commun dans la littérature. En effet, Bessler *et al.*, 2005 ainsi que Hohaus et Wessendorf, 1980 ont rapporté la synthèse du (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**) et des analogues similaires. Nous nous sommes donc fiés sur ces articles pour reproduire la synthèse et obtenir potentiellement

un analogue fluorescent. Deux méthodes de synthèses ont été utilisées pour l'ajout d'une source de bore sur l'analogue **38** et elles sont résumées au Tableau 4.2 suivant :

Tableau 4.2

Résumé des deux méthodes de synthèses pour la préparation de (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**)



Dans la méthode de synthèse A, l'acide diphénylborinique (**46**) peut être préparé à partir du 2-aminoéthyl diphénylborinate (**45**) solubilisé dans un minimum d'acétone et de méthanol légèrement acide selon la méthode de Singh, 2014. En effet, en condition acide, l'azote se protone, ce qui occasionne un bris hétérolytique du lien entre l'azote

et le bore. Ce dernier ayant une case quantique libre peut ensuite facilement se faire hydrolyser, produisant la chaîne éthanolamine protonée (**47**) et l'acide diphénylborinique (**46**). Ce dernier étant instable est rapidement isolé par des extractions d'éther diéthylique et lavé avec des portions d'eau saline. L'éther diéthylique est évaporé pour récupérer (**46**). 1 mmol de ce dernier peut ensuite être mise avec **38** (1 mmol) dans 30 mL de toluène à reflux durant 20 h pour former le (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48** via la méthode A). Ce dernier est ensuite isolé par évaporation du toluène et recristallisé dans le méthanol. Cette méthode fut inspirée des auteurs Yoshino *et al.*, 2010 et Bessler *et al.*, 2005, qui ont synthétisé des composés similaires à **48**, mais qui utilisaient une source de bore différente. Il n'y a pas de rendement rapporté pour la méthode A, car contrairement aux auteurs Yoshino *et al.*, 2010 et Bessler *et al.*, 2005, le produit **48** obtenu de cette méthode n'était pas pur. En effet, un mélange de **38** et **48** était obtenu et **48** n'a pas pu être isolé seul. Plusieurs essais ont été faits afin de purifier **48** de la méthode A. Nous avons d'abord travaillé sur la source de bore utilisé, car elle pouvait être la cause de la réaction incomplète. Entre autres, l'acide diphénylborinique (**46**) n'était initialement pas isolé et était directement mis en réaction avec **38**. Nous avons donc isolé **46** afin de confirmer que le bon produit était formé et que celui-ci n'avait pas d'impureté. Le spectre H¹ RMN de **46** concordait avec la littérature (Singh, 2014). L'évaporation à sec de **46** a également été évitée en ajoutant du toluène au fur et à mesure que l'éther diéthylique s'évaporait. Ceci pouvait permettre d'éviter la dégradation de l'acide diphénylborinique (**46**). Ce dernier a également été mis en excès par rapport à **38** (éq. 2 : 1) afin de consommer complètement **38** et d'obtenir **48** pur. Tous ces essais ont été tentés, mais sans succès, un mélange de **38** et **48** était constamment obtenu via la méthode A. Différentes conditions de reflux ont également été essayées toujours dans la méthode A afin d'obtenir **48** pur. Entre autres, plutôt que le toluène comme solvant de réaction, un mélange de benzène : éthanol (1 : 1) ainsi qu'une recristallisation à quatre reprises dans un mélange d'éthanol : benzène (4 : 1) a été essayé tel que certains auteurs effectuaient pour obtenir le même composé (c.-à-d. **48**) (Hohaus et Wessendorf,

1980). L'utilisation d'un Dean-Stark ou encore de CaH_2 durant le reflux pour retirer l'eau du milieu réactionnel a également été essayée. En effet, puisque la réaction de la méthode A produit de l'eau, le fait de retirer cette dernière du milieu réactionnel pousse l'équilibre de la réaction vers les produits, ce qui favoriserait la consommation de **38** et la formation de **48**. Ces différentes conditions réactionnelles n'ont pas permis d'obtenir **48** pur. Finalement, la purification de **48** via la méthode A par colonne chromatographique a également été essayée. L'éluant utilisé a été un mélange de dichlorométhane et d'hexane (20 : 80), mais les deux composés (**38** et **48**) n'ont pas pu être séparés, dû à une polarité très (trop) semblable. De plus, il était possible de remarquer avec les couleurs que **48** semblait se dégrader en **38** sur la silice de la colonne chromatographique. En effet, **38** est d'une couleur jaune telle qu'illustrée dans le Tableau 4.1 alors que **48** est d'une couleur plutôt rouge foncé (voir Tableau 4.3). Il était possible de voir au cours de la migration sur colonne chromatographique une traînée orangée suivant la tache correspondant à **48**, comme s'il y avait dégradation de celui-ci en **38**. Ces hypothèses furent confirmées plus tard et sont expliquées plus loin dans cette section et à la section 4.1.4. Voyant que la méthode A ne permettait pas l'obtention d'un produit pur, une deuxième méthode a été essayée. La méthode B consistait en l'utilisation d'une autre source de bore, soit l'ammonium tétraphénylborate (**49**) tel qu'effectué dans la littérature selon les auteurs Bessler *et al.*, 2005. 1 mmol de **49** et 1 mmol de **38** sont placées dans 25 mL de toluène à reflux durant 20 h. Il est possible de confirmer que la réaction a bel et bien lieu à l'aide d'un papier pH placé au-dessus du reflux. En effet, il y a dégagement d'ammoniac (NH_3) au cours de la réaction, et ce dégagement rend le papier pH bleu puisque le composé est basique. Le solvant est ensuite évaporé et le précipité est recristallisé dans le méthanol pour obtenir **48**. Il n'y a pas de rendement rapporté pour la réaction à la méthode B puisque le produit récupéré était impur (mélange de **38** et **48**) contrairement à Bessler *et al.*, 2005. Au cours de la réaction, le papier pH devenait bleu, ce qui nous indiquait qu'il y avait bel et bien réaction puisque de l'ammoniac était dégagé. Cependant, le produit récolté était impur. Plusieurs autres tentatives ont été essayées afin de purifier **48**.

Entre autres, la réaction a été laissée à reflux durant près de 77 h, soit jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement d'ammoniac selon le papier pH. Un deuxième équivalent d'ammonium tétraphénylborate (**49**) a également été mis par rapport à **38** (2 : 1) afin de consommer complètement le produit de départ et obtenir **48** pur, mais sans succès. La réaction a également été tentée dans le xylène pour chauffer davantage. En effet, Bessler *et al.*, 2005 mentionnent que **49** et **38** sont chauffés à reflux dans le toluène à 125 °C. Pourtant, le toluène a une température d'ébullition de 110 °C, alors la réaction a été tentée dans le xylène pour chauffer davantage (139 °C), mais sans succès. En somme, les méthodes A et B n'ont jamais permis d'obtenir le composé **48** pur. Les différentes analyses au ^1H RMN indiquent que le composé **48** contient entre 10 et 20 % de contamination par **38**. En effet, il était possible selon différents signaux en ^1H RMN d'évaluer le pourcentage de contamination de **48** par **38** (voir Figure 4.1 Évaluation de la contamination de **48** par **38** par intégration des signaux ^1H RMN.)

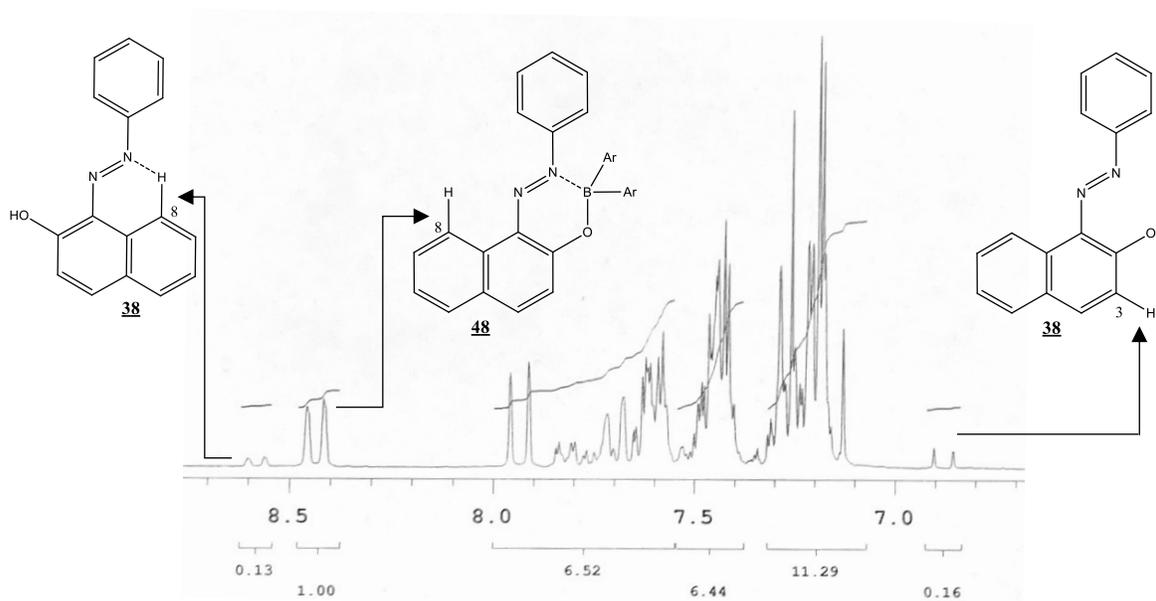


Figure 4.1 Évaluation de la contamination de **48** par **38** par intégration des signaux ^1H RMN.

En effet, le premier signal du spectre ^1H RMN (le plus à gauche) peut être assigné à l'hydrogène situé sur le carbone 8 du composé **38**. Cet hydrogène est le plus déblindé

dû au pont H formé avec l'azote. Toutefois, l'ajout de la source de bore pour former le composé **48** empêche ce lien, ce qui blinde le signal. L'intégration de ces deux signaux les plus déblindés (les plus à gauche sur le spectre) nous indique donc la proportion du mélange **38** et **48**. Il est possible de voir à la Figure 4.1 que **38** est présent à environ 12 % dans le mélange par rapport à **48**. Il aurait été également possible de se fier au signal le plus blindé (le plus à droite du spectre). En effet, ce signal à environ 6,8 ppm correspond à l'hydrogène sur le carbone 3 du composé **38**. Lorsque le groupement diphenylborinique est ajouté pour former le composé **48**, l'oxygène est alors moins électrodonneur, ce qui déblinde le signal de l'hydrogène sur le carbone 3. Selon le signal le plus blindé, il resterait environ 14 % du composé **38**. Les différentes analyses par ^1H RMN ont permises non seulement d'évaluer le pourcentage de contamination, mais également de comprendre que le composé **48** semblait facilement se dégrader pour reformer le produit de départ (**38**). En effet, parmi les multiples réactions faites avec la méthode B, le spectre ^1H RMN de **48** brute (avant recristallisation) nous avait indiqué un pourcentage faible d'environ 5 % de **38** dans le mélange. Nous étions donc confiant de pouvoir possiblement diminuer ce pourcentage par recristallisation et obtenir **48** pur. Toutefois, après la recristallisation, le nouveau spectre ^1H RMN indiquait un pourcentage de 12 % de **38** dans le mélange. Nous avons donc un doute sur la stabilité du produit obtenu (**48**) et ces observations pourraient expliquer la difficulté à obtenir ce composé pur.

En somme, même si le composé **48** n'était pas pur, nous étions tout de même confiants que le bon produit avait été synthétisé. En effet, les CCM (chromatographie sur couche mince) montraient deux taches, l'une correspondant à **38** et l'autre concordait avec la formation d'un produit moins polaire tel que **48**. Le changement de couleur au cours de la réaction (passant de l'orange au rouge foncé) nous indiquait également la formation d'un produit possédant plus de conjugaison, tel que **48**. L'apparence des cristaux obtenus suite à la recristallisation, soit des cristaux rouge foncé de forme prismatique, correspondait avec la littérature (Bessler *et al.*, 2005). Finalement,

les différents signaux en ^1H RMN pouvant être associés au composé **48** concordait aussi avec la littérature (Bessler *et al.*, 2005). Nous avons donc poursuivi ainsi et nous avons tout de même exploré davantage l'avenue de l'ajout d'une source de bore sur les analogues afin de développer une version fluorescente de l'Oil Red O. En effet, même si les produits obtenus n'étaient pas purs malgré toutes les tentatives, le composé **48** démontrait de premiers résultats très intéressants pour répondre à l'objectif du projet.

L'ajout d'une source de bore a donc été tenté sur les autres composés, mis à part l'analogue **39**. En effet, comme mentionné à la fin de la section 4.1.2, l'analogue **39** était à première vue moins intéressant pour le développement d'une version fluorescente de l'Oil Red O étant donné sa structure trop polaire. La rigidification de sa structure a donc été exclue des essais. L'ajout de la source de bore sur l'ORO a été tenté, mais la réaction n'a pas été concluante et il était difficile de confirmer si le bon produit avait été formé. Cependant, l'ajout de la source de bore sur l'analogue **37** a donné des résultats intéressants et similaires aux essais faits avec l'analogue **38**. La synthèse utilisée est la méthode B (voir Schéma 4.5).

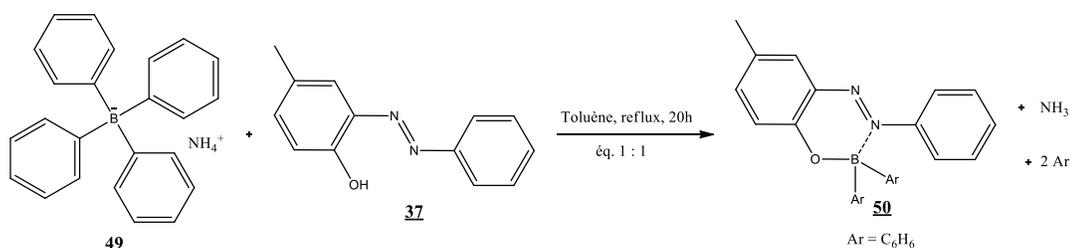


Schéma 4.5 Synthèse du « (2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (**50**) à partir de **37** via la méthode B.

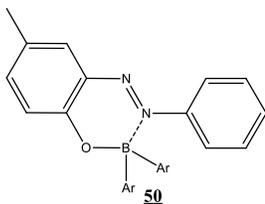
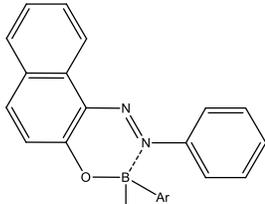
Le composé récupéré (**50**) était également impur. En effet, il restait du produit de départ (**37**) et le mélange était difficilement séparable. Selon les analyses ^1H RMN, le produit **50** contenait environ 33 % de contamination par le produit de départ (**37**). Ceci était possible grâce au signal du méthyle (CH_3) qui sortait à deux endroits différents sur le spectre ^1H RMN selon le composé. Encore une fois, bien que le produit

obtenu n'était pas pur, nous étions confiants que le bon produit avait été synthétisé. En effet, les CCM montraient deux taches, l'une correspondant à **37** et l'autre à la formation d'un produit moins polaire tel que **50**. Également, le changement de couleur de jaune à orange rouge indiquait la formation d'un produit possédant plus de conjugaison. Finalement, le spectre ^1H RMN nous indiquait que **50** avait été synthétisé. En effet, l'apparition des nouveaux signaux concordait avec l'ajout de la source de bore tel qu'observé pour le composé **48**.

La couleur, la liposolubilité ainsi que la fluorescence des analogues **48** et **50** ont été de nouveau évaluées afin de voir s'il y avait un potentiel pour le développement d'une version fluorescente de l'Oil Red O. Ces analyses ont été faites dans l'octane pour bien représenter le DNHS des traces digitales et sont présentées au Tableau 4.3. La couleur des cases de la colonne 2 représente toujours la couleur de la solution lorsqu'elle a été préparée.

Tableau 4.3

Couleur, liposolubilité et fluorescence dans l'octane des nouveaux analogues avec l'ajout d'une source de bore (**50** et **48**)

Structure chimique	λ_{\max} absorption (nm)	Liposolubilité	Fluorescence
 <p style="text-align: center;">50</p>	327 et 397	Grande	<p style="text-align: center;">OUI</p> $\lambda_{\text{excitation}} = 508 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{émission}} = 678 \text{ nm}$
 <p style="text-align: center;">48</p>	497	Grande	<p style="text-align: center;">OUI</p> $\lambda_{\text{excitation}} = 537 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{émission}} = 630 \text{ nm}$

Il est possible de remarquer en comparant la colonne 2 du Tableau 4.1 et Tableau 4.3 que l'ajout d'une source de bore sur les analogues **37** et **38** fait respectivement passer la longueur maximale d'absorption dans le visible de 385 à 397 nm (**37** et **50**) et 482 à 497 nm (**38** et **48**). Le Tableau 4.1 présente les longueurs maximales d'absorption dans le visible de **37** et **38** dans l'acétonitrile, mais celles-ci étaient très similaires dans l'octane, soit respectivement de 381 et 461 nm. Somme toute, l'ajout d'une source de bore fait augmenter la longueur maximale d'absorption dans le visible. Conséquemment, la couleur de la solution change également, passant du jaune vert au jaune (**37** et **50**) et du jaune au orange (**38** et **48**). Les longueurs maximales d'absorption dans le visible et la couleur observée dans le Tableau 4.3 sont en concordance avec le cercle chromatique à la Figure 3.4. En effet, l'analogue **50** absorbe maintenant dans le violet, la couleur observée est ainsi la couleur

complémentaire, soit le jaune. De même pour l'analogue **48**, où celui-ci absorbe maintenant dans le bleu vert, la couleur complémentaire est ainsi l'orange rouge. Ces observations correspondent avec l'ajout de conjugaison dans la structure de la molécule. Il est particulièrement intéressant de remarquer que les nouveaux analogues **50** et **48** sont non seulement solubles dans l'octane, donc dans des milieux essentiellement non polaires tels que les lipides, mais qu'ils sont également fluorescents. En effet, les analogues **50** et **48** ont respectivement une longueur maximale d'excitation à 508 et 537 nm et émettent respectivement à 678 et 630 nm. Il est possible de remarquer que la longueur d'onde d'excitation est plus grande pour l'analogue **48** que pour l'analogue **50**, ce qui peut être dû à la partie 2-naphthol de l'analogue **48** qui possède plus de conjugaison que la partie paracrésol de l'analogue **50**. Ceci permet à l'analogue **48** d'absorber à une plus grande longueur d'onde. Il est également possible de voir que la longueur d'onde d'émission est toujours plus grande que la longueur d'excitation due à des pertes d'énergie entre l'excitation et l'émission (voir fin de la section 3.2.1). En somme, les deux nouveaux analogues synthétisés s'avéraient donc une avenue plus intéressante pour une version fluorescente de l'Oil Red O, notamment grâce à leur grande liposolubilité et à leur fluorescence.

4.1.4 Essais de révélations d'empreintes digitales

Étant donné la fluorescence et la liposolubilité des nouveaux composés synthétisés qui concordaient particulièrement avec une version fluorescente de l'Oil Red O, la prochaine étape du projet était donc d'essayer des révélations d'empreintes digitales. Le terme empreinte digitale sera utilisé tout au long de ces essais, car elles ont été faites dans un contexte contrôlé et déposées par une source connue (voir section 1.1.1). Les essais ont commencé avec le (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**), où ce dernier était d'abord solubilisé dans un solvant organique et polaire tel que le méthanol, l'isopropanol ou encore l'acétone. De l'eau était ensuite ajoutée à ce mélange pour ainsi former la solution de révélation. L'ajout d'eau permet de créer un processus de

solubilité préférentiel, où (**48**) se transfère sur les crêtes de l’empreinte digitale, étant plus soluble dans ce milieu lipidique que dans la solution aqueuse (voir section 2.3.7 et fin de la section 3.1.1). Un papier blanc à imprimante sur lequel un doigt avait préalablement été déposé était ensuite trempé dans la solution de révélation pour 15 minutes. Une agitation légère de la solution durant le trempage était faite à l’aide d’une « rocking platform shakers ». Le contenant de la solution de révélation était également recouvert de paraffine afin d’éviter l’évaporation du solvant volatil. Après le trempage de 15 minutes, le papier était finalement séché à l’air ambiant ou dans une hotte chimique avant d’être photographié sous des conditions d’éclairage optimales (voir Chapitre VI Partie expérimentale à la fin de la section 6.1). Le papier était toujours manipulé avec soin pour éviter d’altérer l’empreinte digitale. Les révélations ont été testées sur des empreintes provenant de différents donneurs (numéro de certificat d’éthique : CER-20-268-07.13). Ces derniers se frottaient toujours les mains, le visage et les cheveux avant d’apposer leur doigt sur le papier imprimante. En effet, ceci permettait de charger leurs doigts de sécrétions sébacées et donc, d’avoir un DNHS dans leurs empreintes latentes (voir Tableau 1.1 et section 1.1.1). Cette procédure est en lien avec les consignes d’une étude en phase de concept tel que décrit dans l’International Fingerprint Research Group en 2014.

Les premiers essais de révélations d’empreintes digitales ont été faits en préparant une solution de 1500 ppm du composé **48** dans le méthanol. Il n’y avait pas de révélation visible à la lumière blanche lorsque le papier était trempé dans la solution faite de 100 % de méthanol. Cependant, l’ajout d’environ 20 à 50 mL d’eau à cette même solution de 100 mL permettait d’obtenir de belles révélations, ce qui reflète un processus de solubilité préférentielle. Un exemple d’une révélation à la lumière blanche (donc en mode absorption et non en fluorescence) obtenue est illustré à la Figure 4.2 à gauche, où 75 mg du composé **48** a été solubilisé dans 50 mL de méthanol, puis 25 mL d’eau a été ajouté à cette solution. D’autres révélations ont été obtenues dans d’autres solvants tels que l’éthanol, l’isopropanol et l’acétone. Un exemple d’une révélation

obtenue dans l'éthanol est illustré à la Figure 4.2 au centre, où 75 mg du composé **48** a été solubilisé dans 50 mL d'éthanol, puis 60 mL d'eau a été ajouté à cette solution afin d'obtenir une révélation. Le contraste entre l'empreinte et le support était généralement meilleur dans le méthanol que dans les autres solvants plus organiques et moins polaires tels que l'éthanol et l'isopropanol (tel que l'illustre la Figure 4.2). En effet, une plus grande quantité d'eau devait être ajoutée dans ces solvants pour obtenir des révélations d'empreintes digitales. 60 ou 80 mL d'eau doit être respectivement ajoutée aux solutions de 50 mL d'éthanol ou d'isopropanol alors qu'environ 25 mL d'eau doit être ajouté à la solution de 50 mL de méthanol. La différence de contraste pourrait donc être due à un effet de dilution. Des résultats similaires au niveau du contraste étaient obtenus dans l'acétone où 30 à 40 mL devait être ajouté sur 50 mL de solution d'acétone pour obtenir révélation (voir illustration à droite Figure 4.2). Somme toute, la recette dans le méthanol était davantage intéressante, car elle permettait d'obtenir un meilleur contraste à la lumière blanche.



Figure 4.2 Essais de révélations d'empreintes digitales à la lumière blanche avec le (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**) dans le méthanol (gauche), l'éthanol (centre) et l'acétone (droite).

À travers les essais de révélations dans les différents solvants, les empreintes révélées étaient également observées dans le noir avec des lumières de différentes longueurs d'onde avec un filtre de couleur jaune, orange ou rouge. Ceci permet, entre autres, d'observer si les empreintes digitales révélées sont fluorescentes ou non. La lumière à différentes longueurs d'onde permet d'ajuster le λ_{max} d'excitation alors que les filtres permettent de bloquer la lumière d'excitation pour n'observer que la lumière d'émission (voir Chapitre VI Partie expérimentale à la fin de la section 6.1). À travers les essais, quelques révélations d'empreintes étaient fluorescentes. La Figure 4.3 illustre une révélation à la lumière blanche (à gauche) obtenue à l'aide de la solution à base de méthanol avec l'ajout de 25 mL d'eau sur 50 mL de solution. À la Figure 4.3 à droite, la même révélation exposée à une lumière de 500 nm avec un filtre rouge. Ces conditions d'éclairage et d'observation concordent avec les longueurs d'onde d'excitation et d'émission de **48** au Tableau 4.3. La Figure 4.3 illustre bien l'avantage des révélations fluorescentes, où le contraste entre la trace et le support est grandement optimisé, ce qui permet de bien visualiser la révélation.

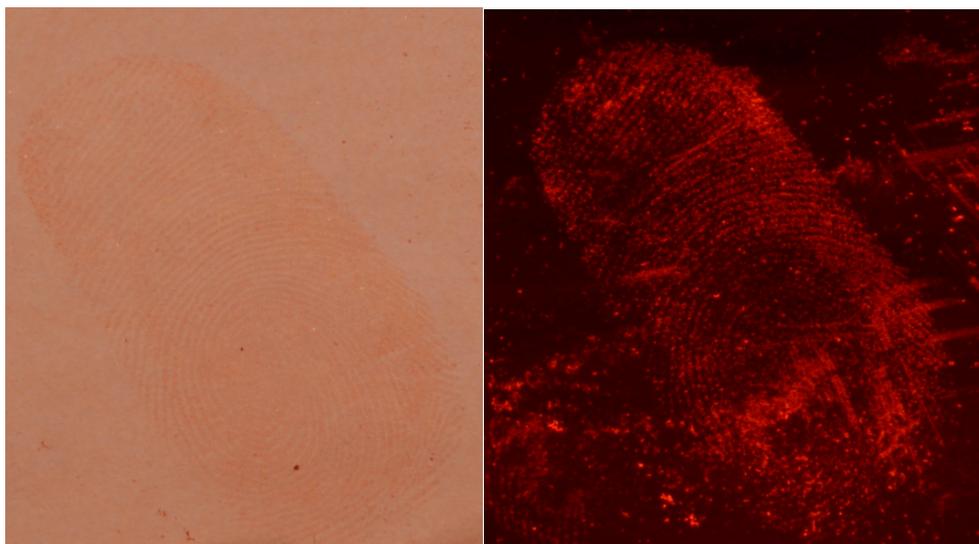


Figure 4.3 Révélation obtenue à la lumière blanche (à gauche) et en fluorescence (à droite) avec 75 mg de (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**) dans 50 mL de méthanol et avec l'ajout de 25 mL d'eau.

Les révélations fluorescentes telles que présentées à la Figure 4.3 n'étaient toutefois pas toujours présentes. En effet, dans tous les cas, une révélation à la lumière blanche était obtenue telle que les illustrations à gauche dans la Figure 4.2 et Figure 4.3. La fluorescence telle que l'illustration à droite à la Figure 4.3 était rarement obtenue. En effet, dans la majorité des cas, il n'y avait aucune fluorescence. D'ailleurs, la révélation fluorescente illustrée à la Figure 4.3 a seulement été obtenue 2 semaines après que le papier ait été trempé dans la solution de révélation. Il n'y avait au début aucune fluorescence, puis après deux semaines de séchage à l'air ambiant et à température pièce, la fluorescence est apparue. La Figure 4.4 illustre la majorité des résultats obtenus, soit une révélation en lumière blanche et une faible, voire aucune fluorescence. La révélation à la Figure 4.4 a pourtant été faite dans exactement les mêmes conditions que celle à la Figure 4.3. Les deux empreintes viennent du même donneur, ont été révélées dans la même solution et un faible interval de temps sépare

les deux révélations (environ 5 minutes). Pourtant, après deux semaines, l'une a montré de la fluorescence (Figure 4.3) alors que l'autre non (Figure 4.4).

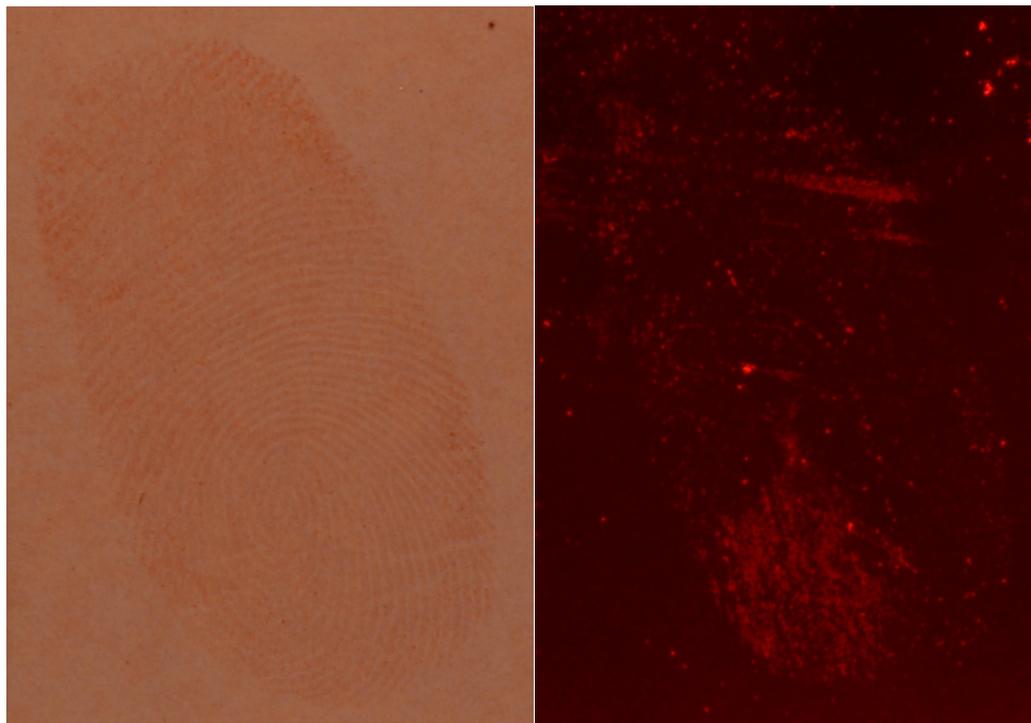


Figure 4.4 Révélation obtenue dans les mêmes conditions qu'à la figure 4.3, mais résultat différent en fluorescence. Révélation à la lumière blanche (à gauche) et en fluorescence (à droite).

Il semblait donc y avoir une certaine instabilité au niveau des révélations fluorescentes. Non seulement la fluorescence n'apparaissait pas toujours, mais aussi elle apparaissait parfois beaucoup plus tard après le trempage dans la solution de révélation. Notre première hypothèse pour expliquer cette variabilité fut d'abord que la présence d'eau ou d'humidité pouvait empêcher les révélations d'être fluorescentes. En effet, considérant que certaines révélations deviennent fluorescentes après un certain temps, l'évaporation de l'eau peut être la cause. Des révélations d'empreintes ont donc été faites sur 5 donneurs différents (4 garçons et une fille) et dans les mêmes conditions que celles à la Figure 4.3. Une partie de l'empreinte a été séchée à l'air ambiant et à

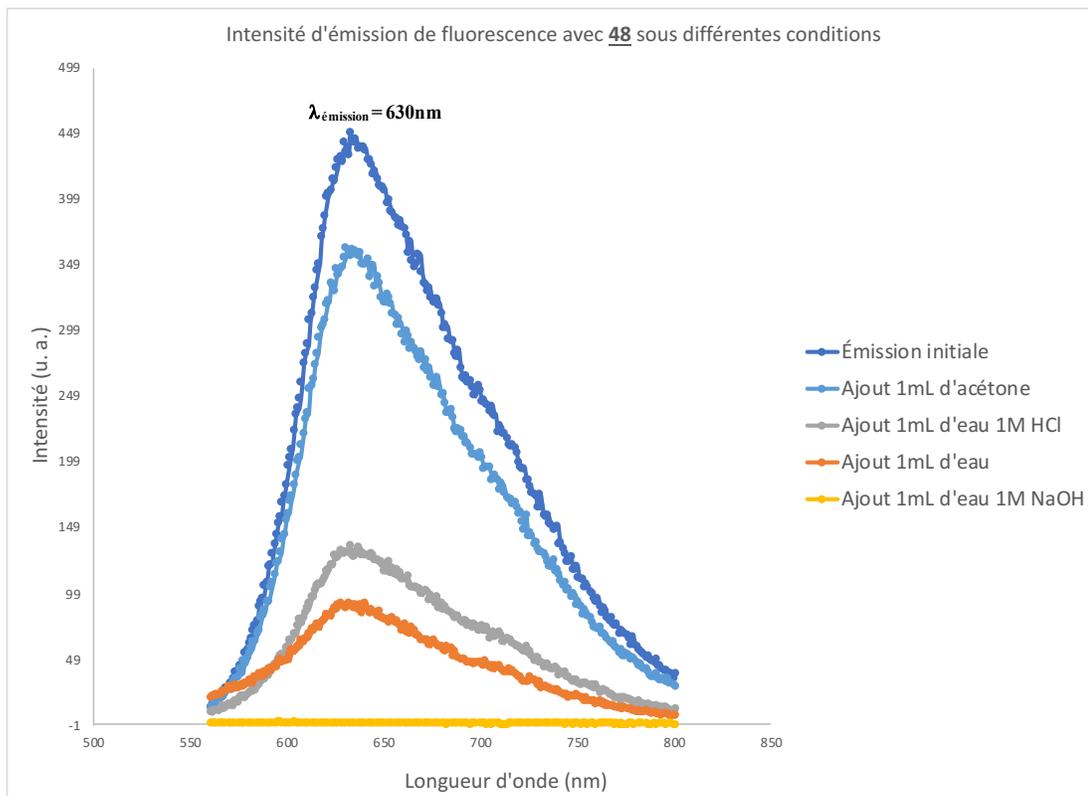
température pièce alors que l'autre partie de l'empreinte révélée a été séchée dans un bécher contenant du P_2O_5 . Ce dernier réagit avec l'eau pour former de l'acide phosphorique. Nous étions donc plutôt confiant que les révélations séchées dans le bécher contenant du P_2O_5 ne renfermeraient plus d'eau ou d'humidité. Des révélations à la lumière blanche ont été obtenues pour les cinq donneurs, mais aucune fluorescence n'a été observée sur toutes les révélations, ni même après deux semaines. Il n'y avait pas de différence entre les révélations séchées au P_2O_5 et celles séchées à l'air libre. La Figure 4.5 résume les résultats obtenus, où une belle révélation est obtenue à la lumière blanche, mais aucune fluorescence n'apparaît, ni même si celle-ci est départie de toute présence d'eau grâce au séchage du P_2O_5 .



Figure 4.5 Révélation obtenue avec et sans séchage au P_2O_5 à la lumière blanche (à gauche) et en fluorescence (à droite) avec 75 mg (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**) dans 50 mL de méthanol et avec l'ajout de 25 mL d'eau.

En somme, plusieurs autres conditions ont été essayées telles que l'ajout d'eau basique ou acide plutôt que de l'eau déminéralisée. En effet, tel qu'il sera expliqué plus loin dans cette section, l'ajout d'eau acide aurait pu favoriser la visualisation des révélations

en fluorescence. Le séchage à l'étuve durant 20 minutes à 80°C après le trempage dans la solution de révélation a également été essayé. Mis à part le séchage à l'étuve où la révélation n'était plus visible à la lumière blanche, toutes les conditions donnaient des révélations à la lumière blanche, mais faible voire aucune fluorescence pour les 5 donneurs d'empreintes. Les résultats démontraient sans cesse une instabilité au niveau de la fluorescence. Des tests au spectrofluorimètre et au ^1H RMN ont permis de comprendre que l'eau était probablement la cause de cette instabilité. En effet, le Graphique 4.2 représente la variation de l'émission de fluorescence de l'analogue **48** solubilisé dans l'acétone sous différentes conditions. La première courbe en bleu foncé montre une émission de fluorescence maximale à 632 nm avec une intensité d'environ 449 u. a. Ceci correspond à 4 mL d'une solution de 100 ppm de l'analogue **48** dans l'acétone au spectrofluorimètre sous une lumière d'excitation de 547 nm. La courbe en bleu pâle représente l'émission de fluorescence de cette même solution avec l'ajout de 1 mL d'acétone après 1 h. L'intensité d'émission est maintenant à environ 359 u. a. et cette baisse est dû au facteur de dilution. Cette même expérience a été faite sur la même solution initiale, mais plutôt qu'ajouter 1 mL d'acétone, c'est soit 1 mL d'eau 1M HCl, 1 mL d'eau déminéralisée ou 1 mL d'eau 1M NaOH qui a été ajouté. L'intensité d'émission de fluorescence de ces ajouts est représentée respectivement par les courbes en gris, orange et jaune dans le Graphique 4.2. Il est possible de remarquer que l'ajout d'eau 1M HCl et l'ajout d'eau déminéralisée diminuent l'intensité d'émission de fluorescence respectivement à environ 130 et 90 u. a. alors que l'ajout d'eau 1M NaOH inhibe complètement la fluorescence. Ces observations permettent donc de comprendre que la présence d'eau diminue l'intensité de la fluorescence, même en conditions légèrement acides et que la présence d'eau basique peut même inhiber complètement la fluorescence de l'analogue **48**. Ces premières observations permettaient donc de mieux comprendre pourquoi de l'instabilité au niveau de la fluorescence était observée lors des révélations d'empreintes digitales.



Graphique 4.2 Variation de l'émission de fluorescence de l'analogue **48** selon différentes conditions.

D'autres analyses en ^1H RMN ont permis de comprendre davantage ce qui se passait. En effet, le spectre ^1H RMN d'un analogue **48** a d'abord été analysé dans le chloroforme deutéré tel que fait à la Figure 4.1 et l'analyse montrait environ 17 % de contamination du produit de départ (**38**) (voir illustration de gauche Figure 4.6). Dans ce même tube RMN, une petite goutte d'eau a été ajoutée et un nouveau spectre a été fait. L'analyse du nouveau spectre obtenu montrait alors un pourcentage de contamination de 63 % par **38** (voir illustration de droite Figure 4.6). Il semblerait donc que l'eau dégrade l'analogue **48** afin de reformer le produit de départ, **38** qui n'est pas fluorescent. Ceci pourrait donc expliquer l'inhibition de fluorescence observée lorsque de l'eau est ajoutée.

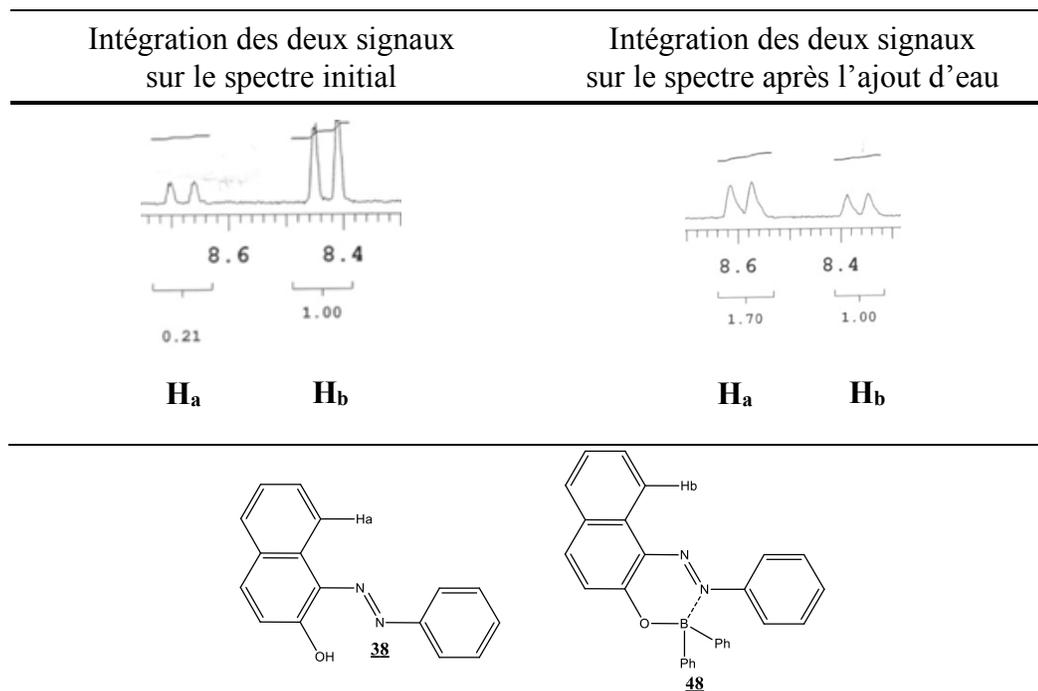


Figure 4.6 Illustration de la variation du ratio **38** : **48** en ^1H RMN avant l'ajout d'eau et après l'ajout d'eau.

Tous ces résultats pourraient expliquer pourquoi nous observons une instabilité au niveau de la fluorescence pour la révélation des empreintes digitales. En effet, de l'eau était constamment ajoutée aux solutions de révélation pour créer un processus de solubilité préférentiel. D'autres essais de révélations d'empreintes ont été essayés en ajoutant des sels tels que le NaBr et le tétrabutylammonium bromide plutôt que de l'eau à la solution de révélation. Nous espérons par principe de relargage créer le principe de solubilité préférentielle. En effet, l'ajout d'un sel plus soluble que l'analogue **48** dans le méthanol pourrait faire en sorte que **48** quitte la solution pour se transférer sur les crêtes des empreintes digitales. Toutefois, aucun résultat concluant n'a été obtenu à l'aide de cette méthode. Des révélations d'empreintes ont également été tentées avec l'analogue **50** dans les mêmes conditions que l'analogue **48**, soit la préparation d'une solution de 1500 ppm dans le méthanol et l'ajout d'environ 20 mL d'eau pour 50 mL de solution afin d'obtenir une révélation après un trempage de 15 minutes

(voir Figure 4.7). Les révélations obtenues à la lumière blanche étaient similaires à celles obtenues avec l'analogue **48**. L'analogue **50** donnait une coloration un peu plus pâle et a démontré les mêmes problématiques que l'analogue **48**, soit une instabilité au niveau de la fluorescence. Les analyses et révélations avec l'analogue **50** n'ont pas été poussées davantage puisqu'il semblait montrer les mêmes problématiques.



Figure 4.7 Révélations obtenues à l'aide de l'analogue **50** dans 50 mL de méthanol avec ajout de 20 mL d'eau.

En somme, l'ajout d'une source de bore sur les analogues a été une avenue très intéressante, car elle permet effectivement de favoriser la fluorescence, tout en gardant une structure essentiellement non polaire. Les nouveaux composés synthétisés sont donc encore liposolubles. Les révélations peuvent ainsi être obtenues à l'aide d'un processus de solubilité préférentiel, où le DNHS des traces digitales serait donc effectivement la cible lors de ces révélations. De plus, quelques révélations

fluorescentes ont été obtenues et aident grandement à optimiser le contraste entre la trace et le support tel qu'illustré à la Figure 4.3. Cependant, l'instabilité au niveau de la fluorescence fait en sorte que la méthode est loin de pouvoir être utilisée de façon opérationnelle. Il semble que les analogues **48** et **50** sont relativement sensibles et peuvent facilement se dégrader pour reformer leur produit de départ (**38** et **37** respectivement) qui n'est pas fluorescent. Ceci peut d'ailleurs expliquer la raison pour laquelle **48** et **50** n'ont jamais été obtenus pur. Il serait donc intéressant d'explorer l'ajout d'une autre source de bore, possiblement moins sensible afin de voir si des révélations fluorescentes sont plus facilement obtenues.

4.2 Zn-Hydroxyquinoline

À travers les recherches sur les analogues fluorescents de l'Oil Red O et l'ajout d'une source de bore, nous nous sommes intéressés au Zn-hydroxyquinoline (**53** M=Zn Schéma 4.6). La 8-hydroxyquinoline (**51**) est connue pour faire facilement des complexes avec les métaux qui sont fluorescents (**53**). Les complexes métalliques avec la 8-hydroxyquinoline comme ligand (**53**) ont trouvé leurs applications particulièrement dans les dispositifs électroluminescents organiques (OLEDs) (Tang et VanSlyke, 1987; Burrows *et al.*, 1994). Ces complexes fluorescents sont également connus par notre laboratoire (labo Daoust) qui étudie la chimie du cuivre et où la 8-hydroxyquinoline avait déjà été utilisée comme ligand avec d'autres métaux (Ricard *et al.*, 2020; Gilbert *et al.*, 2020).

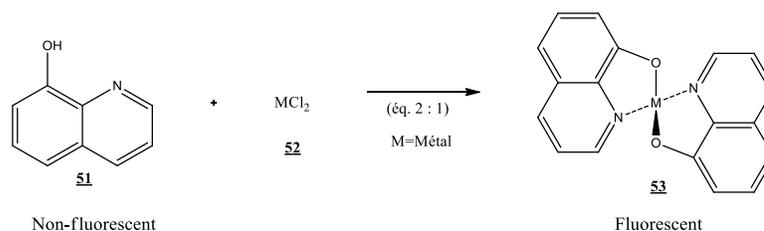


Schéma 4.6 8-hydroxyquinoline (**51**) et chlorure de zinc (**52** si M=Zinc) pour former des complexes métalliques fluorescents (**53**).

Les complexes métalliques avec la 8-hydroxyquinoline (**53**) ont été très peu étudiés pour leurs applications pour la révélation des traces digitales. Entre autres, O'Shea a rapporté en 2018 l'utilisation de la 8-hydroxyquinoline (**51**) complexée avec différents métaux (**53**) comme poudre magnétique fluorescente pour la révélation des traces digitales. Cette étude a cependant une application très différente du présent projet, car les poudres magnétiques pour la révélation des traces digitales s'appliquent sur les surfaces non poreuses et des traces relativement fraîches (voir section 2.1.1). Puisque ce complexe était déjà connu pour être fluorescent et que les produits nécessaires étaient déjà disponibles au laboratoire, nous l'avons essayé pour la révélation des empreintes digitales sur des surfaces poreuses. À notre connaissance, les complexes métalliques avec la 8-hydroxyquinoline (**53**) n'avaient jamais été testés pour la révélation des traces digitales sur les surfaces poreuses. Les travaux d'Ardnt en 2005 seront abordés plus loin, où ceux-ci traitent de l'utilisation du Zn-hydroxyquinoline pour la révélation des traces digitales.

4.2.1 Recette de révélation dans les solvants organiques

Nous avons d'abord regardé au fluorimètre parmi les métaux suivants (Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ et Cu^{2+}) lequel permettait de former le complexe le plus fluorescent avec la 8-hydroxyquinoline (**51**). Cette dernière a donc été mélangée en proportion stoechiométrique avec la source de métal et une base ($NaCO_3$) dans l'éthanol. La source de métal était obtenue à partir des sels de chlorure, sauf pour le Cu^+ qui était obtenu à

partir du CuI, le Fe^{2+} obtenu à partir du $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ et le Zn^{2+} qui était obtenu à partir du $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Ces sources de métaux ont été choisies en fonction des produits disponibles au laboratoire. Au fluorimètre, les complexes avaient tous une certaine émission de fluorescence, mais l'émission la plus intense était de loin le complexe avec le zinc qui était au moins 10 fois plus fluorescent. Nous nous sommes donc davantage intéressé à ce complexe puisqu'il était le plus fluorescent. Le complexe formé entre le zinc et la 8-hydroxyquinoline (**53** M=Zn) a un $\lambda_{\text{excitation}}=383\text{nm}$ et un $\lambda_{\text{émission}}=557\text{nm}$ dans l'éthanol lorsque le $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ est utilisé comme source de zinc avec la 8-hydroxyquinoline. Nous avons ensuite essayé des révélations d'empreintes digitales avec le complexe Zn-hydroxyquinoline (**53** M=Zn). Pour ces révélations, la procédure s'est faite de façon similaire à la procédure expliquée au début de la section 4.1.4. Les donneurs d'empreintes se frottaient toujours les mains, le visage et les cheveux avant d'apposer leur doigt sur un papier à imprimante. Le papier était ensuite trempé dans la solution de révélation pendant 15 minutes avant d'être séché à température ambiante sous une hotte chimique. Une brève optimisation a permis de déterminer le temps de trempage à 15 minutes. Le papier était photographié sous les conditions d'éclairage optimal (voir Chapitre VI Partie expérimentale à la fin de la section 6.1). Les révélations obtenues dans cette partie n'étaient jamais visibles à la lumière blanche. Elles étaient seulement visibles sous une lumière avec une longueur d'onde entre 365 et 450 nm et avec un filtre jaune, orange ou rouge. Les conditions optimales pour les photographies étaient sous une lumière de 415 nm avec un filtre rouge. Dû à une instabilité de la solution de révélation à travers le temps, des empreintes divisées en deux ont été utilisées. En effet, cette méthode permet de vérifier que la différence de qualité des révélations entre deux moitiés d'empreinte n'est pas due à une composition des sécrétions qui diffère (puisque les deux proviennent d'une seule et même déplétion), mais plutôt aux conditions de révélations.

Nous avons essayé des révélations d'empreintes digitales avec une solution formée de 0,00226 M (82,0 mg) de 8-hydroxyquinoline (**51**) mélangé avec 0,00113 M (62,0 mg) de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans le méthanol (250,0 mL), formant donc en solution le complexe Zn-Hydroxyquinoline (**53** M=Zn). Avec seulement ces ingrédients, aucune révélation d'empreintes n'était possible. Cependant, lorsque de l'eau était ajoutée à cette solution, il était possible d'obtenir des révélations d'empreintes digitales. Ceci nous laissait donc croire à un processus de solubilité préférentielle, où le complexe Zn-hydroxyquinoline (**53** M=Zn) migre sur les crêtes des empreintes digitales, étant plus soluble dans ce milieu non polaire que dans la solution maintenant partiellement aqueuse (voir section 2.3.7 et fin de la section 3.1.1). De bons résultats étaient obtenus lorsque 50,0 mL d'eau était ajouté à 250,0 mL de la solution de méthanol et de Zn-hydroxyquinoline (formant donc une solution de méthanol 83,3 % aqueux). Une plus grande quantité d'eau telle que l'ajout de 100 mL d'eau rendait la solution trouble et le bruit de fond était trop important pour bien visualiser les révélations. L'ajout de seulement 50 mL d'eau permettait de bien visualiser la révélation. La Figure 4.8 illustre des révélations obtenues provenant de deux donneurs différents lorsque 50 mL d'eau est ajouté. Les révélations ont été photographiées avec une lumière d'excitation de 415 nm avec un filtre rouge.

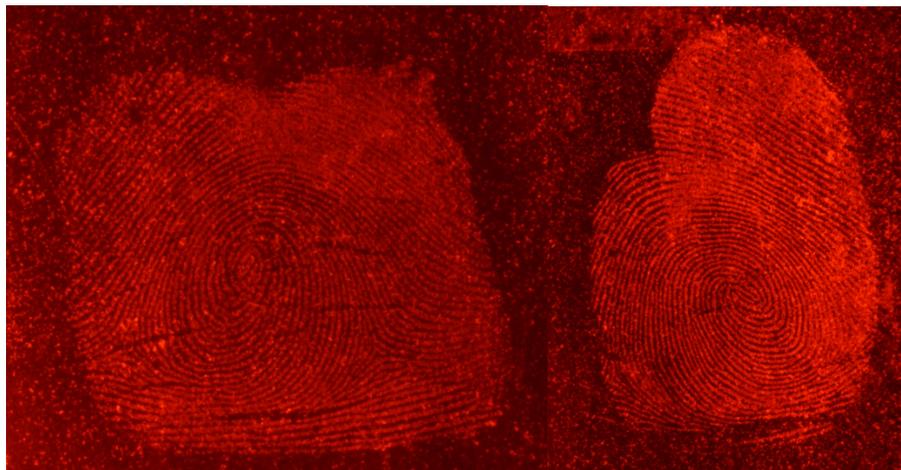


Figure 4.8 Révélations d'empreintes digitales provenant de deux donneurs différents obtenues à partir de 82 mg d'hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL. Temps de trempage : 15 minutes

L'une des problématiques rencontrées à travers les essais est la variation du bruit de fond. En effet, une fois le mélange eau/méthanol fait, la solution a une durée de vie d'environ 30 à 45 minutes et par la suite, le bruit de fond devient trop important pour que l'empreinte digitale puisse être bien distinguée. Il n'est pas évident de travailler avec cette solution de révélation puisque le bruit de fond varie grandement et est de plus en plus important au fil du temps. La solution de révélation doit être fraîchement préparée et il devenait difficile de comparer les révélations entre elles puisque le temps a un grand impact sur la qualité des révélations. La Figure 4.9 illustre une révélation obtenue dans les mêmes conditions qu'à la Figure 4.8, mais 45 minutes après le mélange eau/méthanol. En effet, 45 minutes après que la solution ait été préparée, le papier sur lequel se retrouvait l'empreinte était trempé dans cette solution de révélation durant 15 minutes. Il est possible de remarquer à la Figure 4.9 que la révélation n'est pratiquement plus sélective à l'empreinte et se dépose de façon plus aléatoire sur le papier, ce qui empêche la bonne visualisation de l'empreinte.

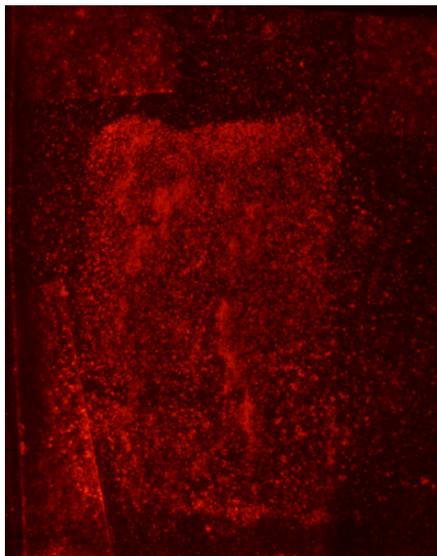


Figure 4.9 Révélation d'empreinte obtenue à partir de 82 mg de 8-hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL d'eau, 45 minutes après le mélange méthanol/eau. Temps de trempage : 15 minutes.

La courte durée de vie de la solution et l'augmentation du bruit de fond était conséquente avec l'augmentation de précipité qui se formait dans la solution lorsque l'eau était ajoutée. C'est cette précipitation qui faisait grandement varier les résultats puisqu'elle se déposait aléatoirement sur le papier et devenait parfois trop importante pour bien visualiser la révélation. Par exemple, la Figure 4.10 illustre bien la problématique de précipitation où on retrouve la révélation de deux empreintes faites sur un même papier. La révélation de gauche a été déposée face vers le haut dans la solution de révélation alors que la révélation de droite a été déposée face vers le bas dans la solution. Il est possible de voir que la révélation de gauche possède plus de bruit de fond dû à la précipitation qui se dépose alors que la révélation de droite n'a pratiquement aucun bruit de fond, étant « protégé » de cette précipitation en ayant la face vers le bas.

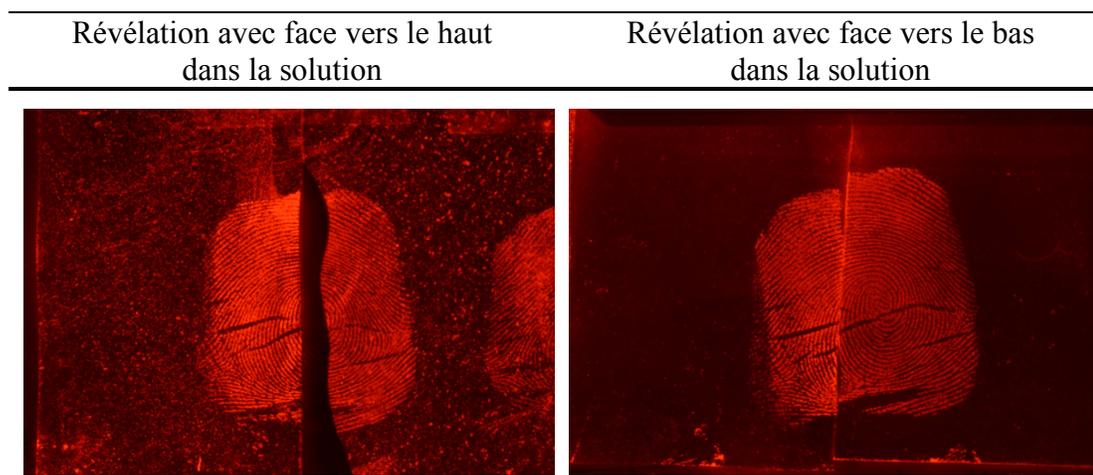


Figure 4.10 Révélation d'empreintes obtenues à partir de 82 mg de 8-hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL d'eau.

Plusieurs conditions de révélations ont donc été essayées afin de réussir à régler ce problème de précipitation et elles sont résumées dans le Tableau 4.4.

Tableau 4.4
Résumé des différentes conditions de révélations d'empreintes essayées

Entrée	Source de Zinc	Solvant	Quantité d'eau ajoutée à 250 mL de solution (mL)	Bruit de fond	Contraste	Avantages et désavantages	
1	Zn (CH ₃ COO) ₂ · 2H ₂ O	MeOH	50	Moyen/Élevé	Bon	Bruit de fond instable; Mélange MeOH/eau dure 30-45 minutes.	
2			5	Faible	Bon	Bruit de fond faible; Mélange MeOH/Eau dure 15 minutes.	
3		MeOH + 2g NaOH	110	Faible	Très bon	Bruit de fond très faible; Non reproductible.	
4		EtOH	5	Faible	Bon	Bruit de fond faible; Mélange EtOH/eau dure 30 minutes.	
5		Isopropanol	5	Faible	Bon	Bruit de fond faible; Mélange EtOH/eau dure 30 minutes.	
6		Deux étapes	50	Faible	Très bon	Bruit de fond très faible; Non reproductible.	
7		Zn (OTf) ₂	EtOH	10 à 15	Élevé	Faible	Bruit de fond trop important.
8		ZnCl ₂	EtOH	10 à 45	Faible	Très bon	Bruit de fond faible; Mélange EtOH/Eau est nettement plus stable.

Recette : 0,283 mmol de source de zinc et 0,565 mmol de 8-hydroxyquinoline dans 250 mL de solvant

Notre première tentative a donc été d'ajouter moins d'eau pour éviter de former ce précipité, mais d'obtenir tout de même des révélations (entrées 1 et 2 du Tableau 4.4). Avec l'ajout de seulement 5 mL d'eau à 250 mL de solution, il était possible d'obtenir une révélation et de diminuer considérablement le bruit de fond. La Figure 4.11 illustre la différence entre l'ajout de 5 mL d'eau (à gauche) et l'ajout de 50 mL d'eau (à droite). Les deux révélations ont été obtenues à partir du même donneur et il est possible de remarquer que la solution avec 5 mL d'eau procure beaucoup moins de bruit de fond. À noter que les conditions d'éclairages et d'enregistrement photographique sont les mêmes à la Figure 4.11 et que les deux révélations ont été obtenues après 15 minutes de trempage dans la solution de révélation.

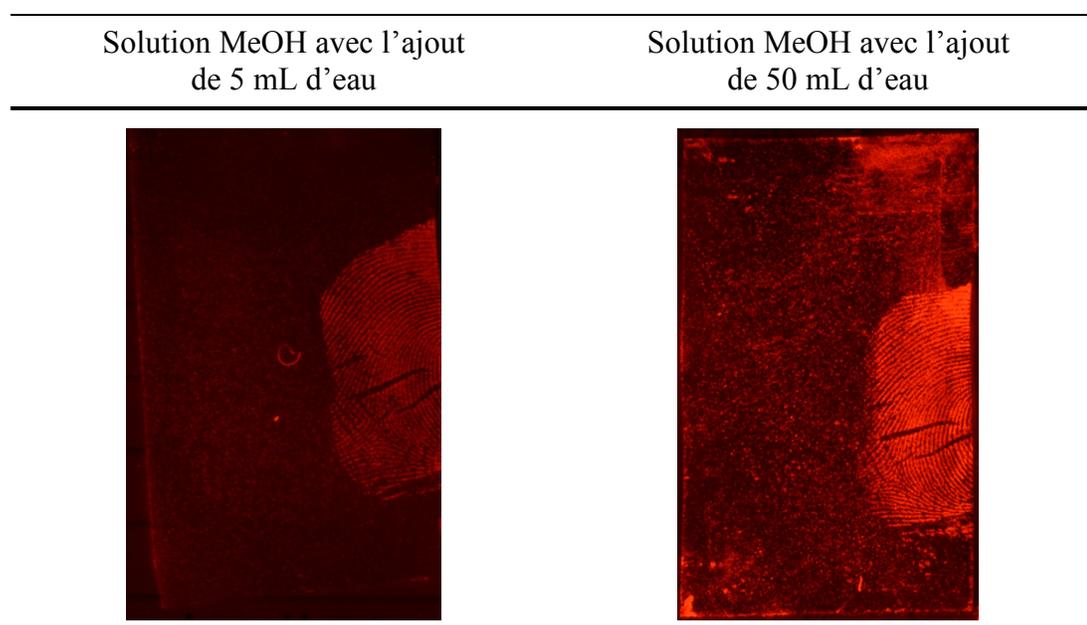


Figure 4.11 Différence entre la solution dans le méthanol avec l'ajout de 5 mL d'eau et 50 mL d'eau à 250 mL de méthanol et Zn-Hydroxyquinoline (entrée 1 et 2 du Tableau 4.4).

Cependant, l'ajout d'une quantité moindre d'eau ne permettait pas d'augmenter la durée de vie de la solution. En effet, la solution avec l'ajout de 5 mL d'eau avait même une durée de vie beaucoup plus courte, soit d'environ 15 minutes (voir entrée 2 Tableau 4.4). La solution devait toujours être fraîchement préparée.

Nous avons donc essayé par la suite d'ajouter de l'eau basique (entrée 3 du Tableau 4.4). Pour ce faire, 2 g de NaOH a été solubilisé dans 50 mL d'eau, et cette solution a été ajoutée à 250 mL de la solution de méthanol et Zn-hydroxyquinoline. Avec seulement cet ajout, il n'y avait aucune révélation, mais l'ajout supplémentaire de 60 mL d'eau distillée a permis d'obtenir de belles révélations qui sont illustrées à la Figure 4.12.

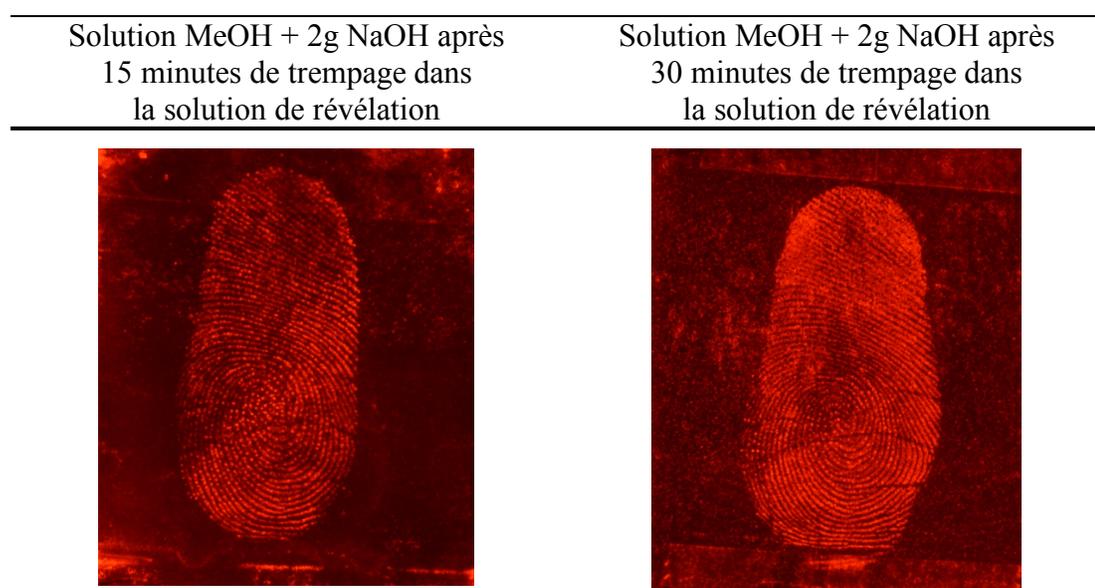


Figure 4.12 Révélations obtenues avec l'ajout de NaOH dans la solution de révélation après 15 minutes de trempage (empreinte à gauche) et 30 minutes de trempage (empreinte à droite) dans la solution de révélation (entrée 3 du Tableau 4.4).

L'ajout de NaOH dans la solution de révélation a permis d'obtenir des résultats intéressants avec un bruit de fond faible. La solution semblait beaucoup plus stable et la formation de précipité était moindre dans cette solution. Cependant, les résultats étaient très variables avec cette solution. Parfois, de bonnes révélations étaient obtenues alors que d'autres fois aucune révélation n'était obtenue. La méthode étant non reproductible a donc été rapidement mise de côté.

La solution de révélation a également été essayée dans l'éthanol et l'isopropanol plutôt que dans le méthanol (entrées 4 et 5 du Tableau 4.4). Toujours avec un ajout de 5 mL d'eau, ces solutions ont donné des résultats similaires à la solution à base de méthanol, soit un bruit de fond relativement faible, mais une courte durée de vie.

Des révélations ont également été obtenues lorsque la méthode est faite en deux étapes (entrée 6 du Tableau 4.4). En effet, nous voulions confirmer la nécessité des deux réactifs pour l'obtention des révélations fluorescentes. Pour ce faire, 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ est solubilisé dans 250 mL de méthanol pour former la première solution et 82 mg de 8-hydroxyquinoline sont solubilisés dans 250 mL de méthanol pour former la deuxième solution. 50 mL d'eau sont ajoutés dans chacune des deux solutions et le papier est ensuite trempé dans la première solution pendant 15 minutes puis trempé dans la seconde durant également 15 minutes pour obtenir révélation. Si le papier était seulement trempé dans l'une des deux solutions, aucune révélation n'était obtenue, mais en trempant le papier dans les deux solutions, une révélation était obtenue. Tout comme la solution avec du NaOH, le bruit de fond était très faible, mais les résultats étaient non reproductibles. En effet, la méthode semblait être très sensible à la quantité d'eau ajoutée et parfois des révélations étaient obtenues et parfois non. Ces essais en deux étapes ont tout de même permis de comprendre que les deux composés (le zinc et la 8-hydroxyquinoline) sont nécessaires pour obtenir des révélations fluorescentes. Finalement, nous avons essayé de changer la source de zinc utilisée. Plusieurs sources de zinc ont été essayées, dont le ZnSO_4 , le $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ et le ZnCl_2 . Le ZnSO_4 n'a pas donné de résultat concluant puisque la source de zinc n'était pas soluble dans l'éthanol. Le $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ a donné de premiers résultats similaires (entrée 6 Tableau 4.4), voire moins bons que l'acétate de zinc. En effet, le bruit de fond était plus important lorsque le $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ était utilisé. Cependant, le ZnCl_2 a donné des résultats très concluants (entrée 7 Tableau 4.4). En effet, les révélations obtenues en utilisant cette nouvelle source de zinc démontraient une solution beaucoup plus stable à travers le temps et un bruit de fond faible. Il n'y avait pas la formation de précipité

dans cette solution. Plusieurs révélations pouvaient être obtenues avec une même solution et la qualité des révélations était beaucoup plus constante à travers le temps. La Figure 4.13 montre une série de révélations obtenues avec une même solution à base d'éthanol et de ZnCl_2 . Ces essais n'ont pas été faits dans le méthanol, car puisque la méthode fonctionnait déjà bien dans l'éthanol, nous avons privilégié des solvants moins toxiques pour rendre la méthode plus opérationnelle. La quantité d'eau ajoutée à une solution de 250 mL d'éthanol est respectivement de gauche à droite de 30, 35, 40 et 45 mL. Ces révélations ont été obtenues à partir de la même solution où de l'eau a été ajoutée entre chacune des révélations. Tel que l'indique le Tableau 4.4, d'autres révélations ont été obtenues avec l'ajout de plus petite quantité d'eau et les révélations étaient de qualité similaire. De tels résultats n'avaient jamais été obtenus avec les solutions précédentes. En effet, avec les autres recettes, soit la solution avait une courte durée de vie ou bien la moindre variation de la quantité d'eau avait un grand impact sur la qualité des révélations. La nouvelle solution avec le ZnCl_2 semblait donner des résultats beaucoup mieux et plus constants. Plusieurs révélations pouvaient être obtenues avec la même solution et de bons résultats étaient obtenus sur un large intervalle d'ajout d'eau. Le contre-ion de la source de zinc semble donc avoir un grand impact sur la qualité des révélations et surtout la stabilité de la solution de révélation.

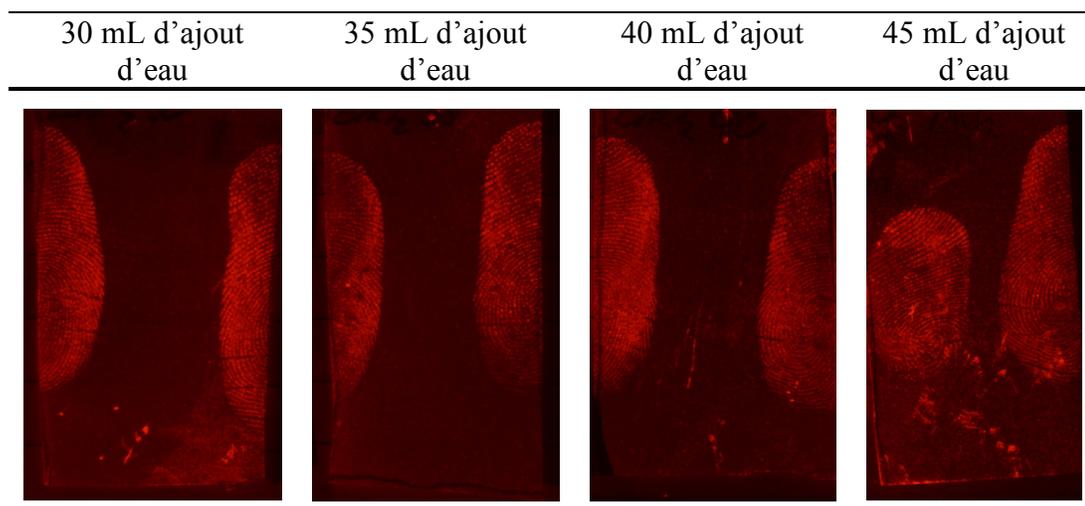


Figure 4.13 Révélations d'empreintes digitales obtenues à partir de la même solution de révélation utilisant le $ZnCl_2$ dans l'éthanol (entrée 7 Tableau 4.4) sur une période d'une heure.

Nous avons donc concentré nos efforts sur l'utilisation du $ZnCl_2$ comme source de zinc, car elle avait rapidement donné de bons résultats. À travers les essais, nous avons également compris que la méthode était intéressante pour le développement d'un révélateur fluorescent ciblant les lipides. En effet, des révélations ont été obtenues avec une empreinte préalablement trempée dans l'eau, ce qui indique que la méthode cible le DNHS des empreintes digitales (voir section 2.1.3). Le révélateur Zn-hydroxyquinoline répond aux objectifs de recherche, soit le développement d'un révélateur fluorescent ciblant le DNHS des traces digitales sur les supports poreux. Nous avons donc poursuivi nos recherches sur cette méthode. La Figure 4.14 illustre une révélation obtenue avec une empreinte ayant été préalablement trempée dans l'eau durant environ cinq secondes.

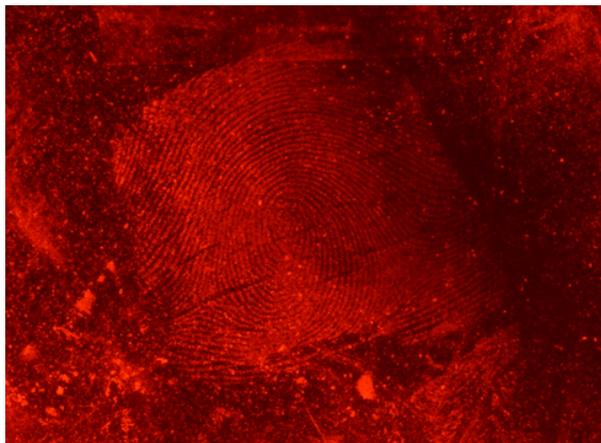


Figure 4.14 Révélation obtenue avec une empreinte préalablement trempée dans l'eau avant la révélation. Solution de révélation utilisée : 82 mg de 8-hydroxyquinoline et 62 mg de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 250 mL de méthanol avec ajout de 50 mL d'eau.

Nous avons testé la méthode utilisant le ZnCl_2 comme source de zinc dans différents solvants organiques. Le Tableau 4.5 résume les différentes recettes de révélations testées. Il est possible de remarquer que le méthanol n'a pas été un solvant testé. En effet, les solvants peu toxiques ont été priorités dans ces essais, car ceci est préférable au niveau de l'application opérationnelle.

Tableau 4.5
Résumé des différentes recettes testées en utilisant le $ZnCl_2$
comme source de zinc

Entrée	Source de Zinc	Solvant	Quantité d'eau ajoutée à 250 mL de solution (mL)	Bruit de fond	Contraste	Avantages et désavantages
1		Éthanol	15 à 35			Bonnes révélations;
2	$ZnCl_2$	Isopropanol	5 à 125	Faible	Très bon	Mélange solvant/Eau dure plus longtemps.
3		Solution désinfectante éthanol ou isopropanol 70 %	0 (contient déjà 75 mL d'eau)			

Recette générale : 0,283 mmol de source de zinc et 0,565 mmol de 8-hydroxyquinoline dans 250 mL de solvant.

Les trois recettes testées avaient pour l'ensemble des résultats très similaires, soit un bruit de fond faible et un bon contraste entre la trace et le support, permettant ainsi de bien visualiser l'empreinte digitale. Il était particulièrement intéressant de voir à travers les essais que la méthode pouvait même fonctionner dans une solution désinfectante achetée en pharmacie (entrée 2 et 3 du Tableau 4.5). En effet, le $ZnCl_2$ et la 8-hydroxyquinoline pouvant tout simplement être solubilisés dans 250 mL d'une solution désinfectant à base d'éthanol ou d'isopropanol 70 % et une révélation était obtenue après 15 minutes de trempage. Ceci s'avérait une recette particulièrement simple et rendait le tout plus intéressant.

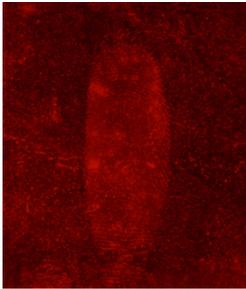
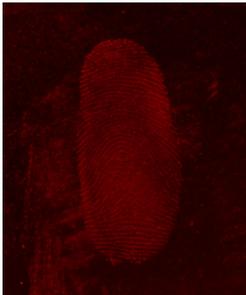
Nous avons donc plusieurs recettes efficaces avec différents avantages et inconvénients pour la révélation des empreintes digitales. Durant tous ces essais, un seul et même donneur d'empreintes digitales a été utilisé pour émettre les conclusions aux Tableau 4.4 et Tableau 4.5. Nous avons donc choisi 6 recettes différentes et les avons testées sur trois donneurs d'empreintes digitales différents pour voir si la même tendance est maintenue à travers les trois donneurs. Ceci permet de mieux comparer les recettes intéressantes entre elles. Nous avons choisi les recettes qui fonctionnaient le mieux et pour lesquelles les résultats étaient constants (les recettes dans le Tableau 4.5 qui donnaient des résultats non reproductibles ont donc été évitées). Le Tableau 4.6 résume les révélations obtenues avec les différentes recettes pour l'un des trois donneurs après un trempage de 15 minutes dans la solution de révélation. En effet, tel qu'il le sera expliqué plus loin, un seul des trois donneurs a révélé durant les essais. Les révélations obtenues après un trempage de 15 minutes avec la solution fraîchement préparée (0 heure), 2 et 4 heures après le mélange eau/solvant sont présentées. Les images au Tableau 4.6 ont été prises dans des conditions photographiques similaires avec un temps d'exposition variant de 1 seconde à 1,6 seconde. Les conditions d'éclairage sont les mêmes pour toutes les photographies. Les solutions et révélations d'empreintes digitales ont toutes été faites la même journée. Les deux premières recettes sont composées de $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ avec la 8-hydroxyquinoline dans 250 mL de méthanol ou d'éthanol et l'ajout de 50 et 5 mL d'eau respectivement (voir les entrées 1 et 2 au Tableau 4.6). Ces recettes avaient préalablement été testées (voir entrées 1 et 2 du Tableau 4.4). Les révélations reflètent à nouveau les résultats présentés plus haut, où le bruit de fond est important pour la première recette, ce qui nuit à la visualisation de la révélation. L'ajout d'une moins grande quantité d'eau (voir entrée 2 au Tableau 4.6) permet de diminuer le bruit de fond et mieux visualiser la révélation. Cependant, pour ces deux solutions, la durée de vie est relativement courte et aucune révélation n'est obtenue 2 et 4 heures après que la solution de révélation ait été préparée. La troisième recette est composée de $ZnCl_2$

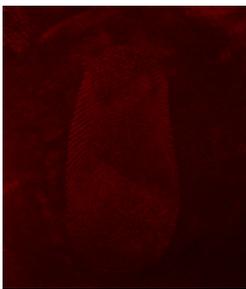
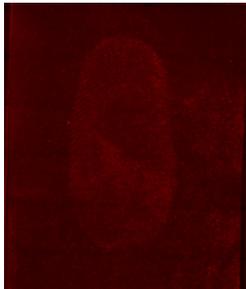
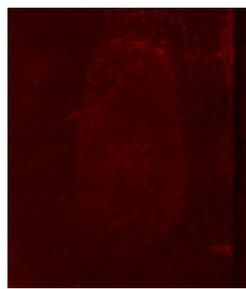
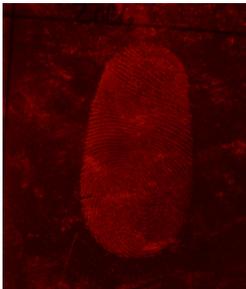
comme source de zinc, de la 8-hydroxyquinoline dans 250 mL d'isopropanol et l'ajout de 20 mL d'eau (entrée 3 au Tableau 4.6). Cette recette avait également été préalablement testée (entrée 2 du Tableau 4.5) et des révélations avaient été obtenues sur un large intervalle d'ajout d'eau. L'ajout de 20 mL d'eau avait été davantage testé et a été repris ici pour la comparaison des recettes. Les résultats pour la troisième recette reflètent encore une fois bien l'avantage d'utiliser le ZnCl_2 comme source de zinc plutôt que le $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, où des révélations sont obtenues jusqu'à 4 heures après le mélange solvant/eau. La quatrième recette (entrée 4 du Tableau 4.6) est similaire à la troisième, où cette fois-ci le solvant est plutôt l'éthanol. Cette recette avait également été préalablement testée (entrée 1 Tableau 4.5). Il est possible de remarquer au temps zéro que le contraste entre le support et l'empreinte est meilleur dans l'éthanol que dans l'isopropanol avec l'ajout chacun de 20 mL d'eau (les deux images ont été prises dans les mêmes conditions photographiques). Cependant, seulement une faible révélation a été obtenue 2 heures après le mélange solvant/eau pour la quatrième recette. Celle-ci semble donc durer moins longtemps que la 3^e recette. Finalement, la 5^e et 6^e recette (entrée 5 et 6 Tableau 4.6) sont les solutions désinfectantes qui ont également été préalablement testées (voir entrée 3 Tableau 4.5). Ces recettes sont stables à travers le temps donnant de belles révélations jusqu'à 2 heures après le mélange, alors qu'après 4 heures, le bruit de fond est trop important. Le bruit de fond au temps 0 est plus important pour ces deux dernières solutions contrairement à la 3^e et 4^e solution étant donné la quantité d'eau plus importante. Ceci n'empêche toutefois pas de bien visualiser les révélations, car le contraste entre l'empreinte et le support reste tout de même bon pour ces deux dernières recettes au temps 0. Le contraste entre l'empreinte et le support est meilleur pour la 5^e solution contrairement à la 6^e. En somme, de bonnes révélations sont possibles avec les recettes 2, 3, 4 et 5 lorsqu'elles sont fraîches alors que les recettes 1 et 6 ont un bruit de fond trop important. En général, il est préférable d'utiliser une solution fraîchement préparée, mais les recettes 3 et 5 offrent une plus grande stabilité à travers le temps. L'utilisation du ZnCl_2 comme source de zinc est

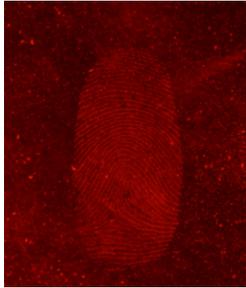
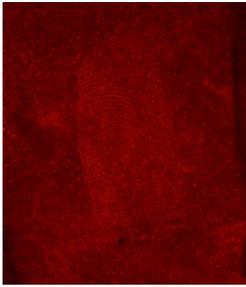
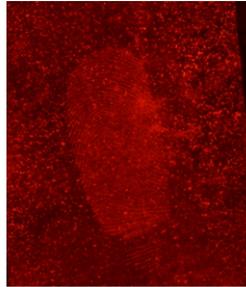
préférable afin d'avoir une solution plus stable à travers le temps. L'ajout d'une quantité plus importante d'eau a tendance à augmenter le bruit de fond. La 5^e recette est particulièrement intéressante étant donné sa préparation qui est davantage simplifiée, car la bouteille de désinfectant est facile à obtenir en pharmacie. Malgré le bruit de fond plus important au temps 0 par rapport à la 3^e et 4^e solution, elle procure tout de même un contraste relativement suffisant pour bien visualiser la révélation. Elle permet surtout d'obtenir des révélations acceptables même 2 heures après le mélange solvant/eau.

Tableau 4.6

Révélation obtenues avec les différentes recettes à 0, 2 et 4 heures après le mélange eau/solvant

Entrée	Source de Zinc	Solvant	Quantité d'eau ajoutée (sur 250 mL de solvant)	0 heure	2 heures après le mélange solvant/eau	4 heures après le mélange solvant/eau
1	Zn (CH ₃ CO O) ₂ · 2 H ₂ O	Méthanol	50 mL		Aucune révélation	Aucune révélation
2		Éthanol	5 mL		Aucune révélation	Aucune révélation

Entrée	Source de Zinc	Solvant	Quantité d'eau ajoutée (sur 250 mL de solvant)	0 heure	2 heures après le mélange solvant/eau	4 heures après le mélange solvant/eau
3	ZnCl ₂	Isopropanol	20 mL			
4		Éthanol	20 mL		Révélation faible	Aucune révélation

Entrée	Source de Zinc	Solvant	Quantité d'eau ajoutée (sur 250 mL de solvant)	0 heure	2 heures après le mélange solvant/eau	4 heures après le mélange solvant/eau
5		Éthanol 70 % aqueux	Aucun			
6		Isopropanol 70 % aqueux	Aucun			

Le Tableau 4.6 représente les révélations d'empreintes provenant d'un seul donneur. La comparaison des solutions a été faite sur des empreintes provenant de trois donneurs différents, mais seules les empreintes d'un donneur ont révélées lors de cette étude. Les empreintes provenant des deux autres donneurs n'ont aucunement révélé, et ce, dans toutes les recettes de révélation. Ceci reflète l'importance de tester une méthode de révélations sur des empreintes provenant de différents donneurs, car les résultats peuvent grandement varier. Ainsi, la technique de révélation semble très bien fonctionner pour un donneur (qui sera appelé donneur 1), mais moins bien, voire ne pas du tout fonctionner pour les deux autres donneurs d'empreinte digitale. Pourtant, toutes les empreintes ont été révélées dans les mêmes conditions. Elles ont toutes été placées au même moment et dans la même solution de révélation. Il semble donc y avoir une différence au niveau de la composition des sécrétions sébacées qui font en sorte que les révélations sont complètement différentes d'un donneur à l'autre.

Nous avons donc commencé à tester la recette 5 (entrée 5 Tableau 4.6) sur d'autres donneurs d'empreintes digitales. Au total, 9 donneurs d'empreintes digitales ont été testés, dont 4 femmes et 5 hommes. La tendance s'est maintenue, soit que le donneur 1 donnait toujours de bons résultats, alors que les autres donneurs révélaient peu, voire pas du tout. La Figure 4.15 illustre la variation des résultats. Ces trois révélations ont été faites en même temps et dans la même solution de révélation (révélation à l'entrée 5 Tableau 4.6). L'illustration sur la gauche est une révélation obtenue avec le donneur 1 et représente la majorité des révélations obtenues avec ce donneur, soit un très bon contraste entre l'empreinte et le support. Les deux illustrations sur la droite à la Figure 4.15 sont deux révélations obtenues avec un autre donneur (donneur 2). Il est d'abord possible de voir sur l'image du centre que lorsqu'une révélation est obtenue avec un donneur autre que le donneur 1, la qualité est beaucoup moins bonne (voir illustration du centre à la Figure 4.15). Également, l'illustration sur la droite représente la majorité des résultats obtenus avec la plupart des autres donneurs, soit pratiquement aucune révélation.

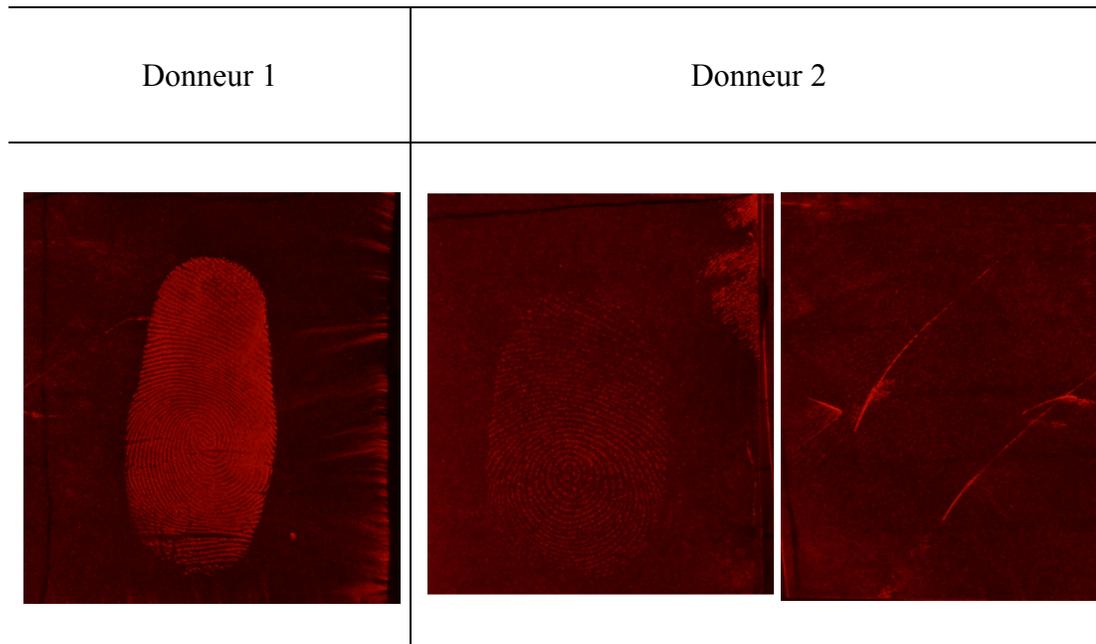


Figure 4.15 Exemples de révélations obtenues avec le donneur 1 et donneur 2. Révélations obtenues avec la recette à l'entrée 5 du tableau 4.6

Face aux résultats peu encourageants pour la majorité des donneurs d'empreintes, nous avons d'abord pensé que le donneur 1 avait une contamination. En effet, nous avons pensé à des contaminations telles que le maquillage puisque le donneur 1 portait du fond de teint. Ce dernier a donc cessé de porter du fond de teint pour une journée et ses empreintes révélaient toujours aussi bien. Également, certains donneurs dont les empreintes n'avaient jamais révélés ont appliqué le fond de teint sur leurs mains et ont apposé leurs doigts sur le papier. Leurs empreintes n'ont pas révélé. Cette hypothèse s'est donc avérée non concluante. Nous avons également testé sur 5 donneurs d'empreintes préalablement testés de révéler une partie de leur empreinte avec l'Oil Red O et l'autre partie avec la recette de révélation 5. Chacun des donneurs apposait trois doigts collés sur un papier et l'empreinte était par la suite divisée en deux pour qu'une partie soit révélée avec l'Oil Red O et l'autre partie avec la recette de révélation 5. Ceci permettait de vérifier que nous n'avions pas pris par le fruit du hasard de mauvais donneurs d'empreintes. Les 5 donneurs d'empreintes ont tous révélé à l'Oil Red O, mais un seul donneur (donneur 1) a révélé avec la recette à l'entrée 5 du

Tableau 4.6. Bien que les deux techniques ciblent le DNHS des empreintes digitales, il semblerait qu'elles ciblent des composés qui sont différents. Nous avons également pensé que la méthode pourrait être plus efficace sur des empreintes plus âgées. En effet, c'est le cas pour certains révélateurs connus tels que le développeur physique, qui est plus efficace sur des empreintes âgées que sur des empreintes fraîches. La méthode n'était pas davantage efficace sur des empreintes âgées de deux semaines. Entre-temps, nous sommes tombés sur un brevet qui s'apparentait beaucoup à nos essais avec le Zn-hydroxyquinoline et que nous ne connaissions pas avant le début de nos essais. Ce brevet est présenté à la prochaine section.

4.2.2 Brevet sur le 8-hydroxyquinoline complexé avec différents métaux pour la révélation des traces digitales

Arndt déposa en 2005 un brevet sur l'utilisation de la 8-hydroxyquinoline (ou ses dérivés) complexé avec différents métaux pour la révélation des traces digitales sur les surfaces poreuses. L'auteur recommande plus précisément l'utilisation du sulfate de 8-hydroxyquinoline puisque le produit est très disponible, peu dispendieux et soluble dans l'eau. Il mentionne que de très bonnes révélations d'empreintes digitales ont été obtenues lorsque le sulfate de 8-hydroxyquinoline est solubilisé dans l'eau avec les métaux suivants : Li (lithium), Ca (Calcium), Sr (Strontium), Cr (Chrome), Ni (Nickel), Co (cobalt), Fe (Fer), Al (Aluminium), Zr (Zirconium), Mn (Manganèse) et Zn (Zinc). L'utilisation du Mg (Magnésium), Mo (Molybdène), Ti (titane), V (Vanadium) et Ga (Gallium) est également possible. Les métaux doivent être utilisés sous forme de sel, préférentiellement des sels de chlorure. Ce dernier résultat n'était pas surprenant pour nous, puisque nous avons déjà observé que le $ZnCl_2$ était préférable contrairement aux autres sources de zinc. Lorsque la révélation se fait sur un support poreux blanc ou de couleur pâle, l'auteur recommande l'utilisation d'un métal qui produit un complexe coloré tel que le fer. Pour les surfaces foncées, l'utilisation d'un métal donnant de la fluorescence telle que le zinc, l'aluminium ou le calcium est alors préférable. Un mélange d'un

complexe coloré et fluorescent est également possible pour obtenir des révélations à la fois colorées et fluorescentes. L'auteur décrit les manipulations relativement simples à effectuer pour obtenir une révélation. Par exemple, pour obtenir une révélation fluorescente, une solution aqueuse 0,00625 M de $ZnCl_2$, $LiCl$, $CaCl_2$, $MnCl_2$, $AlCl_3$, $SrCl_2$ ou encore $CrCl_3$ est préparé et le sulfate 8-hydroxyquinoline est ajouté en proportion stœchiométrique (2 éq.). La durée de vie de cette solution semble, selon l'auteur, être indéfinie. Le papier sur lequel se trouve la trace latente peut être trempé pendant environ 5 secondes dans cette solution et ensuite rincé à l'eau pour obtenir des révélations fluorescentes. L'auteur mentionne que le complexe soluble en solution (**53**) se dépose sur les composés huileux des traces digitales où il précipite puisqu'il y est insoluble.

Cette méthode proposée dans le brevet est très similaire aux expériences que nous avons débutées. Ce brevet vient aussi rejoindre l'objectif de recherche, soit le développement d'un révélateur fluorescent ciblant les lipides. Nous nous sommes donc intéressés au brevet puisque la méthode utilisant le Zn-hydroxyquinoline (**53**) que nous avons développé jusqu'à maintenant ne permettait pas de révéler tous les donneurs d'empreintes. Nous nous demandions d'abord si la méthode du brevet pourrait permettre de pallier la problématique rencontrée. Il est aussi intéressant de tester et comprendre davantage la méthode puisque celle-ci est très peu connue. En effet, il n'existe pas à notre connaissance d'autres informations sur cette méthode mise à part celles retrouvées dans le brevet d'Ardnt en 2005. De plus, certaines questions restent sans réponses suite à la lecture du brevet. Entre autres, nous nous demandons si la méthode a été testée sur différents types de surfaces poreuses, si celle-ci fonctionne sur des empreintes âgées ou encore si la méthode peut fonctionner en séquence avec d'autres techniques de révélations. Il ne semble pas non plus y avoir beaucoup d'information quant aux raisons pour lesquelles le complexe métallique (**53**) révèle les empreintes digitales. En effet, l'auteur mentionne que **53** se dépose sur le DNHS et y précipite étant insoluble dans ce milieu, ce qui nous semble contre-intuitif puisque ce

processus serait thermodynamiquement non favorable. Finalement, certains éléments présents dans le brevet nous font douter de la validité des résultats et renforcent le besoin d'étudier davantage la méthode. En effet, il y a plusieurs erreurs dans les structures chimiques illustrées dans le brevet telles qu'un carbone faisant cinq liens chimiques (plutôt que 4) ou encore des structures chimiques où l'auteur déprotone l'hydrogène le moins acide (voir **54a** et les corrections apportées **54b** à la Figure 4.16). Il illustre aussi le « 8-quinolinol sulfate » (le produit qui semble être recommandé pour les révélations), mais la structure n'est pas la bonne (voir **55a** et **55b** corrigé à la Figure 4.16). Il illustre également le 8-quinolinol complexé avec différents métaux, soit le révélateur responsable de la coloration ou fluorescence des empreintes digitale, mais la structure chimique ne correspond pas (voir **56a** et **56b** corrigé à la Figure 4.16). Il y a donc une certaine confusion puisque les produits chimiques que l'auteur mentionne avoir utilisés et les structures chimiques représentées ne concordent pas. À noter que les structures **54b**, **55b** et **56b** à la Figure 4.16 sont des propositions de corrections selon notre interprétation et le nom indiqué par l'auteur, mais d'autres structures sont possibles. Par exemple, la structure **55a** pourrait être corrigée autrement (**55c**) et l'auteur voulait peut-être plutôt parler de l'acide 8-hydroxyquinoline-5-sulfonique (**55c**). Nous n'étions plus certains de ce que l'auteur avait réellement utilisé, ce qui justifie le besoin de répéter les expériences.

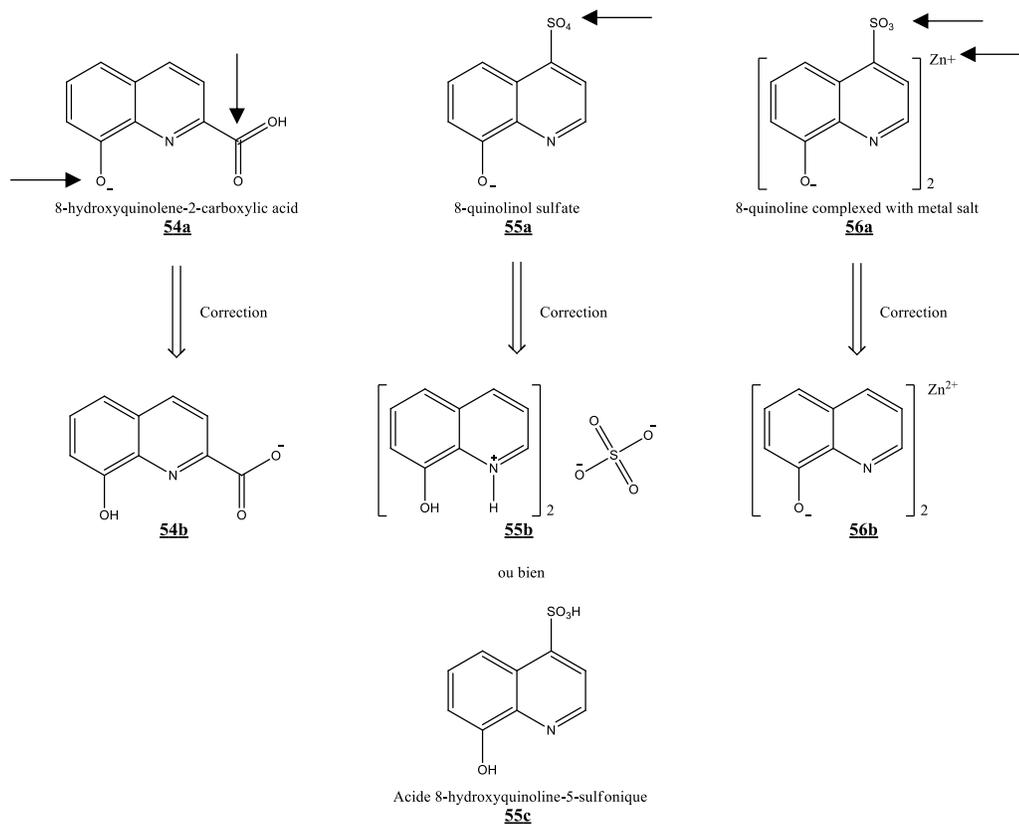


Figure 4.16 Exemples d'erreurs retrouvées dans le brevet indiquées par des flèches sur les structures **54a**, **55 a** et **56a** et les corrections (**54b**, **55b**, **55c** et **56b**).

Nous voulons donc dans un premier temps tester la méthode du brevet pour voir si celle-ci permet de révéler davantage de donneurs d'empreintes. Nous voulons aussi répéter les expériences pour confirmer les produits utilisés par l'auteur du brevet. Également, certains résultats dans le brevet manquent de précision et confirment la nécessité de répéter les expériences. En effet, l'auteur mentionne que la technique fonctionne sur du papier clair ou foncé, mais le type de papier n'est pas précisé. Il n'est pas précisé si la méthode a été testée sur plusieurs types de surfaces poreuses. Est-ce que la méthode est efficace sur du carton, du papier d'emballage, du papier de construction ? Il n'est pas mentionné dans le brevet si l'auteur a testé la méthode sur plusieurs donneurs d'empreintes. En effet, tel que présenté à la section précédente, il est primordial de tester la méthode sur plusieurs donneurs d'empreintes puisque les

résultats peuvent grandement varier et l'auteur ne détaille pas si ceci a été effectué. L'auteur n'illustre pas non plus ses résultats qu'il qualifie de révélations « highly fluorescent ». Finalement, comme mentionnées plus haut, les justifications données par l'auteur pour expliquer les raisons pour lesquelles la 8-hydroxyquinoline complexée avec différents métaux cible le DNHS ne conviennent pas. Nous voulons donc à travers nos expériences mieux comprendre le mécanisme responsable de la révélation des traces digitales fluorescentes par le Zn-hydroxyquinoline (**53** M=Zn).

4.2.3 Recette de révélation dans l'eau

Selon la recette rapportée dans le brevet d'Ardnt en 2005, le Zn-hydroxyquinoline (**53** M=Zn) serait formé en solution dans l'eau à partir du $ZnCl_2$ et du sulfate d'hydroxyquinoline (**55b**). Dans cette section, comparativement à la section 4.2.1, c'est le sulfate d'hydroxyquinoline (**55b**) qui est utilisé plutôt que la 8-hydroxyquinoline (**51**). Rappelons que ce produit (**55b**) est celui que nous pensons que l'auteur a utilisé. La 8-hydroxyquinoline sous forme de sel (**55b**) permet au composé d'être soluble dans l'eau, ce qui permet la préparation dans ce solvant plutôt que dans des solvants organiques. La recette utilisée pour faire les tests dans cette section se résume donc à la préparation d'une solution aqueuse jaune qui nécessite 0,00625 M de chlorure de zinc et 0,0125 M de sulfate de 8-hydroxyquinoline (**55b**). Le papier où un doigt a préalablement été déposé peut ensuite être trempé dans cette solution durant 5 secondes, rincé dans l'eau déminéralisée et séché sous une hotte chimique. La révélation est ensuite photographiée sous des conditions photographiques optimales.

Des tests préliminaires ont d'abord confirmé que beaucoup plus de donneurs d'empreintes pouvaient être révélés avec cette nouvelle recette. En effet, certains donneurs qui n'avaient jamais révélés avec les recettes précédentes ont révélés avec cette recette de révélation dans l'eau. La méthode est donc beaucoup plus intéressante

que celles à la section 4.2.1. Comme mentionné au début de la 4.2.2, nous nous demandions si l'auteur (Ardnt, 2005) avait testé la méthode sur plusieurs donneurs d'empreintes et sur différentes surfaces. Nous nous sommes d'abord penchés sur cet objectif et nous avons, sous l'aide de stagiaires supervisés, testé la méthode sur différentes surfaces et différents donneurs d'empreintes afin d'évaluer son efficacité.

Des tests préliminaires ont montré des résultats peu concluants sur les surfaces non poreuses (papier d'aluminium, lamelle de verre microscopique et ruban adhésif). Ces résultats étaient attendus, car la méthode de révélation se fait par trempage. Ceci peut donc facilement lessiver l'empreinte qui est relativement fragile sur des surfaces non poreuses (voir section 2.1.1). Pour les surfaces poreuses, des résultats peu concluants ont été obtenus avec le papier jaune et orange et le papier de construction jaune, rouge, orange et rose. En effet, il y avait une fluorescence de base du matériau, ce qui empêchait un bon contraste entre l'empreinte et le support et donc, une mauvaise visualisation de l'empreinte révélée. Également, des résultats peu concluants ont été obtenus sur des magazines et du papier de construction vert, noir, bleu ciel et mauve. Des magazines de différentes couleurs ont également été testés. De bonnes révélations étaient obtenues sur des magazines de couleur plus pâle que bleu ciel alors que pour les magazines de couleurs plus foncés, aucune révélation n'était possible. Finalement, des révélations sont possibles sur du bois non traité (non vernis et non sablé), mais la visualisation reste difficile étant donné la surface très texturée.

Les surfaces ayant montré les résultats préliminaires les plus intéressants sont les suivantes : le papier imprimante, le papier thermique, le papier Kraft, le papier vert, le papier rouge, le magazine blanc, le magazine bleu ciel, le carton d'emballage et le papier de construction blanc. Ces surfaces ont donc été davantage testées sur plusieurs donneurs d'empreintes pour évaluer plus précisément l'efficacité du révélateur. Pour ce faire, les empreintes provenant de cinq donneurs différents ont été récoltées. De façon similaire à la procédure expliquée au début de la section 4.1.4, les donneurs

se frottaient les mains, le visage et les cheveux avant d'apposer leur index à 5 reprises sur la surface à l'étude. Une série de 5 déplétions était faite afin d'évaluer la sensibilité du révélateur aux composés ciblés. En effet, au cours des déplétions, le doigt apposé est de moins en moins riche en sécrétions sébacées. La surface était ensuite trempée dans la solution de révélation durant cinq secondes (tel que décrit au début de cette section) et séchée sous une hotte chimique. La révélation était ensuite photographiée sous des conditions d'éclairage optimales. L'efficacité du révélateur était seulement testée pour des empreintes fraîches, ces dernières étaient donc révélées durant les 24 heures suivant les déplétions.

4.2.3.1 Le papier rouge et vert

Les résultats obtenus avec le papier rouge sont parmi les plus concluants. D'abord, la première déplétion pour les 5 donneurs d'empreintes ont révélé et la qualité de ces révélations était largement acceptable (au moins 1/3 de l'empreinte était bien visualisée). La qualité des révélations diminuait à travers les cinq déplétions pour 3 des 5 donneurs (donneurs 1, 3 et 4) alors que pour les deux autres, leur 5^e déplétion était encore bien visible (voir exemple Figure 4.17). Ceci laisse d'abord croire que le révélateur est relativement sensible aux composés qui sont ciblés puisque de bonnes révélations sont encore obtenues après 5 déplétions (en fonction du donneur). Également, ces résultats sont encourageants pour le développement d'un révélateur fluorescent ciblant les lipides. En effet des révélateurs lipidiques non fluorescents tels que l'Oil Red O sont inefficaces sur des surfaces foncées telles que les surfaces rouges dues à un manque de contraste et le Zn-hydroxyquinoline vient justement pallier cette problématique.

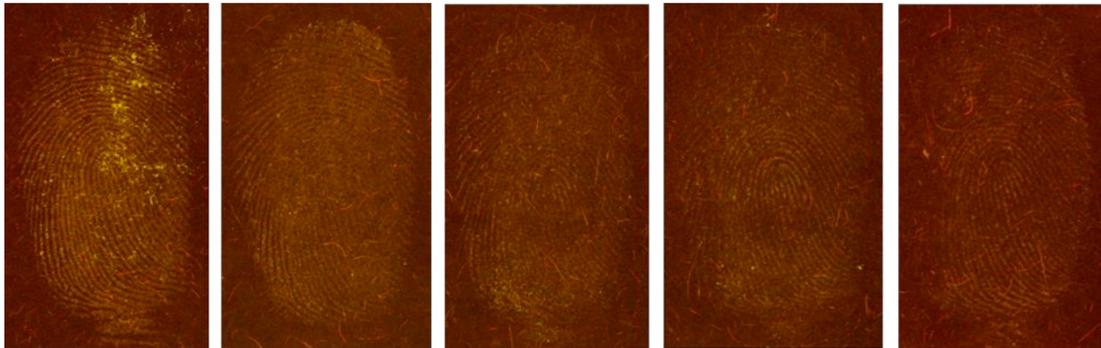


Figure 4.17 Série de déplétions (en ordre de gauche à droite) du donneur 2 pour le papier rouge.

Le papier vert a cependant donné des résultats moins concluants, où aucun des donneurs n'a révélé, mis à part pour la première déplétion du donneur 3 et 4 qui ont bien révélées (plus de 2/3 de l'empreinte était visible).

Ces premiers résultats indiquaient donc qu'il y avait une variation significative entre les donneurs d'empreintes et que les résultats pouvaient grandement varier d'une surface à l'autre, d'où l'intérêt de tester la méthode sur différentes surfaces et différents donneurs.

4.2.3.2 Le papier thermique

Le papier thermique a donné des résultats très surprenants. En effet, les révélations n'étaient pas fluorescentes, mais étaient plutôt d'une coloration grise, soit la couleur de l'encre du papier thermique. Les révélations obtenues sur ce type de surface étaient les seules qui n'étaient pas fluorescentes. La Figure 4.18 illustre les 5 déplétions du donneur 3 à la lumière blanche (en mode absorption), où la qualité des révélations est très acceptable. Il est possible de remarquer que la qualité des révélations ne varie pas de façon constante à travers les déplétions. En effet, il est attendu que la qualité des révélations varie de façon décroissante dû à la perte de sécrétion à travers les déplétions,

ce qui n'est pas le cas. La variation de la qualité des révélations à travers les déplétions peut être associée à une pression non constante du donneur lorsqu'il a apposé son doigt sur la surface. Somme toute, il est possible d'en conclure que la méthode de révélation a tout de même une bonne sensibilité aux composés ciblés sur le papier thermique puisqu'entre 1/3 et 2/3 de l'empreinte est encore visible à la 4^e déplétion (voir Figure 4.18). Le papier thermique a d'ailleurs donné les meilleures révélations pour les déplétions 2, 3, 4 et 5 parmi toutes les surfaces testées.



Figure 4.18 Série de déplétions du donneur 3 sur le papier thermique

4.2.3.3 Le magazine blanc et bleu ciel

Pour les deux types de magazines, seulement 3 des 5 donneurs ont révélé (donneurs 3, 4 et 5). Pourtant, les donneurs 1 et 2 avaient révélé lors des tests préliminaires. Les donneurs 3, 4 et 5 ont en général donné de belles révélations légèrement meilleures sur le magazine blanc que sur le magazine bleu ciel. Certaines problématiques ont été soulevées lors de ces tests sur ce type de surfaces. D'abord, la présence d'une traînée fluorescente était parfois visible à travers les révélations et pouvait gêner la bonne visualisation. La Figure 4.19 illustre cette problématique qui avait déjà été observée lors de tests préliminaires. Les traînées fluorescentes sont indiquées par des flèches.



Figure 4.19 Exemple de traînées fluorescentes observées (indiquées par les flèches) lors des tests préliminaires sur le magazine blanc

Également, les résultats étaient en général moins bons pour le magazine bleu ciel, car l'efficacité de la méthode semblait être affectée par l'encre donnant la couleur sur le magazine. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle les magazines de couleur plus foncée n'ont pas été testés davantage, car la méthode était inefficace sur des magazines plus foncés.

4.2.3.4 Le papier imprimante, le papier kraft, le carton d'emballage et le papier de construction blanc

Les révélations obtenues avec ces types de surfaces étaient en général peu concluantes. Il a été possible de conclure d'abord que la méthode n'était pas efficace sur le papier de construction blanc, où toutes les empreintes révélées étaient en général de qualité très faible. Le papier à imprimante n'a pas donné les résultats attendus, où seulement trois empreintes (correspondant chacune à la première déplétion) ont donné des révélations acceptables (au moins 1/3 de l'empreinte était visible). Pour le carton d'emballage, la qualité des révélations était également faible (en général moins 1/3 de

l’empreinte visible). La qualité des révélations n’était pas non plus constante à travers les 5 déplétions. Par exemple, pour l’un des donneurs, sa meilleure révélation correspondait à sa cinquième déplétion (entre 1/3 et 2/3 de l’empreinte qui était visible). Il s’agit de résultats surprenants puisque nous nous attendions à ce que la qualité des révélations à travers les déplétions diminue. Finalement, la qualité des révélations était en généralement faible pour le papier kraft, à l’exception de quelques empreintes de deux donneurs où au moins 1/3 de l’empreinte était visible. L’une des problématiques soulevées à travers ces 4 surfaces testées qui expliquait les résultats faibles était le manque de contraste. En effet, même si la surface était de couleur pâle (pour le papier à imprimante, le carton d’emballage et le papier de construction), la solution de révélation de couleur jaune colorait le papier et ceci nuisait au bon contraste entre l’empreinte et le support.

De toutes les surfaces testées, le papier rouge et le papier thermique ont offert les meilleurs résultats, où un bon contraste entre l’empreinte et le support était obtenu. Les résultats étaient particulièrement surprenants avec le papier thermique, seule cette surface ayant donné des révélations colorées plutôt que des révélations fluorescentes. Les magazines blanc et bleu pâle ont offert des révélations de bonne qualité, mis à part pour 2 des 5 donneurs. Cependant, l’efficacité de la méthode était moindre sur le magazine bleu dû à l’encre donnant la coloration et la présence de traînées fluorescentes sur ce type de surface qui pouvait parfois gêner la bonne visualisation. Finalement, les résultats étaient beaucoup moins concluants sur le papier vert, le papier à imprimante, le papier kraft, le papier de construction blanc et le carton d’emballage. Les résultats étaient moins bons sur ce type de surfaces dû à une problématique commune, un bruit de fond trop important et ainsi un mauvais contraste entre l’empreinte et le support. Ces résultats étaient surprenants, car nous nous attendions à de belles révélations sur ce type de surface. En effet, il est attendu qu’un révélateur fluorescent maximise le contraste entre l’empreinte et le support, ce qui n’était pas le cas. Nous nous sommes donc rendu compte que la méthode n’était pas au point et que

plusieurs améliorations devaient d'abord être apportées avant que la méthode puisse être considérée comme un révélateur lipidique fluorescent efficace.

4.2.4 Compréhension du mécanisme de révélation.

Nous nous sommes rendu compte que la méthode fonctionne bien pour le papier vert et rouge ainsi que le papier thermique, mais moins bien pour les autres surfaces testées. Face aux résultats peu encourageants de la recette de révélations à la section 4.2.3 pour la plupart des surfaces poreuses et considérant que plusieurs améliorations devaient être apportées à la méthode, nous voulons finalement comprendre comment celle-ci fonctionne. En effet, comme expliqué à la section 4.2.2, les raisons pour lesquelles le Zn-hydroxyquinoline (**53** M=Zn) (ou ses dérivés) ciblerait le DNHS des traces digitales selon l'auteur (Ardnt, 2005) étaient contre-intuitives. Nous voulons comprendre comment la méthode fonctionne réellement. Ceci pourrait permettre dans un premier temps d'apporter les améliorations nécessaires à la méthode et ainsi, la rendre plus efficace sur davantage de surfaces. Ceci pourrait également permettre de comprendre les résultats surprenants obtenus sur le papier thermique et pourquoi la méthode fonctionnait moins bien dans les solvants organiques. Face aux différentes observations expliquées plus loin, nous avons établi deux structures du complexe Zn-hydroxyquinoline, soit sa forme déprotonée (**57**) et sa forme protonée (**58**) (voir Figure 4.20).

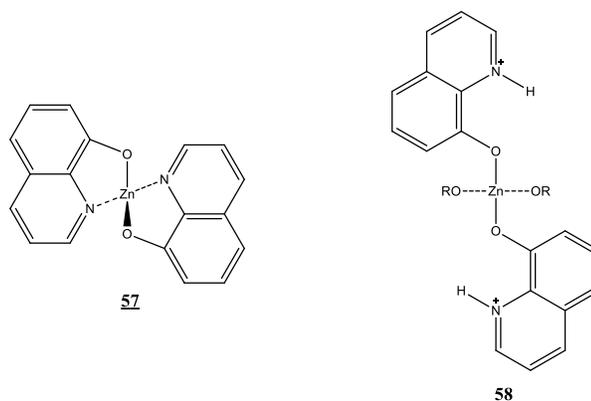


Figure 4.20 Deux structures du Zn-hydroxyquinoline, où OR= solvant.

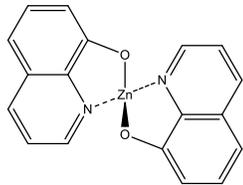
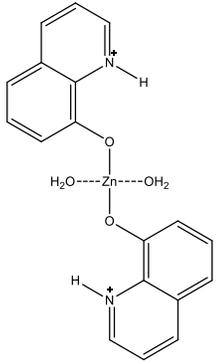
Avec les résultats et observations obtenus à la section 4.2.1 et 4.2.3, soit la recette dans les solvants organiques et dans l'eau respectivement, nous voulions d'abord élucider si l'une des deux structures (**57** ou **58**) était prépondérante dans chacune des recettes. Certaines observations nous laissent d'abord croire que c'est plutôt la forme protonée du complexe Zn-hydroxyquinoline (**58**) qui est présente dans la recette avec l'eau comme solvant (section 4.2.3). En effet, le sulfate de 8-hydroxyquinoline (**55b**) est utilisé dans cette recette plutôt que la 8-hydroxyquinoline (**51**) et le pH de cette solution est acide, soit de 3,33 selon les mesures au pH-mètre. Considérant que la pyridinium a un pKa de 5,23 dans l'eau (Bintein et Devillers, 1994), il est logique que les azotes soient protonés à ce pH relativement acide. De plus, il est important de considérer que le tout est soluble dans l'eau, ce qui correspond davantage à la présence de la forme protonée (**58**) en solution plutôt que la forme déprotonée (**57**). En effet, la présence de deux charges sur la structure rend celle-ci plus soluble dans les milieux polaires tels que l'eau contrairement à **57** qui a une structure essentiellement non polaire. Finalement, après quelques expériences au fluorimètre, aucune émission de fluorescence n'a été détectée avec cette solution aqueuse. Ceci nous confirme davantage que c'est plutôt la forme protonée (**58**) qui est présente en solution étant donné la partie 8-hydroxyquinoline qui est libre de rotationner, offrant des voies de désexcitations non radiatives supplémentaires contrairement à la forme déprotonée (**57**).

Pour la recette dans les solvants organiques (section 4.2.1), les différentes observations nous indiquent que c'est plutôt la forme déprotonée qui est présente en solution (**57**). D'abord, lorsque la 8-hydroxyquinoline (**51**) et le ZnCl_2 (**52**) sont solubilisés dans un solvant organique, une couleur verte apparaît alors que les deux composés de départ, eux, sont incolores. Ceci nous indique qu'il se produit quelque chose entre les deux composés. De plus, selon les mesures au pH-mètre, le pouvoir protonant de cette solution est également acide, soit entre 2,60 et 3,33. Ceci nous confirme qu'une liaison covalente est formée entre le zinc et l'oxygène du 8-hydroxyquinoline, puisque la formation de cette liaison forme du HCl. Finalement, cette solution est fluorescente avec un $\lambda_{\text{max. exc.}} = 405 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{max. émission}} = 487 \text{ nm}$ dans l'éthanol. Ces différentes observations nous indiquent davantage que c'est la forme déprotonée (**57**) qui est présente en solution. De plus, lorsque de l'eau est ajoutée à cette solution organique, un précipité vert apparaît. Ce précipité vert est fluorescent puisqu'il cause le bruit de fond qui nuisait aux révélations, comme discuté à la section 4.2.1 (ou voir Figure 4.10). Ce précipité est associé au complexe fluorescent en solution, qui s'apparente davantage à **57**, étant donné sa faible solubilité dans l'eau et sa solubilité dans les solvants organiques.

Le Tableau 4.7 résume les recettes et les observations qui ont permis de conclure que dans l'une, c'était plutôt la structure **58** qui est présente en solution alors que dans l'autre c'est plutôt la structure **57**.

Tableau 4.7

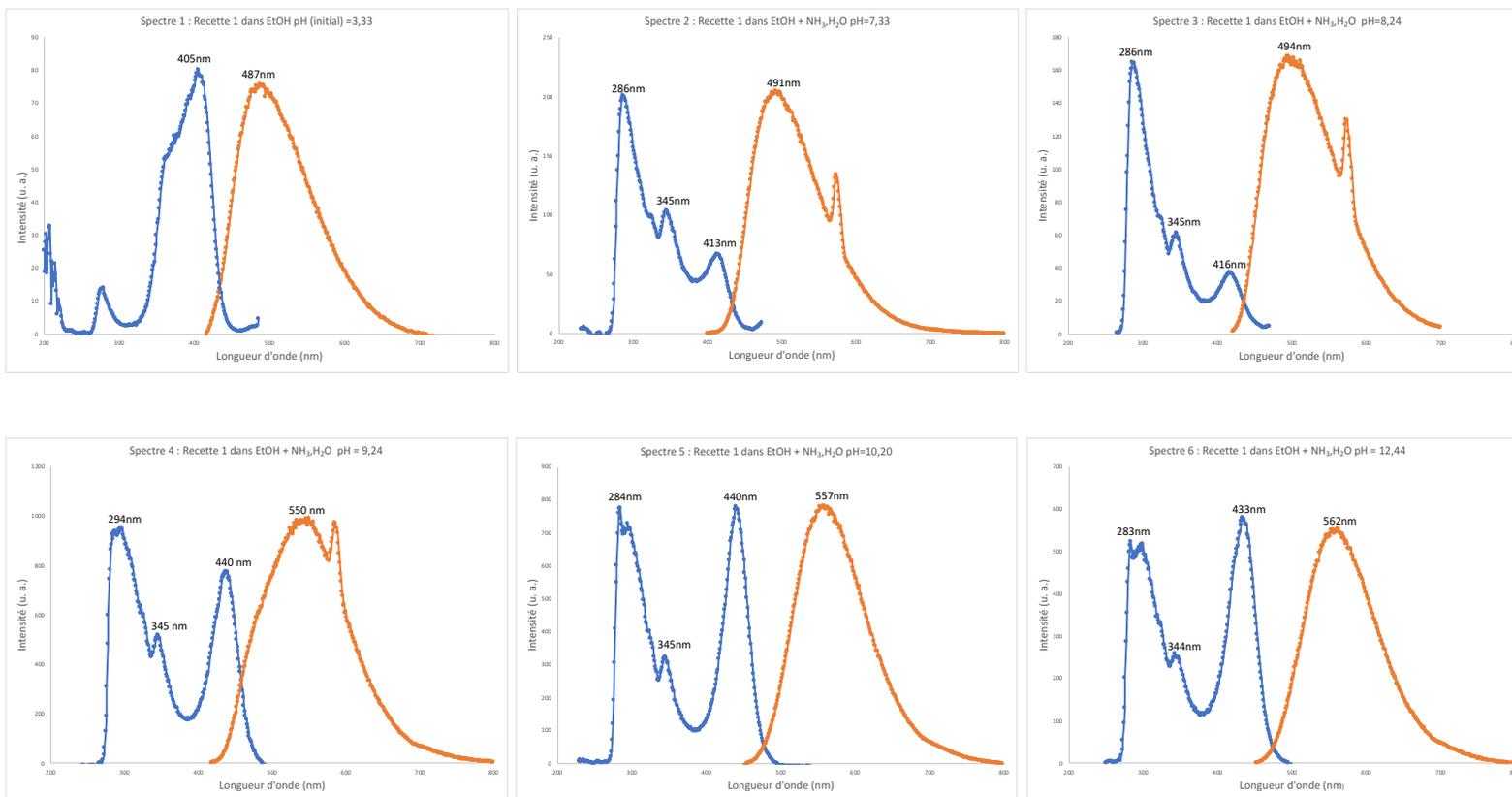
Résumé des observations faites sur les deux recettes et hypothèses du complexe présent en solution

Entrée	Recette de révélation	Observations	Complexe présent en solution selon les observations
1	<p><u>Solvant organique</u></p> <p>0,283 mmol de ZnCl₂ et 0,565 mmol de 8-hydroxyquinoline dans 250 mL de solvant organique.</p> <p>Révélation obtenue après 15 minutes de trempage.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Solution colorée après l'ajout des deux réactifs + pH acide → formation d'un lien covalent entre le zinc et l'oxygène; - Soluble dans les solvants organiques et insoluble dans l'eau; - Solution fluorescente. 	 <p style="text-align: center;">57</p>
2	<p><u>Eau</u></p> <p>0,00625 M de ZnCl₂ et 0,0125 M de sulfate d'hydroxyquinoline.</p> <p>Révélation obtenue après 5 secondes de trempage.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Solution pH acide, selon le pKa de la pyridinium dans l'eau, les azotes devraient être protonés à ce pH; - Solution non fluorescente; - Soluble dans l'eau. 	 <p style="text-align: center;">58</p>

D'autres tests ont été faits pour confirmer les hypothèses avancées au Tableau 4.7. D'abord, une solution aqueuse basique d'hydroxyde d'ammonium a été ajoutée à la recette avec le sulfate de 8-hydroxyquinoline dans l'eau (entrée 2 dans le Tableau 4.7, qui sera appelé recette 2). Selon les hypothèses avancées, où **58** est bel et bien présent en solution, l'augmentation du pH déprotonerait les azotes. Ces derniers formeraient un lien de coordination avec le zinc pour donner le composé **57**, qui précipiterait en solution puisqu'il est insoluble dans l'eau. Ce précipité isolé devrait normalement être soluble dans des solvants organiques et être fluorescent. Lorsque la solution

d'hydroxyde d'ammonium a été ajoutée à la recette 2 (recette dans l'eau utilisant le sulfate 8-hydroxyquinoline) jusqu'à l'obtention d'un pH de 7, la solution est devenue très trouble jusqu'à la formation d'un précipité vert. Ce précipité a été isolé par filtration sous vide et celui-ci était soluble dans les solvants organiques tels que l'éthanol. Lorsque ce précipité était solubilisé dans des solvants organiques, la solution était fluorescente ($\lambda_{\text{excitation}}=465\text{nm}$ $\lambda_{\text{émission}}=568\text{nm}$ dans le DMSO et $\lambda_{\text{excitation}}=424\text{nm}$ $\lambda_{\text{émission}}=558\text{nm}$ dans l'éthanol). Ceci était particulièrement intéressant et confirmait davantage les hypothèses que **58** était présent en solution. Pour confirmer que c'était bel et bien **57** qui avait été formé lorsque de l'hydroxyde d'ammonium a été ajouté à la recette 2, le Zn-hydroxyquinoline (**57**) a été acheté commercialement. Le Zn-hydroxyquinoline (**57**) commercial a les mêmes longueurs d'onde d'excitation et d'émission dans le DMSO que le précipité isolé et les deux composés correspondent également en IR. Nous sommes donc confiants que **58** est bel et bien présent en solution dans la recette 2 et lorsqu'une base est ajoutée, **57** se forme, précipite en solution et est fluorescent.

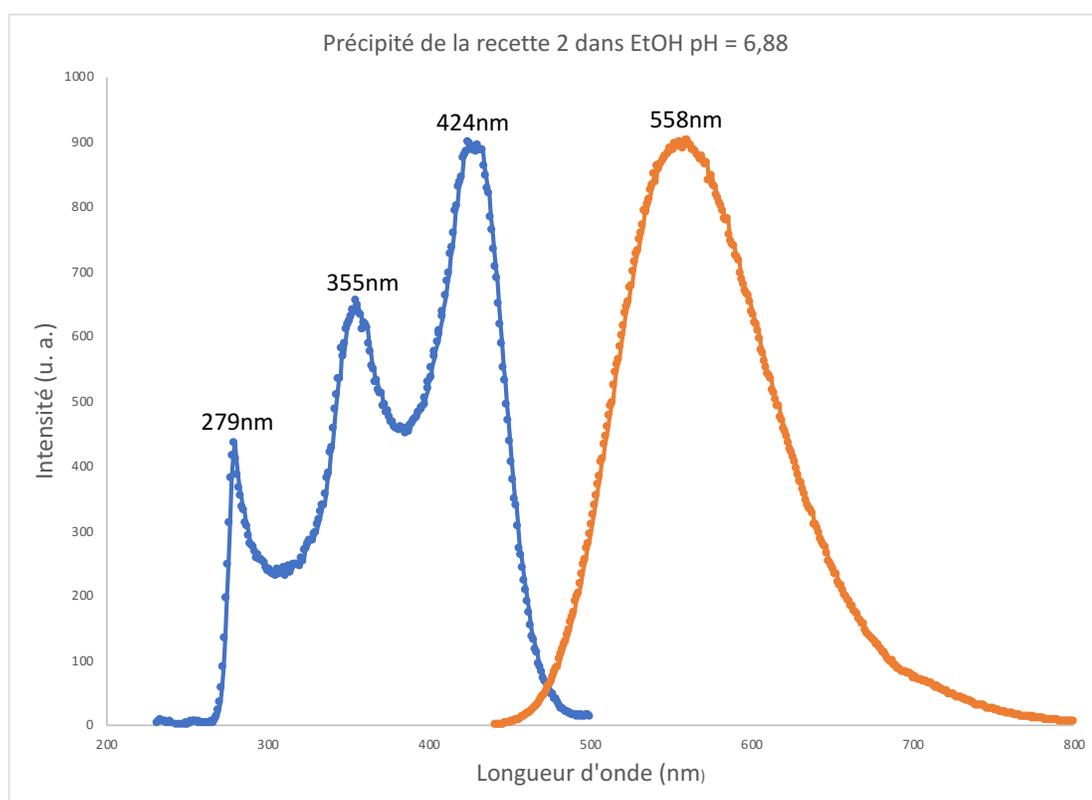
Nous voulions également confirmer que **57** était bel et bien présent en solution dans la recette dans les solvants organiques (entrée 1 du Tableau 4.7, qui sera appelé recette 1). Pour ce faire, nous avons pris les spectres d'excitations et d'émission de cette recette à différents pH. Encore une fois, une solution d'hydroxyde d'ammonium a été ajoutée pour l'augmentation du pH. Le solvant de cette recette est l'éthanol. Lorsque la solution d'hydroxyde d'ammonium a été ajoutée à la recette 1, le tout est resté complètement limpide, aucun précipité ne s'est formé. Cependant, les spectres d'excitation et d'émission ont changé au fur et à mesure que le pH augmentait (voir les spectres au Graphique 4.3).



Graphique 4.3 Spectres d'excitation (en bleu) et d'émission (en orange) de la recette à l'entrée 1 du tableau 4.7 dans l'éthanol à des pH de 3,33; 7,33; 8,24 ; 9,24 10,20; 12,44 de gauche à droite et de haut en bas respectivement. Les pH ont été ajustés avec l'ajout d'hydroxyde d'ammonium.

Il est possible de remarquer au spectre 1 du Graphique 4.3 que la recette 1 à pH initial (3,33) présente une fluorescence dans l'éthanol avec une bande d'excitation maximale à 405 nm et une émission maximale à 487 nm. L'ajout d'hydroxyde d'ammonium à cette solution jusqu'à un pH de 7,33 (spectre 2 au Graphique 4.3) induit un changement dans le spectre d'excitation et d'émission. En effet, le spectre d'excitation passe maintenant à trois bandes d'excitation à 286, 345 et 413 nm avec une émission à 491 nm. Ceci pourrait être dû au changement de solvant, qui n'est maintenant plus seulement de l'éthanol, mais un mélange d'eau basique et d'éthanol, puisque l'ajout d'hydroxyde d'ammonium nécessite l'ajout d'eau. Cependant, les changements continuent à se produire au fur et à mesure que le pH augmente. En effet, les spectres 3, 4, 5 et 6 au Graphique 4.3 illustrent les spectres d'excitation et d'émission au pH respectivement de 8,24; 9,24; 10,20 et 12,44 avec l'ajout d'hydroxyde d'ammonium. Il est possible de remarquer à travers ces 4 spectres que les trois bandes d'excitations varient en intensité, se situant toujours autour d'approximativement 280, 345 et 440 nm. La bande d'émission se déplace graduellement, jusqu'à 562 nm à pH de 12,44. Il est finalement possible de remarquer que l'intensité d'émission de fluorescence augmente de façon générale à travers les spectres, passant d'environ 80 u. a. au spectre 1 à environ 500 u. a. au spectre 6. Ces spectres au Graphique 4.3 nous indiquent donc que le changement de pH a une influence sur les longueurs d'onde d'excitations et d'émissions de la molécule présente en solution dans la recette 1 et a également une influence sur le rendement quantique qui devient plus élevé (voir fin de la section 3.2.2). Le Graphique 4.4 est le spectre d'excitation et d'émission du précipité récolté à partir de la recette 2 dans l'éthanol (qui a été associé à 57). Si les hypothèses émises au Tableau 4.7 avaient été bonnes et que 57 était effectivement présent en solution dans la recette 1, le spectre 1 au Graphique 4.3 concorderait avec le spectre au Graphique 4.4. Ce n'est toutefois pas le cas. En comparant le Graphique 4.4 aux spectres du Graphique 4.3, il est possible de voir qu'au fur et à mesure que le pH augmente, les bandes d'excitations et d'émission tendent vers la forme du spectre au Graphique 4.4. Bien que le spectre à pH 12,44 au Graphique 4.3 ne soit pas exactement

identique à celui du Graphique 4.4, il est possible de voir que le spectre tend vers cette forme, soit trois bandes d'excitation à 279, 355 et 424 nm et une émission à 558 nm. Il est possible également qu'il y ait une différence due à la solution qui n'est pas exactement la même. En effet, les spectres aux Graphique 4.3 sont dans un mélange d'éthanol/eau basique alors que le spectre au Graphique 4.4 est dans l'éthanol seulement.

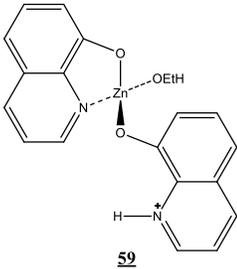
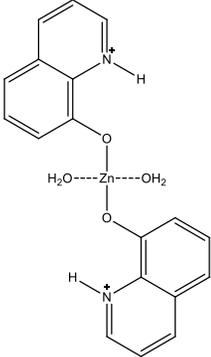


Graphique 4.4 Spectre d'excitation (en bleu) et d'émission (en orange) de **57** solubilisé dans l'éthanol.

En somme, ces observations ont permis de comprendre qu'il serait peu probable que la recette 1 ait en solution la forme déprotonée **57** initialement, mais que l'augmentation de pH semble indiquer qu'on tendrait vers cette forme déprotonée (**57**). Le Tableau 4.8 fait part des nouvelles hypothèses face aux résultats obtenus.

Tableau 4.8

Résumé des observations faites sur les deux recettes et conclusion sur le complexe présent en solution

Entrée	Recette de révélation	Observations	Complexe présent en solution initialement
1	<p><u>Solvant organique</u> 0,283 mmol de ZnCl₂ et 0,565 mmol de 8-hydroxyquinoline dans 250 mL de solvant organique. Révélation obtenue après 15 minutes de trempage.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Solution colorée après l'ajout des deux réactifs + pHAcide → formation d'un lien covalent entre le zinc et l'oxygène; - Soluble dans les solvants organiques et insoluble dans l'eau; - Solution fluorescente; - Lorsque le pH de la solution est augmenté, 57 semble se former. 	 <p>59</p>
2	<p><u>Eau</u> 0,00625 M de ZnCl₂ et 0,0125 M de sulfate d'hydroxyquinoline. Révélation obtenue après 5 secondes de trempage.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Solution a un pH acide (3,33), selon le pKa de la pyridinium, les azotes devraient être protonés à ce pH; - Solution non fluorescente; - Soluble dans l'eau; - Lorsqu'une base est ajoutée, 57 est formé. 	 <p>58</p>

Selon les observations, il serait plus logique que la structure **59** soit celle présente en solution initialement dans la recette 1. En effet, cette structure semi-protonée pourrait concorder avec une molécule fluorescente et soluble dans des solvants organiques dus à la partie rigide et non polaire de la molécule. De plus, cette structure concorderait davantage avec les résultats obtenus au Graphique 4.3, où l'augmentation de pH donne

lieu à de nouvelles bandes d'excitation et d'émission en fluorescence qui semblent indiquer que **57** est formé. En se basant sur ces observations, il serait logique que **59** soit présent en solution, car l'augmentation de pH déprotonerait l'azote qui formerait un lien de coordination avec le zinc pour former **57**. De plus, ceci expliquerait également l'augmentation générale de l'émission de fluorescence des spectres au Graphique 4.3. En effet, si on passe de **59** à **57** en solution avec l'ajout d'une base, nous formons essentiellement une molécule davantage fluorescente étant donné sa structure plus rigide (voir section 3.2.2 et Figure 3.11). Il est possible de voir que l'émission de fluorescence à travers les spectres au Graphique 4.3 augmente généralement. Ceci concorde donc avec le fait qu'on passe en solution d'une molécule moins fluorescente à une molécule plus fluorescente (c.-à-d. **59** à **57**).

Ces observations et conclusions ont permis d'en comprendre davantage sur comment la méthode de révélation pouvait fonctionner pour la révélation des traces digitales. En effet, si nous reprenons les tests effectués pour confirmer que **58** était présent en solution dans la recette 2, soit que l'ajout d'une base dans la recette 2 forme un précipité fluorescent correspondant à **57**. Il serait donc possible que ce soit un processus similaire qui se produise pour la révélation des traces digitales. En effet, lorsque **58** en solution se retrouverait dans un milieu riche en lipides telles les crêtes d'une trace digitale, la forme déprotonée (**57**) serait alors plus favorisée dans ce type de milieu. La formation de **57** sur les crêtes de la trace digitale forme un complexe fluorescent et insoluble dans l'eau, ce qui permet de visualiser les crêtes de la trace digitale fluorescente. Le Schéma 4.7 résume la façon dont la recette 2 fonctionnerait pour la révélation des traces digitales.

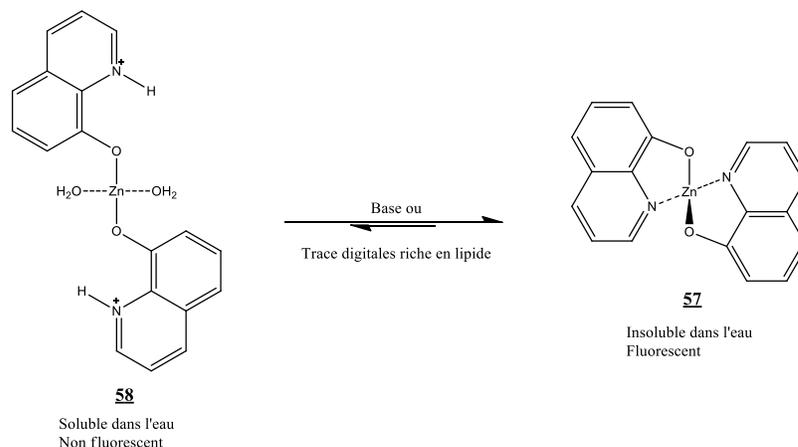


Schéma 4.7 Fonctionnement de la méthode de révélation de la recette 2.

Pour confirmer davantage ces hypothèses, le Zn-hydroxyquinoline commerciale (**57**) a été mis dans l'eau et de l'acide chlorhydrique a été ajouté à cette solution. Au départ, **57** n'était pas soluble dans l'eau, mais après l'ajout de HCl, **57** s'est solubilisé peu à peu jusqu'à l'obtention d'une solution complètement limpide. Le pH de la solution était de 1,16 et la solubilisation de **57** dans l'eau acide reforme la structure protonée (**58**). Des révélations d'empreintes digitales ont été obtenues à partir de cette solution (voir illustration de gauche Figure 4.21). Ceci est en accord avec le Schéma 4.7, où le fonctionnement de la méthode de révélation est seulement une question de pH et de forme protonée ou déprotonée et qu'il n'y a pas d'autres éléments qui viendraient interférer dans le fonctionnement de la méthode. Également, pour confirmer davantage l'hypothèse que c'est un environnement riche en lipides et non polaire qui favorise la forme déprotonée (**57**), de l'huile végétale a été mise sur des gants en nitrile et ceux-ci ont été apposés sur une feuille de papier. La composition des sécrétions recouvrant nos doigts est relativement complexe (voir Tableau 1.1), le fait d'utiliser des gants en nitrile préalablement trempés dans l'huile végétale permet d'y déposer seulement des esters de glycérine et des acides gras. L'endroit où les gants imbibés d'huile ont été apposés a montré une fluorescence après avoir été trempés dans la solution de révélation de la recette 2. Le motif texturé des gants de nitrile est même visible sur la révélation (voir

illustration de droite Figure 4.21). Ceci renforce l'hypothèse qu'un environnement essentiellement lipidique et non polaire favorise donc la forme déprotonée (**57**) et la visualisation de ces environnements en fluorescence.

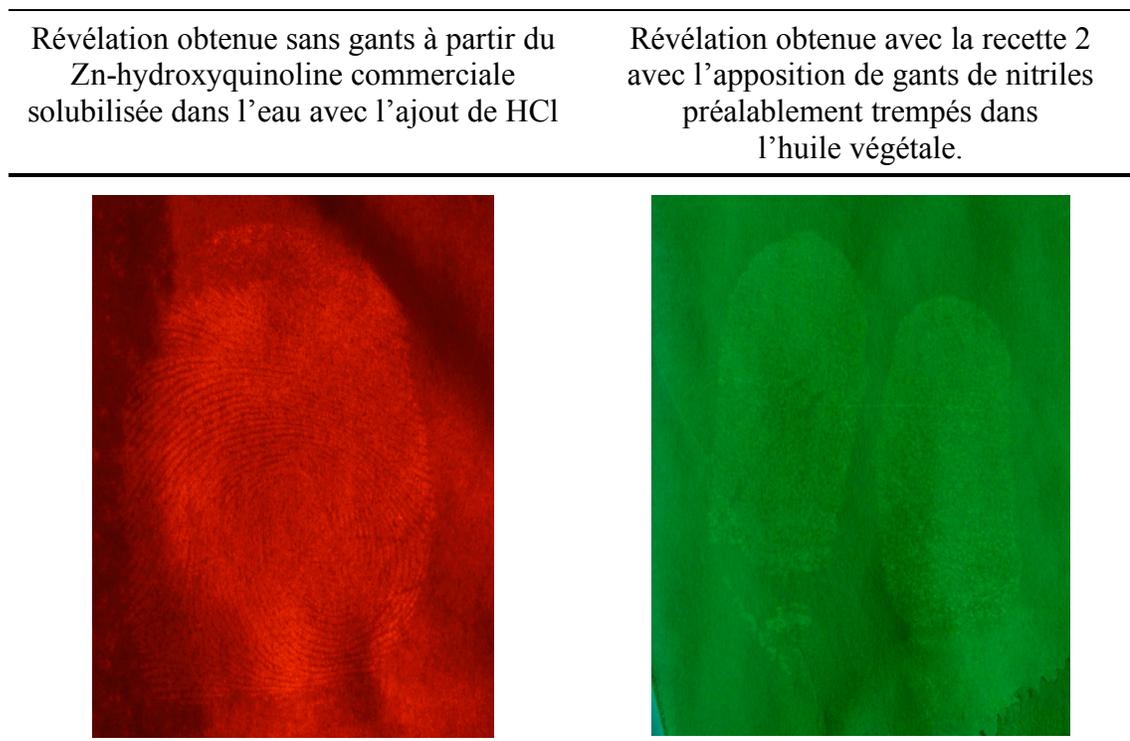


Figure 4.21 Révélation obtenue à partir du Zn-hydroxyquinoline commercial et l'ajout de HCl (gauche) et révélation obtenue à partir de gants de nitrile préalablement trempés dans l'huile végétale (droite).

Le Schéma 4.8 résume donc le fonctionnement de la méthode plus en détail. En a), les crêtes riches en lipides de l'empreinte digitale sont sur le support poreux. En b), lorsque ce support est trempé dans la solution de révélation, **58** qui est majoritairement présent en solution vient interagir avec les composés lipidiques des crêtes digitales (représenté par les flèches). En c), l'interaction de **58** avec les composés lipidiques favorise la formation du complexe **57**, qui est insoluble dans l'eau et fluorescent, restant donc dans les crêtes de l'empreinte digitale et leur donnant une fluorescence.

Enfin, d) représente l'équilibre entre 57 et 58, qui est favorisé vers 57 dans des milieux riches en lipides tels que les crêtes d'une empreinte digitale.

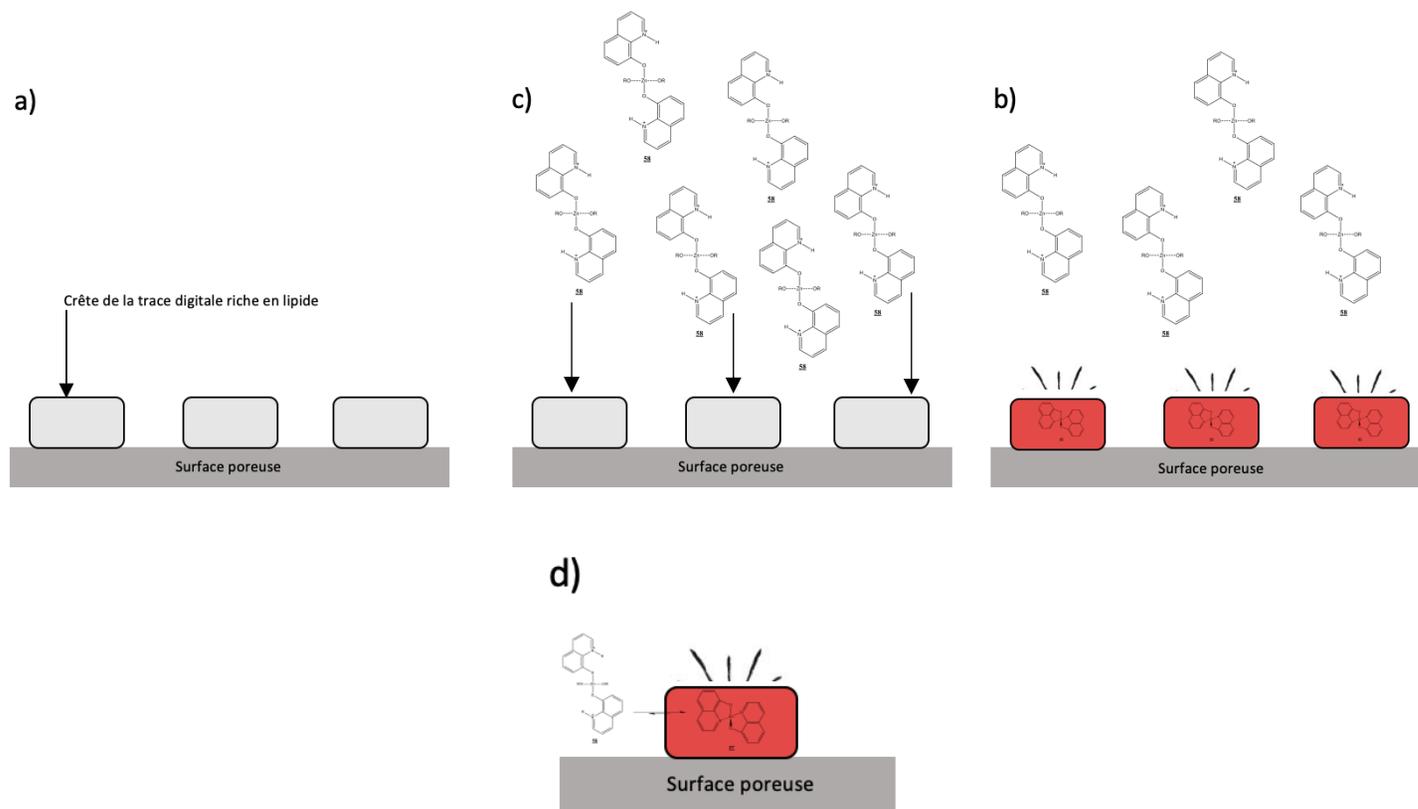


Schéma 4.8 Illustration du fonctionnement de la méthode de révélation de la recette 2. a) Les crêtes riches en lipides de l’empreinte digitale sont sur le support poreux. b) Le support poreux est trempé dans la solution composée majoritairement de **58**. c) L’interaction de **58** avec les composés lipidiques favorise la formation de **57**, donnant une fluorescence aux crêtes de l’empreinte digitale. d) Équilibre entre **57** et **58**, qui est favorisé vers **57** en milieux lipidiques.

4.2.5 Proposition d'amélioration de la recette et perspectives sur le Zn-hydroxyquinoline

À travers tous ces essais, certains ajouts ou modifications dans la recette de révélation se sont avérés bénéfiques pour la qualité des révélations obtenues. Entre autres, différents essais de séchages avec de la chaleur ont été essayés. Il est connu que le chauffage peut aider pour les révélations. Nous avons donc essayé le chauffage à l'étuve à 95 °C durant 20 minutes, à l'étuve à 80 °C avec une humidité relative de 60 % durant 20 minutes et un chauffage avec presses chauffantes à 160 °C durant 10 secondes. Ces conditions de chauffage ont été inspirées respectivement du DFO, de la Ninhydrine et de l'indanedione, des révélateurs aux acides aminés (voir section 2.1.2). Ces trois conditions ont donc été essayées avec la recette 2 qui utilise le sulfate d'hydroxyquinoline (**55b**) dans l'eau. Le papier était d'abord trempé dans la solution de révélation, puis séché à l'air libre sous une hotte chimique et ensuite placé à l'étuve à 80 °C ou à 95 °C ou encore sous la presse chauffante. L'étuve à 80 °C avec ou sans contrôle d'humidité s'est avéré le plus intéressant. L'étuve à 95 °C et la presse chauffante à 160 °C procurait du bruit de fond trop important, alors que l'étuve à 80 °C augmentait de façon significative la fluorescence des empreintes révélées tout en gardant un bon contraste. En effet, la Figure 4.22 illustre cette amélioration. Les donneurs d'empreintes ont apposé trois doigts sur une feuille de papier et cette empreinte a été divisée en deux. La première moitié (partie de gauche) a été révélée avec la recette 2 et séchée à l'air libre sous une hotte chimique alors que la deuxième moitié (partie de droite) a été révélée avec la recette 2, séchée à l'air libre sur une hotte chimique, puis mise à l'étuve à 80 °C durant 20 minutes. Il est possible de remarquer que le séchage à l'étuve permet de mieux visualiser les empreintes révélées en augmentant l'intensité de fluorescence de celle-ci, tout en gardant un bruit de fond relativement faible. Il est donc possible que le chauffage soit aussi une variable qui favorise l'équilibre vers la forme déprotonée (**57**). En effet, le chauffage pourrait

favoriser la perte de molécules d'eau reliées a la structure protonée (**58**) et favoriser la formation de la forme fluorescente (**57**)

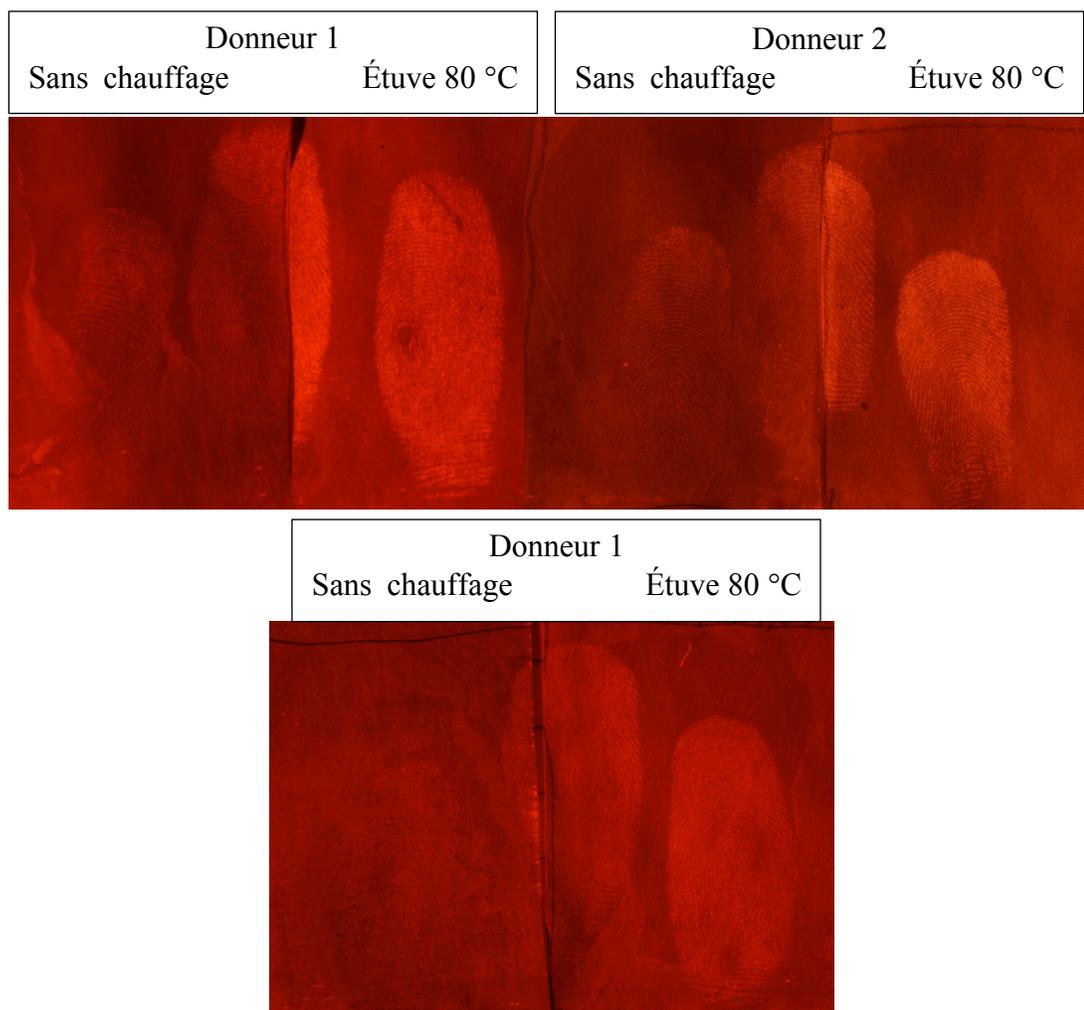


Figure 4.22 Illustration de l'amélioration de la fluorescence avec un chauffage à l'étuve durant 20 minutes à 80 °C.

À noter que pour chacune des empreintes, les deux moitiés correspondent à une seule image. Les conditions de séchage n'ont pas été optimisées totalement par manque de temps. Seuls des tests préliminaires ont permis de conclure que l'étuve à 80 °C durant 20 minutes donnait de meilleurs résultats que les autres. Il se pourrait qu'une

température d'étuve moindre et un temps plus long permettent d'obtenir un meilleur contraste entre l'empreinte et le support. Aussi, une température plus basse ou un temps plus court pour la presse chauffante pourrait permettre d'obtenir les mêmes résultats que l'étuve, voire mieux. Il serait donc intéressant éventuellement de tester davantage de conditions de chauffage pour déterminer celle la plus optimale.

Une autre amélioration possible de la méthode a également été apportée durant un stage à la Sureté du Québec. En effet, plutôt qu'utiliser le sulfate de 8-hydroxyquinoline dans la recette 2, le 8-hydroxyquinoline a été utilisé. Rappelons que le solvant de la recette 2 est l'eau et nous n'avions donc pas envisagé cette modification puisque le 8-hydroxyquinoline est peu soluble dans l'eau. Cependant, dans le but de réduire le bruit de fond, le 8-hydroxyquinoline a été essayé dans l'eau. Cette modification à la recette nécessite des manipulations quelque peu différentes. 0,00625 M de $ZnCl_2$ et 0,0125 M de 8-hydroxyquinoline sont mis dans l'eau et une agitation est maintenue durant 10 minutes. La solution est par la suite filtrée, le papier peut être trempé pendant 5 secondes, séché à l'air libre sous une hotte chimique, puis chauffé avec des presses chauffantes à 125 °C durant 20 à 30 secondes. Cette nouvelle recette légèrement modifiée donne une solution incolore qui permet tout de même d'obtenir des révélations fluorescentes. Ceci pourrait être une avenue intéressante. En effet, elle pourrait permettre de pallier les problématiques rencontrées dans la section 4.2.3.4, où un mauvais contraste était obtenu entre l'empreinte et le support dû à la couleur de la solution qui procurait un bruit de fond important.

En somme, nous en connaissons maintenant davantage sur la méthode de révélation du Zn-hydroxyquinoline. Il serait intéressant dans un premier temps de confirmer ou infirmer les hypothèses sur le fonctionnement de la méthode de la révélation du Zn-hydroxyquinoline. Considérant que les hypothèses avancées sur la façon dont la méthode fonctionnerait sont bonnes, il serait intéressant de comparer les qualités des révélations obtenues à différents pH avec la recette 2 (utilisant l'eau comme solvant et

le sulfate de 8-hydroxyquinoline) pour voir si la méthode fonctionne mieux à un autre pH plus acide ou plus basique. Également, il serait intéressant d'optimiser davantage les conditions de chauffage pour voir celle permettant d'obtenir le meilleur contraste entre l'empreinte et le support. Suite à ceci, il serait intéressant de reprendre les révélations sur les différents supports à la section 4.2.3 avec les conditions optimisées pour voir si la méthode est maintenant plus intéressante et si les différentes problématiques rencontrées ultérieurement sont maintenant réglées. Il serait intéressant de tester en parallèle la nouvelle recette utilisant le 8-hydroxyquinoline et le ZnCl_2 dans l'eau développée durant le stage à la Sureté du Québec pour voir si elle est tout aussi performante, voire mieux. Finalement, il serait intéressant de voir si la recette 1 dans les solvants organiques pourrait être optimisée en modifiant le pouvoir protonant de celle-ci. En effet, considérant les hypothèses avancées sur la méthode de fonctionnement de la recette 2, il se pourrait qu'un pouvoir protonant différent permette de révéler davantage de donneurs d'empreinte avec la recette utilisant les solvant organique (recette 1).

CHAPITRE V

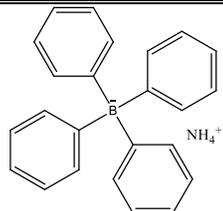
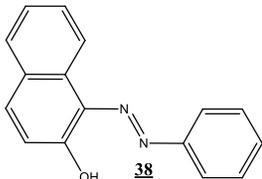
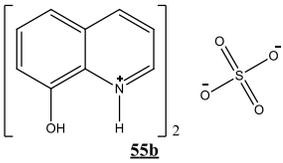
CONCLUSION ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

En conclusion, deux méthodes ont principalement été étudiées pour le développement d'un révélateur fluorescent ciblant les lipides. La première fut la rigidification de la structure d'analogues de l'Oil Red O via l'ajout d'une source de bore. Cette avenue a donné des résultats intéressants, car l'ajout d'une source de bore permet d'obtenir des analogues fluorescents, liposolubles et quelques révélations fluorescentes d'empreintes digitales ont été obtenues avec ces analogues fluorescents. Cependant, ces derniers semblaient relativement fragiles et pouvaient facilement se dégrader, donnant ainsi des révélations la plupart du temps non fluorescentes. Il serait donc intéressant d'essayer l'ajout d'autres sources de bore donnant naissance à un adduit boré plus stable pour permettre de l'utiliser dans différentes conditions sans craindre qu'il ne se dégrade. La source de bore devrait permettre de garder la structure de la molécule essentiellement non polaire pour que le DNHS des traces digitales soit ciblé lors des révélations. De façon plus générale, il serait également possible d'ajouter un acide de Lewis autre que le bore entre l'oxygène et l'azote de la fonction azo (tel qu'expliqué à la Figure 3.12). Cette stratégie semble efficace pour favoriser la fluorescence chez les composés azoïques. Cependant, bien que cette stratégie a donné des résultats intéressants, la deuxième méthode étudiée, soit l'utilisation du Zn-hydroxyquinoline, s'est avérée une avenue beaucoup plus intéressante pour le développement d'un révélateur lipidique fluorescent. Le Zn-hydroxyquinoline a d'abord donné des résultats plus intéressants contrairement aux analogues avec l'ajout d'une source de bore (**48** et **50**). En effet, des révélations fluorescentes peuvent être obtenues avec différents

donneurs d'empreintes (selon la recette) et la méthode cible le DNHS des traces digitales. Bien que plusieurs améliorations doivent d'abord être apportées à la méthode avant que celle-ci puisse être utilisée de façon opérationnelle, elle a montré des résultats beaucoup plus convaincants. De plus, il semblerait que des modifications légères à la méthode telles qu'un chauffage à l'étuve après les révélations ou encore l'utilisation de la 8-hydroxyquinoline plutôt le sulfate 8-hydroxyquinoline pourrait apporter des améliorations significatives. Un autre facteur important à prendre en compte pour le développement d'une méthode opérationnelle est le prix, la simplicité et les risques liés à chacun des produits. En effet, les analogues fluorescents de l'Oil Red O (**48** et **50**) ne sont pas disponibles commercialement et doivent être synthétisés. Ceci nécessite d'abord un reflux de 20 h dans le toluène ainsi qu'une recristallisation dans le méthanol avant d'obtenir les analogues fluorescents. Ceux-ci doivent ensuite être solubilisés dans le méthanol avec de l'eau et les supports sur lesquels se trouvent les traces digitales doivent être immergés durant 15 minutes. La méthode utilisant le Zn-hydroxyquinoline s'avère beaucoup plus simple et moins dispendieuse que celle utilisant les analogues **48** ou **50**. Le Tableau 5.1 compare les deux techniques au niveau du prix, du temps et des risques liés à chacune des méthodes. Ce tableau justifie davantage les raisons pour lesquelles la méthode utilisant le Zn-hydroxyquinoline s'avère plus intéressante pour le développement d'un révélateur fluorescent ciblant les lipides. En effet, la méthode est simple, rapide et peu coûteuse tel que l'illustre le Tableau 5.1.

Tableau 5.1

Tableau comparatif des deux techniques au niveau du coût, des risques et du temps

Méthode	Produits nécessaires	Coûts (Selon Sigma aldrich, pour 100 g)	Risques	Temps (incluant la préparation et le temps de révélation)
Ajout d'une source de bore (solvant : méthanol).	 49	1003 \$		~ 24 heures (Temps de trempage : 15 minutes)
	 38	80 \$		
Zn- hydroxyquinoline (solvant : eau).	 55b	77,60 \$		~ 10 minutes (Temps de trempage : 5 secondes)
	ZnCl ₂	33,30 \$		

Avant que la méthode du Zn-hydroxyquinoline puisse être utilisée de façon opérationnelle en tant que révélateur fluorescent ciblant les lipides, plusieurs étapes devraient être appliquées. D'abord, il serait nécessaire de suivre les lignes directrices d'évaluation des techniques de détection des traces digitales (International Fingerprint Research Group, 2014). En effet, ce guide a établi les bonnes pratiques à suivre pour l'évaluation d'une nouvelle méthode en phase d'étude jusqu'à sa phase opérationnelle. Selon les recommandations, la méthode du Zn-hydroxyquinoline serait en phase 1 (étude pilote) où la méthode a montré un potentiel intéressant pour la révélation des traces digitales. La méthode Zn-hydroxyquinoline devrait donc ensuite suivre la phase 2 et 3 (optimisation et comparaison ainsi que validation et essais pseudo-opérationnels) du guide d'évaluation des techniques de détection des traces digitales (International Fingerprint Research Group, 2014). À travers ces phases, il serait d'abord nécessaire d'optimiser la méthode selon les propositions suggérées à la fin de la section 4.2.5. Il serait ensuite nécessaire de réévaluer la performance de la méthode optimisée sur différentes surfaces avec différents donneurs d'empreintes et comparer ces performances aux autres révélateurs lipidiques tels que l'Oil Red O et le développeur physique. Il serait également nécessaire d'évaluer la performance de la méthode sur des empreintes plus âgées. Finalement, il serait intéressant de confirmer ou infirmer les hypothèses avancées à la fin de la section 4.2.4 (Schéma 4.8) sur le fonctionnement de la méthode pour la révélation des empreintes digitales. Si la méthode Zn-hydroxyquinoline est encore tout aussi intéressante à la suite de ces trois phases, la phase 4 (évaluation opérationnelle et essais cliniques) pourra suivre.

CHAPITRE VI

PARTIE EXPÉRIMENTALE

6.1 Remarques générales

Les produits commercialement disponibles ont été achetés chez Sigma-Aldrich ou VWR et ont été utilisés sans purification. Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées en utilisant des plaques d'aluminium recouvertes de 250 μ m de gel de silice de la compagnie Silicycle et contenant le révélateur F-254. Après élution, les produits sont détectés à l'aide des révélateurs suivants : lampe UV, iode solide, solution aqueuse d'acide phosphomolybdique (PMA). Les chromatographies éclair sur colonne ont été effectuées avec de la silice Silicycle 230-400 mesh (40-63 microns) et l'élution a été effectuée avec des solvants préalablement distillés. Les spectres d'absorption ont tous été pris entre 200 et 800 nm avec un spectrophotomètre de marque Agilent Technologies de modèle Cary60 UV-visible. Les spectres d'excitation et d'émission ont tous été pris entre 200 et 800 nm avec un spectrophotomètre à fluorescence Varian Cary Eclipse.

Tous les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été effectués avec un appareil Varian de 200 MHz, sauf pour le spectre 9 qui a été effectué avec un appareil Bruker 400 MHz Neo Avance. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm (δ) par rapport à une référence interne provenant du solvant résiduel non deutéré. Les constantes de couplages sont exprimées en Hertz (Hz). La multiplicité des spectres RMN 1 h a été décrite par les abréviations suivantes : s (singulet), sl (singulet large),

d (doublet), dd (doublet de doublet), t (triplet), td (triplet de doublet), tt (triplet de triplet), q (quadruplet), quint. (quintuplet) et m (multiplet).

Les spectres infrarouges (IR) des liquides et des solides ont été obtenus en utilisant un spectrophotomètre FTIR Thermo is10. Les liquides et les solides sont déposés directement sur la pointe en diamant de l'appareil. Les bandes d'absorption ont été exprimées en cm^{-1} . L'intensité des signaux en IR a été décrite par les abréviations suivantes : i (intense), m (moyen) et f (faible).

Les points de fusion ont été mesurés avec un appareil Electrothermal IA9100 et n'ont pas été corrigés.

La prise de photos des révélations d'empreintes digitales a été faite avec un appareil Nikon D3200 et un objectif de AF-S NIKKOR 18-55 mm 1:3.5-5.6 G. L'appareil était en mode manuel avec une mise au point automatique. Les paramètres de l'appareil étaient les suivants : *F8* ou *F18*, ISO100 et un temps d'exposition variant de 1/25 à 2 secondes. Le temps d'exposition était ajusté de façon à obtenir une exposition optimale. Les photographies étaient prises dans une salle noire et les révélations colorées étaient photographiées en lumière blanche (en mode absorption). Pour les révélations fluorescentes, celles-ci étaient observées à différentes longueurs d'onde et avec différents filtres d'observations. La longueur d'onde était ajustée à l'aide de l'appareil PAGLAB MSA-810 de Projectina possédant les lumières de longueur d'onde suivantes : 365, 365+, 415, 440, 450, 500, 530, 550 et 590 nm. L'intensité de la source lumineuse était toujours ajustée à 100 %. Les filtres d'observations consistent à des lunettes et des filtres de caméra (placés devant la lentille de l'appareil photo) de couleur jaune (495 nm), orange (530 nm) et rouge (590 nm). À la section 4.1 sur les produits borés, les révélations fluorescentes ont été obtenues avec une lumière de 500 nm et un filtre rouge. À la section 4.2 sur le Zn-hydroxyquinoline, les révélations

fluorescentes ont été obtenues avec une lumière de 415 nm et un filtre rouge ou bien une lumière de 365 nm et un filtre jaune.

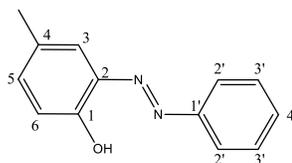
6.2 Modes opératoires

Procédure générale pour la préparation des analogues de l'Oil Red O (**37** à **39**) selon Xu et Zeng, 2010.

Dans un ballon de 250 mL contenant un agitateur magnétique, 8 mmol d'aniline (**12**) préalablement distillée sur du CaH₂ est ajoutée à 20 mL d'eau. Puis, 2,04 mL d'acide chlorhydrique concentré sont ajoutés à ce mélange. Ce dernier est mis sur glace pour être amené à 0 °C, puis une solution de 8,8 mmol de nitrite de sodium (**8**) dans 20 mL d'eau est ajoutée goutte à goutte sous agitation. Une fois l'addition terminée, on agite encore durant 20 minutes, où le sel de diazonium est formé (**mélange 1**).

Pendant ce temps, dans un ballon de 250 mL avec un agitateur magnétique, l'agent copulant (**37a, 38a ou 39a**) est solubilisé dans 30 mL d'éthanol à température pièce. Après solubilisation, 90 mL d'eau et 8 mmol d'hydroxyde de sodium sont ajoutés, le tout est placé sur glace pour amener le mélange à 0 °C (**mélange 2**).

Sous forte agitation, le **mélange 1** est ajouté au **mélange 2** goutte à goutte. Une fois l'addition terminée, on agite encore durant 45 minutes sur glace, puis 1 heure à température pièce. Un précipité coloré se forme et est isolé par filtration sous vide pour obtenir **37**, **38** ou **39**. Le précipité est recristallisé dans 50:50 (Éthanol : Eau) (**37**), 100 % éthanol (**38**) et 75:25 (Éthanol : Eau) (**39**). Le précipité est finalement séché sous une pompe à vide.

4-méthyl-2-(phényldiazényl)phénol (**37**) #CAS : 952-47-6

67 % (571,2 mg)

Solide jaune

Point de fusion : 106,0 - 107,3 °C

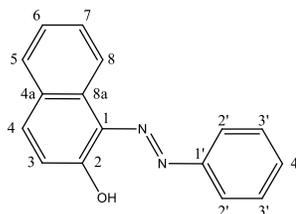
RMN ^1H , δ (ppm, CDCl_3), J (Hz) : 12,70 (1 H, s, OH); 7,87 (2 H, dd, J= 8,0 et 1,7 ArH en C2'); 7,76 (1 H, d, J=1,7 ArH en C3); 7,57-7,46 (m, 3 H, ArH en C3' et C4'); 7,17 (dd, 1 H, J=8,2 et 2,3 ArH en C5) ; 6,94 (1 H, d, J=8,2 ArH en C6) ; 2,39 (3 H, s, CH_3).

RMN ^{13}C δ (ppm, CDCl_3) : 150,6 et 150,5 (C1' et C1); 137,0 (C4); 134,3; 133,0 et 131,0 (C5, C3 et C4'); 129,3 (C3'); 129,2 (C2); 122,2 (C2'); 117,9 (C6); 20,3 (CH_3).

IR (pur), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3112 (i, élongation O-H lié); 3022 (m, élongation C-H aromatique); 2914 et 2860 (i, élongation $-\text{CH}_3$ asymétrique et symétrique du CH_3); 1621 et 1593 (m, vibration C=C aromatique et élongation N=N); 1496 et 1457 (i, vibration C=C aromatique); 1407 (m, déformation O-H dans le plan); 1313 (m, élongation C-N); 1214 (i, élongation C-O); 898 (f, déformation C-H hors plan); 822 (m, déformation C-H hors plan); 759 (i, déformation C-H hors plan).

Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST).

1-(phényldiazényl)naphthalèn-2-ol **38** #CAS : 842-07-9



68 % (1,351 9 g)

Solide rouge

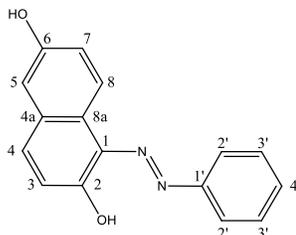
Point de fusion : 130,0-132,0 °C

RMN ^1H δ (ppm, CDCl_3), J (Hz) : 8,57 (1 H, d, $J=8,6$, ArH en C8); 7,77-7,70 (3 H, m, ArH en C4 et C2'); 7,62-7,29 (6 H, m, ArH en C3', C4', C7, C6, et C5); 6,87 (1 H, d, $J= 8,0$ ArH en C3).

RMN ^{13}C δ (ppm, CD_3COCD_3) : 167,3 (C2); 146,3 (C1'); 139,2 (C4); 133,4 (C8a); 129,7 (C3'); 129,6 ; 128,8; 128,7 et 128,3 (C1; C4'; C7 et C5); 125,6 (C6); 123,4 (C3); 121,5 (C8); 119,3 (C2'); C4a manquant.

IR (pur), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3035 (f, élongation C-H aromatique); 1617 et 1586 (m, vibration C=C aromatique et élongation N=N); 1493 et 1447 (i, vibration C=C aromatique); 1389 (m, déformation O-H dans le plan); 1321 (m, élongation C-N); 1205 (s, élongation C-O); 840 (i, déformation hors plan C-H aromatique); 748 (i, déformation hors plan C-H aromatique).

Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : Di Donna *et al.*, 2004; Velasco *et al.*, 2011; Valizadeh, Amiri et Hosseinzadeh, 2012; Hansen et Lycka, 1986.

(1-(phényldiazényl)naphthalèn-2, 6-ol) (**39**)

43,2 % (456,9 mg)

Solide rouge

Point de fusion : 243,7 – 244,8 °C

RMN ¹ H δ(ppm, CD₃COCD₃), J (Hz) : 8,68 (1 H, s, OH sur le carbone 2); 8,51 (1 H, d, J=9,0, ArH en C8); 8,01 (1 H, s, OH sur le carbone 6); 7,85 (2 H, dd, J=8,6 et 1,2 ArH en C2'); 7,77 (1 h, d, J= 9,4, ArH en C4); 7,55 (2 H, td, J= 7,4 et 2,0 ArH en C3'); 7,36 (1 H, tt, J=7,4 et 1,2 ArH en C4'); 7,20 (dd, 1 H, J=8,8 et 2,3 ArH en C7); 7,15 (1 H, d, J=2,3 ArH en C5); 6,86 (d, 1 H, J=9,4 ArH en C3).

RMN ¹³ C δ(ppm, CD₃COCD₃) : 167,9 (C2); 155,7 (C6); 146,1 (C1'); 138,9 (C4); 130,1 (C1); 129,7 (C3'); 127,6 (C4'); 126,5 (C4a); 124,2 (C3); 123,4 (C8); 118,9 (C7); 118,7 (C2'); 112,15 (C5); C8a manquant.

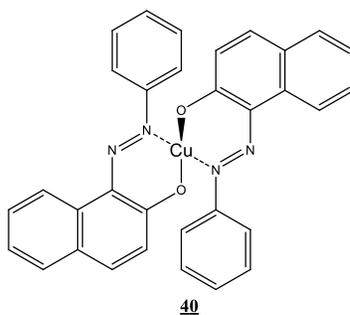
IR (pur), ν(cm⁻¹) : 3149 (i, élongation O-H lié); 1597 et 1566 (m-i, vibration C=C aromatique et élongation N=N); 1504 et 1451 (i, vibration C=C aromatique); 1363 (m, déformation O-H dans le plan); 1321 (m, élongation C-N); 1222 (i, élongation C-O); 820 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 748 (m, déformation hors plan C-H aromatique).

Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : Hristova, S *et al.*, 2018.

Procédure générale pour la synthèse des complexes métalliques (**40** - **42**) selon Ferreira et Oliveira, 2017.

Dans un ballon de 100 mL et avec un agitateur magnétique, 1 mmol de 1-(phényldiazenyl)naphthalen-2-ol (**38**) est ajouté dans 60 mL de méthanol (pour le complexe avec le cobalt) ou 30 mL méthanol et 30 mL dichlorométhane (pour le complexe avec le cuivre ou le nickel). 0,106 g de Na₂CO₃ est ajouté doucement au mélange sous agitation. Le complexe métallique est ajouté selon les équivalents (0,400 mmol de CuCl₂.2H₂O, 0,400 mmol de NiCl₂.6H₂O et 0,266 mmol de CoCl₂.6H₂O) et le tout est sous agitation à reflux durant 24 h. Le mélange réactionnel est ensuite filtré sous vide et le précipité récupéré est lavé avec des portions de méthanol, d'eau, d'éthanol et d'éther. Le précipité est finalement séché sous une pompe à vide.

bis-1-(phényl-azo)-2-naphtholatecopper(II) (**40**)



84 % (0,237 5 g)

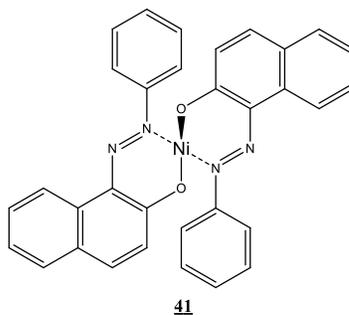
Solide bourgogne

Point de fusion : 290,9 à 292 °C

IR (pur), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3058 (m, élévation C-H aromatique); 1939 et 1916 (f, C-H aromatique hors plan); 1615 et 1595 (m, vibration C=C aromatique et élévation N=N); 1497 et 1459 (i, vibration C=C aromatique); 1368 et 1345 (i, élévation C-N); 1219 (f, élévation C-O); 814 (m, déformation C-H aromatique); 735 (i, déformation hors

plan C-H aromatique); 689 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 657 (f, vibration Cu-O).

Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : Ferreira et Oliveira, 2017.

bis-1-(2,4 -xylylazo)-2-naphtholatenickel(II) (**41**)

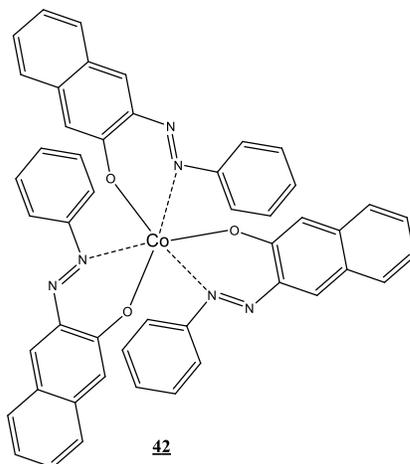
94 % (0,208 5 g)

Solide vert foncé

Point de fusion : 293,3 à 294,5 °C

IR (pur), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3058 (i, élongation C-H aromatique); 1960, 1938 et 1915 (f, C-H hors plan aromatique); 1614 et 1593 (m, vibration C=C aromatique et élongation N=N); 1497 et 1459 (i, vibration C=C aromatique); 1368 et 1345 (i, élongation C-N); 1218 (f, élongation C-O) 812 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 735 (i, déformation hors plan C-H aromatique); et 693 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 657 (f, vibration Ni-O).

Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : Ferreira et Oliveira, 2017.

tris-1-(phénylazo)-2-naphtholatecobalt(III) (**42**)

66 % (0,131 9 g)

Solide brun

Point de fusion : 218,4 à 219,1 °C

IR (pur), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3058 (m, élongation C-H aromatique); 1613 et 1593 (m, vibration C=C aromatique); 1498 et 1468 (i, vibration C=C aromatique et élongation N=N); 1367 et 1353 (i, élongation C-N); 1215 (f, élongation C-O); 826 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 739 (i, déformation hors plan C-H aromatique); 691 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 656 (f, vibration Co-O).

Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : Ferreira et Oliveira, 2017.

Procédure générale pour la synthèse du (2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (**50**) et du (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**)

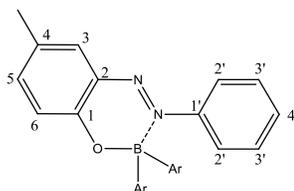
Méthode A (inspiré de Singh, 2014 pour la préparation de l'acide diphénylborinique (**46**) et inspiré de Bessler *et al.*, 2005 pour la préparation de **48** ou (**50**)) :

Dans un vial de 10 mL et contenant un barreau magnétique, 0,2 mL d'acétone et 0,2 mL de méthanol sont ajoutés à 0,4 mmol de 2-aminoéthyl diphénylborinate (**45**), puis 0,5 mL de HCl 1M est ajouté. Le vial est fermé avec un bouchon et l'agitation est laissée durant 1 heure, la solution devient laiteuse. La solution est diluée avec de l'éther diéthylique, puis lavée avec 3 portions d'eau dans une ampoule à décanter. Les phases aqueuses sont lavées avec 3 portions d'éther diéthylique et les phases organiques rassemblées sont lavées à l'eau salée et séchées au Na₂SO₄. L'éther diéthylique est évaporé sous vide pour récupérer un solide blanc (**46**).

1 mmol de **46** et 1 mmol du composé azoïque (**37** ou **38**) sont placées dans un ballon de 100 mL avec un agitateur magnétique et 30 mL de toluène sont ajoutés. Le tout est surmonté d'un réfrigérant et d'un Dean-stark, puis chauffé à reflux durant 20 h. Le tout est ensuite filtré et évaporé sous vide pour récupérer un solide rouge foncé qui est recristallisé dans le méthanol pour obtenir (**48** ou **50**).

Méthode B (selon Bessler *et al.*, 2005) :

1 mmol d'ammonium tétraphénylborate (**49**) et 1 mmol du composé azoïque (**37** ou **38**) sont placées dans un ballon de 100 mL avec un agitateur magnétique et 25 mL de toluène est ajouté. Le tout est surmonté d'un réfrigérant et apporter à reflux durant 20 h. L'évolution de la réaction peut être suivie à l'aide d'un papier pH porté au-dessus du reflux. Le dégagement d'ammoniaque rend le papier bleu. Le mélange réactionnel est ensuite filtré et le toluène est évaporé sous vide pour récupérer un précipité rouge foncé qui est recristallisé dans le méthanol.

(2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (50)

Solide rouge

Point de fusion : 134,8-145,4 °C

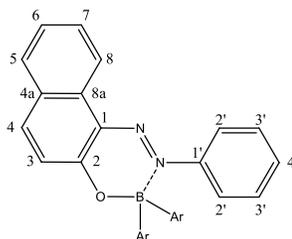
RMN ¹ h δ(ppm, CDCl₃), J (Hz) : Produit impur, voir spectre A.4 en annexe.

7,89-7,76 (2 H, m, ArH en C2'); 7,52-7,13 (20 H, m, ArH en C3, C3', C4', C5 et B-ArH); 6,94 (d, 1 H, J=8,6 et 1,6 ArH en C6); 2,28 (3 H, s CH₃).

RMN ¹³C δ(ppm, CDCl₃) : Produit impur, voir spectre A.9 en annexe. Étant donné l'impureté du produit, certains signaux n'ont pas pu être assignés.

150,7 et 148,1 (C1' et C1); 141,8; 139,8 (C4); 134,7; 134,3; 133,6 (C3'); 133,0; 132,5; 131,1; 131,0; 130,4; 130,1; 129,4; 128,3; 127,9; 127,2 (C2'); 126,8; 124,5; 122,2; 120,0; 117,9; 20,2 (CH₃).

IR (pur), ν(cm⁻¹) : 3067 (f, élongation C-H aromatique); 2928 (m, élongation C-H asymétrique du CH₃); 1618 et 1590 (f-m, vibration C=C aromatique); 1499 et 1458 (f-m, vibration C=C aromatique) ; 1371 (i, élongation C-N); 1237 (m, élongation C-O); 886 et 836 (f-m, déformation hors plan C-H aromatique); 730 et 700 (i, déformation hors plan C-H aromatique).

(1 -phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**)

Solide rouge

Point de fusion : 196,8 à 199,4 °C

RMN ¹ H δ(ppm, CDCl₃), J (Hz) : Produit impur, voir spectre A.5 en annexe.

8,43 (d, 1 H, J=8,2, ArH en C8); 7,94 (d, 1 H, J=9,0, ArH en C4); 7,70 (d, 1 H, J=8,2, ArH en C3); 7,61-7,57 (m, 3 H); 7,47-7,38 (m, 5 H) et 7,28-7,12 (m, 8 H) ArH en C2', C3', C4', C7, C6, C5 et B-ArH.

RMN ¹³ C δ(ppm, CDCl₃) : Produit impur, voir spectre A.10 en annexe. Étant donné l'impureté du produit, certains signaux n'ont pas pu être assignés.

154,8 (C2); 148,1 (C1') 142,6 (C4); 137,7; 133,7 (C3'); 127,2 (C2'); 129,8; 129,6; 129,5; 128,9; 128,3; 126,9; 125,8; 124,5; 121,4; 120,6.

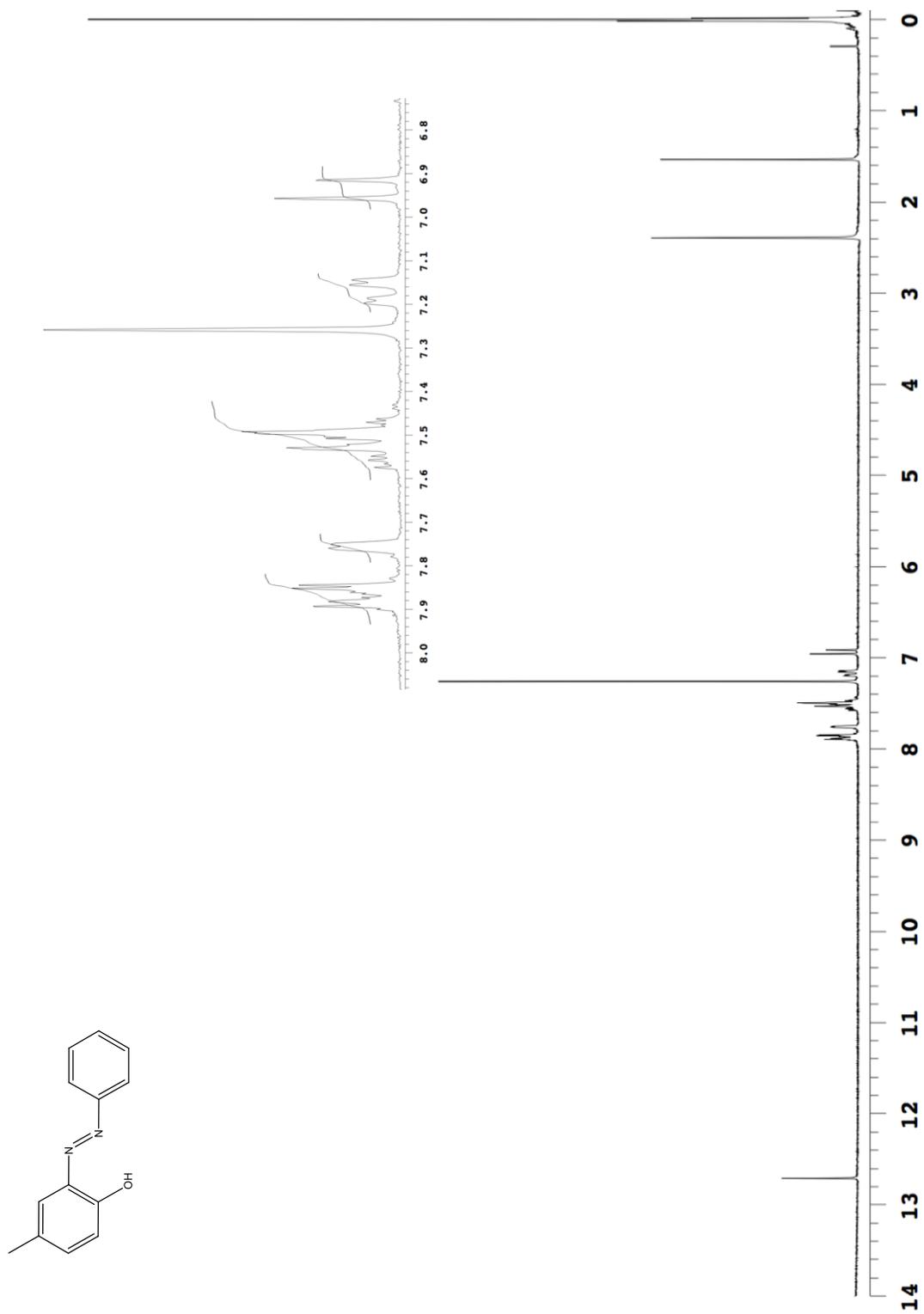
IR (pur), ν(cm⁻¹) : 3056 (i, élongation C-H aromatique); 1616 et 1589 (m, vibration C=C aromatique); 1508 et 1456 (m, vibration C=C aromatique); 1357 (i, élongation C-N); 1200 (i, élongation C-O); 836 (m, déformation hors plan C-H aromatique); 753 (m-i, déformation hors plan C-H aromatique) 740 (m-i, déformation hors plan C-H aromatique).

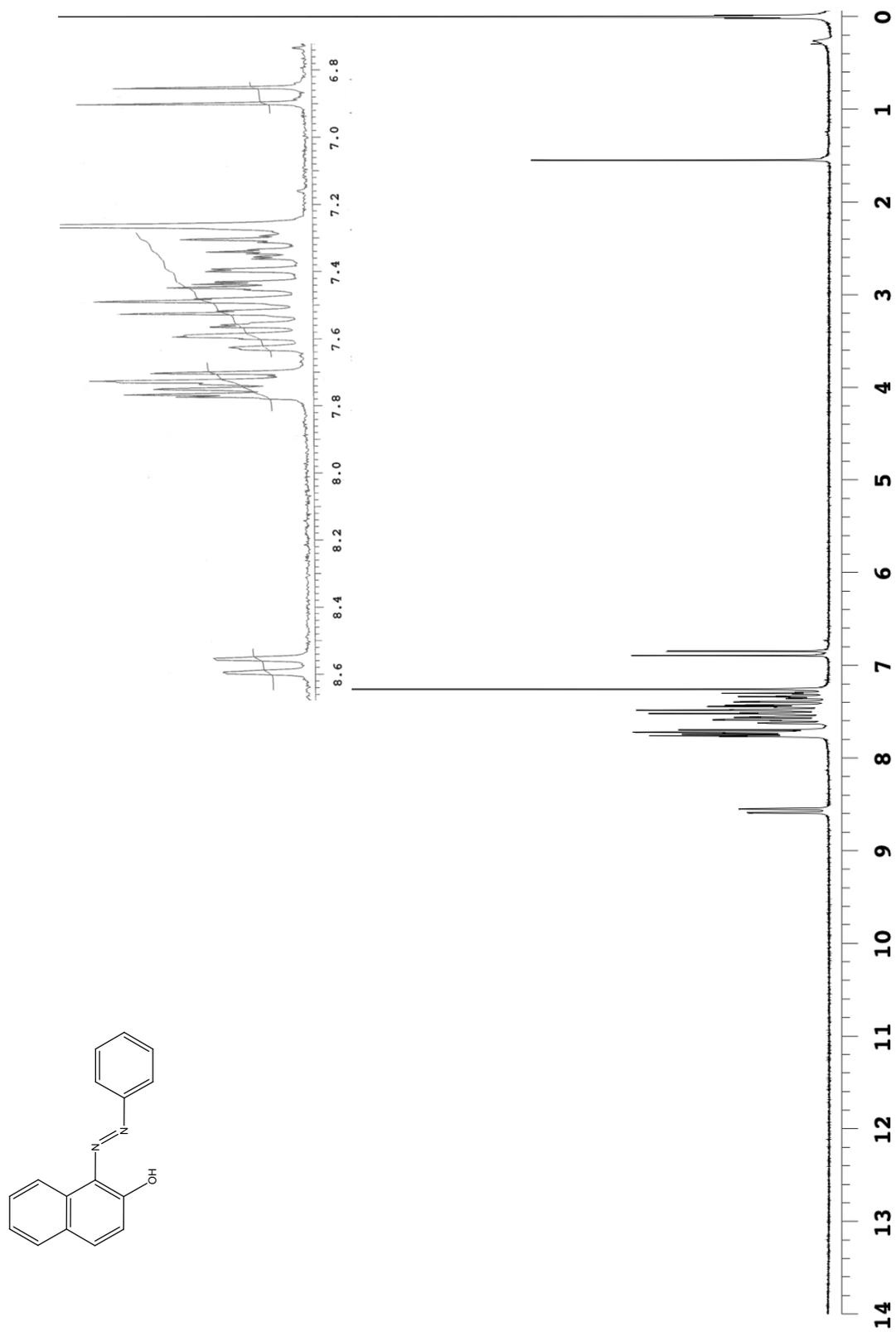
Les données spectrales concordant avec celles de la littérature : (Bessler *et al.*, 2005).

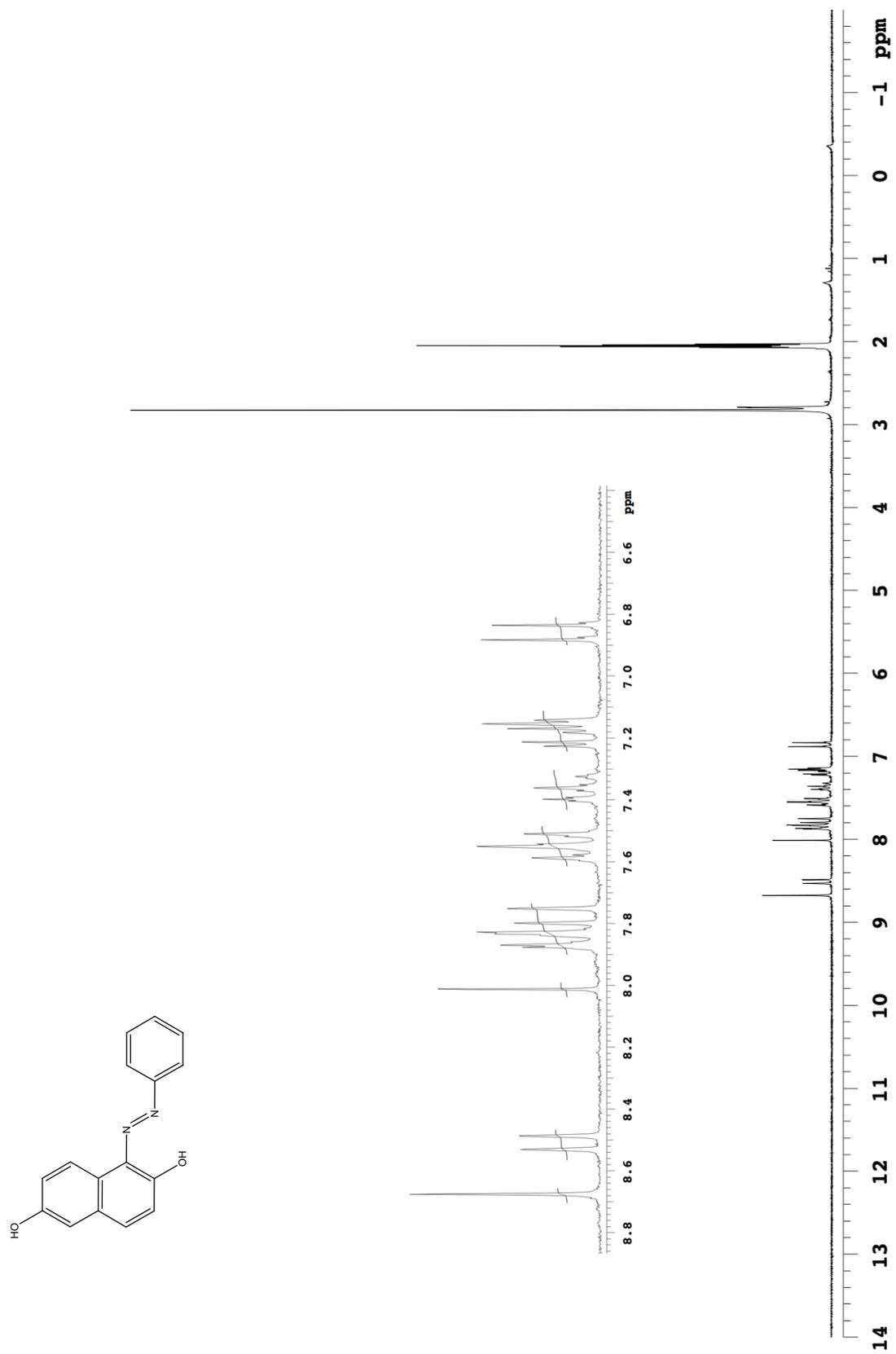
ANNEXE A

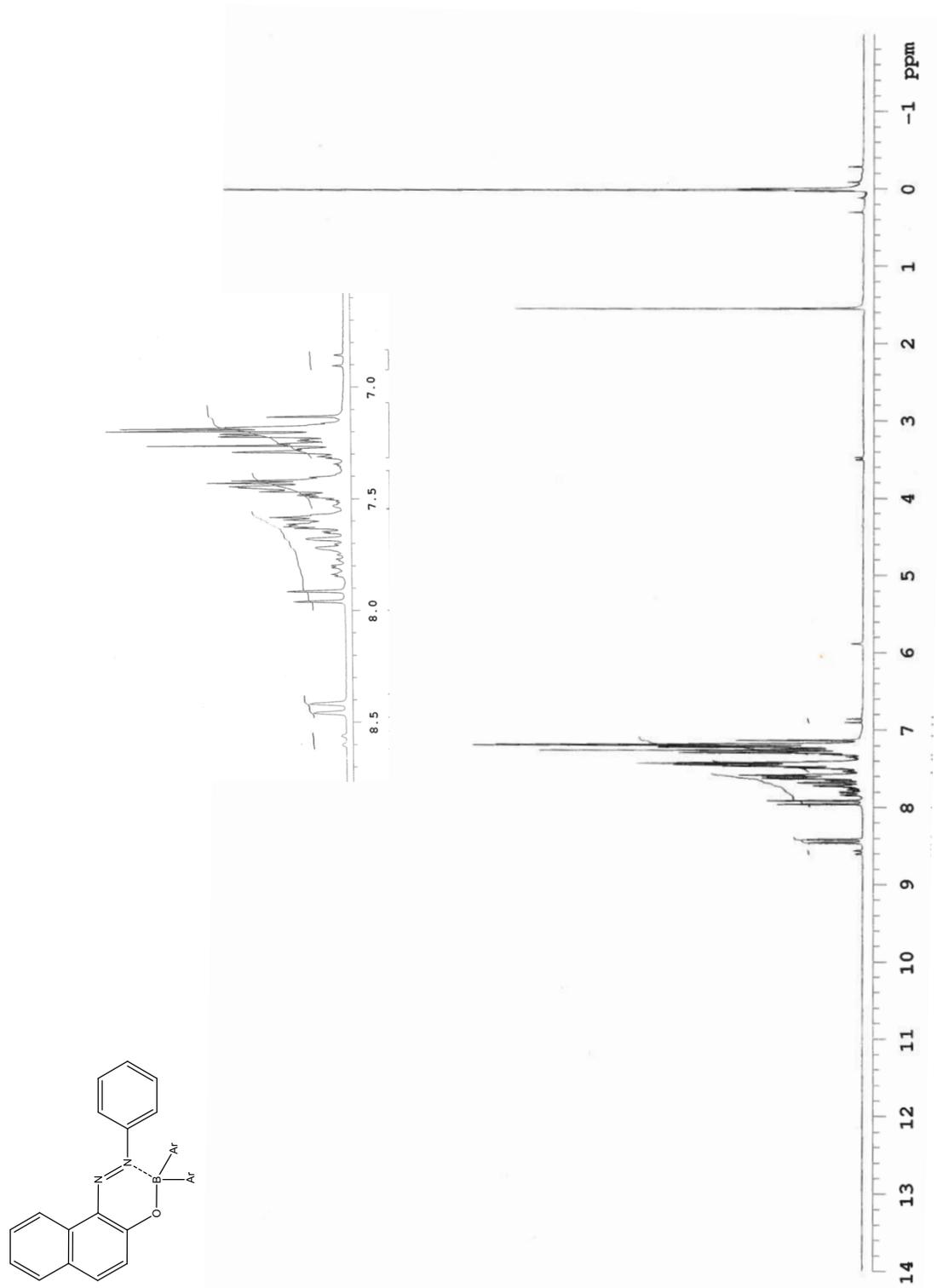
SPECTRES RMN ^1H ET ^{13}C

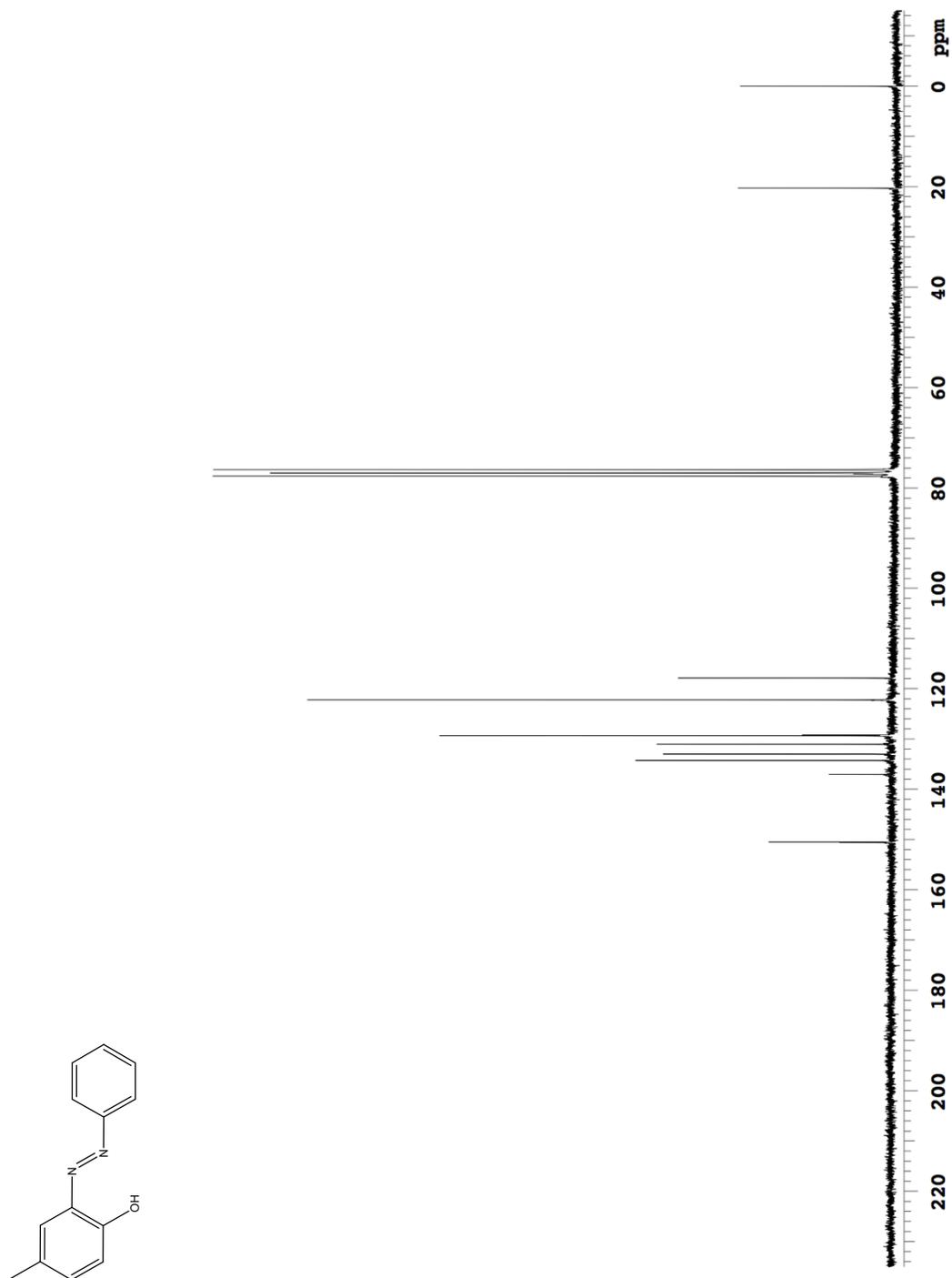
Les spectres RMN ^1H sont tous présentés selon l'ordre de numérotation des composés. Ils sont suivis, dans le même ordre, des spectres RMN ^{13}C . Le solvant utilisé pour la solubilisation de tous les produits est le chloroforme deutéré (CDCl_3) ou bien l'acétone deutéré (CD_3COCD_3). Ceci explique le pic à 7,26 ou à 2,05 ppm dans les spectres de proton et les trois pics situés entre 77 et 80 ppm ou à 207 ppm dans les spectres de carbone pour le CDCl_3 . Certains composés contiennent de l'eau, ce qui explique le pic à 1,54 ppm dans le chloroforme deutéré ou à 2,84 ppm dans l'acétone deutéré.

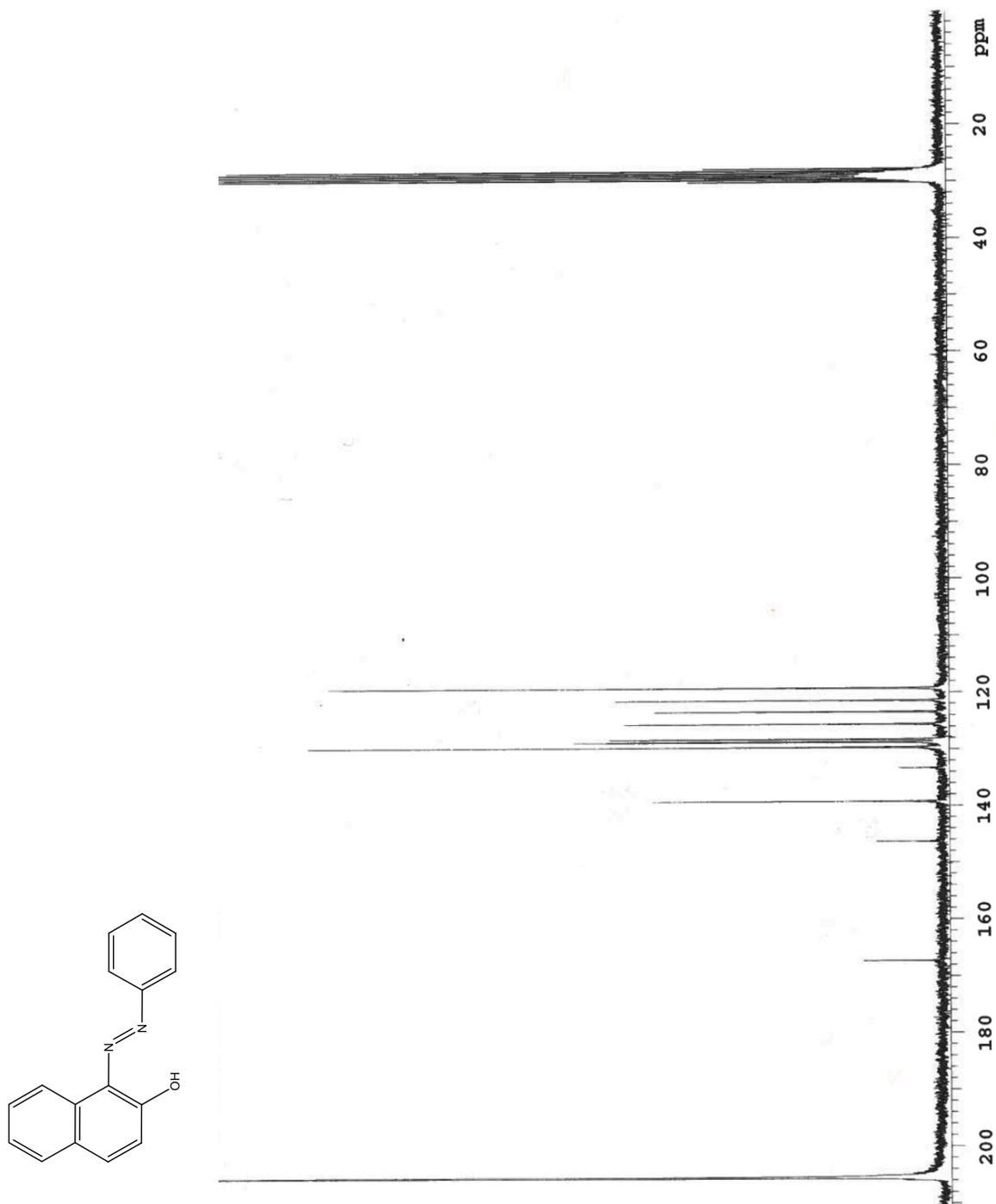
Spectre A.1 4-méthyl-2-(phényldiazényl)phénol (**37**) (CDCl₃)

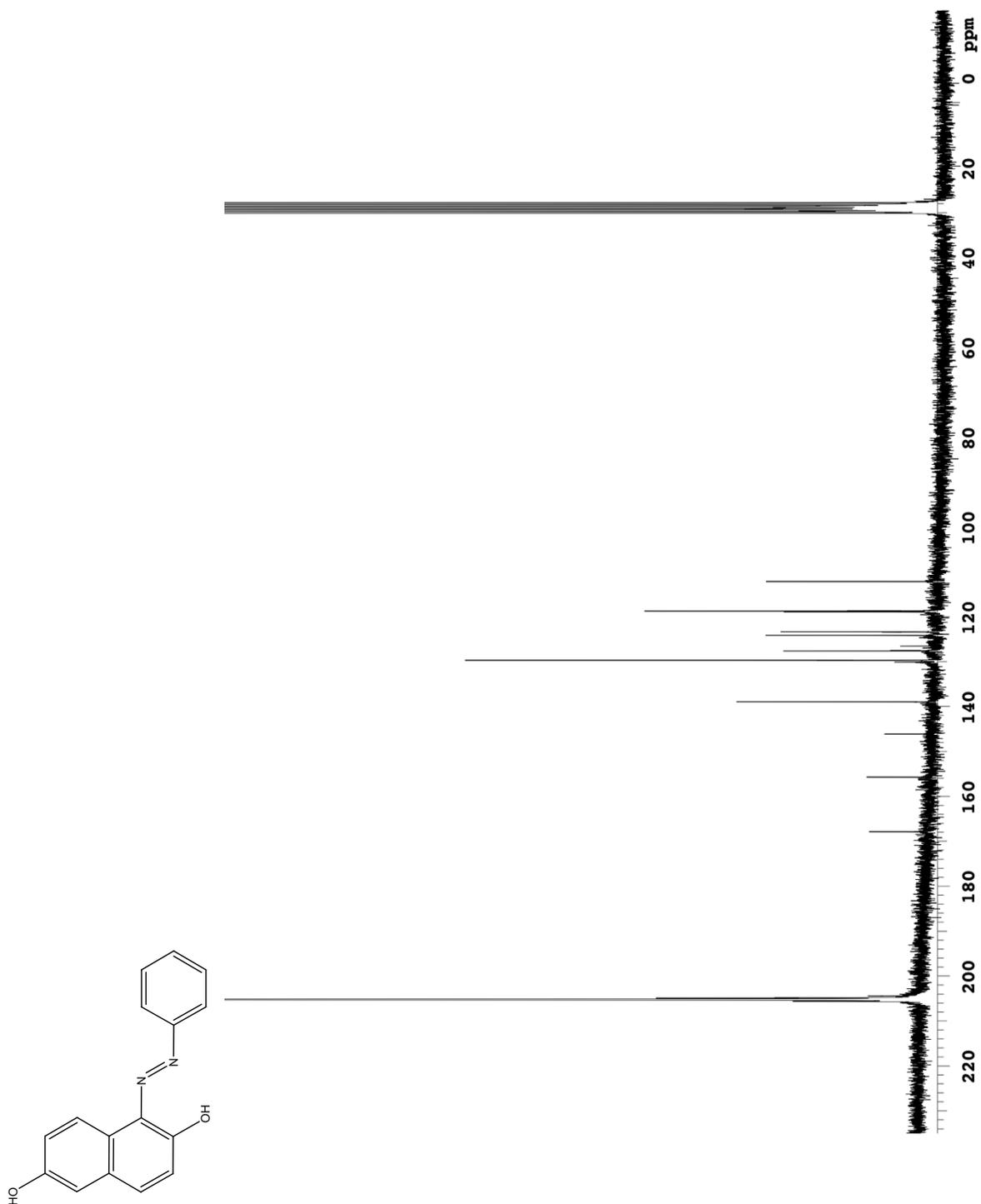
Spectre A.2 (1-(phényldiazényl)naphthalen-2-ol) (**38**) (CDCl₃)

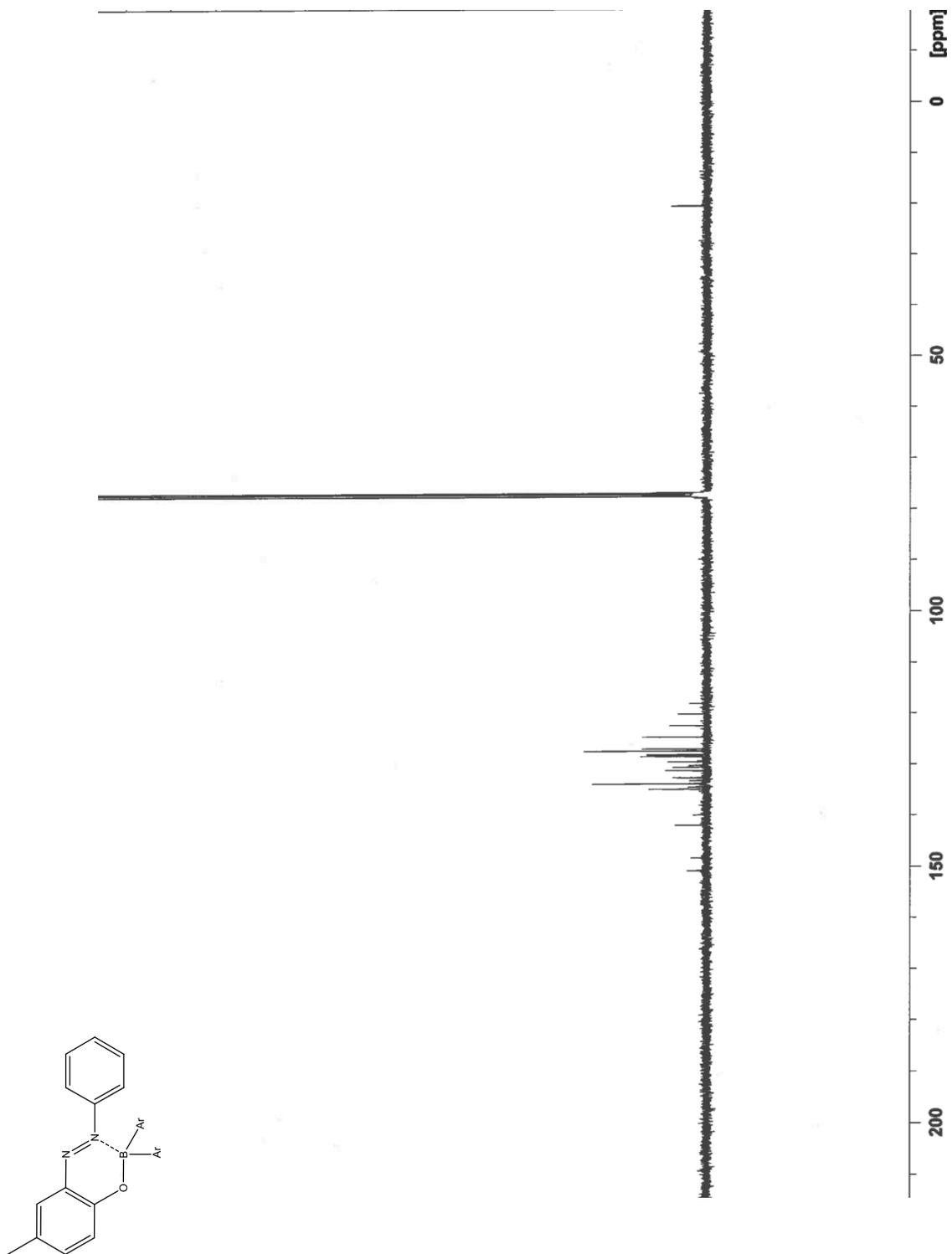
Spectre A.3 1-(phényldiazényl)naphthalèn-2,6-ol (**39**) (CD₃COCD₃)

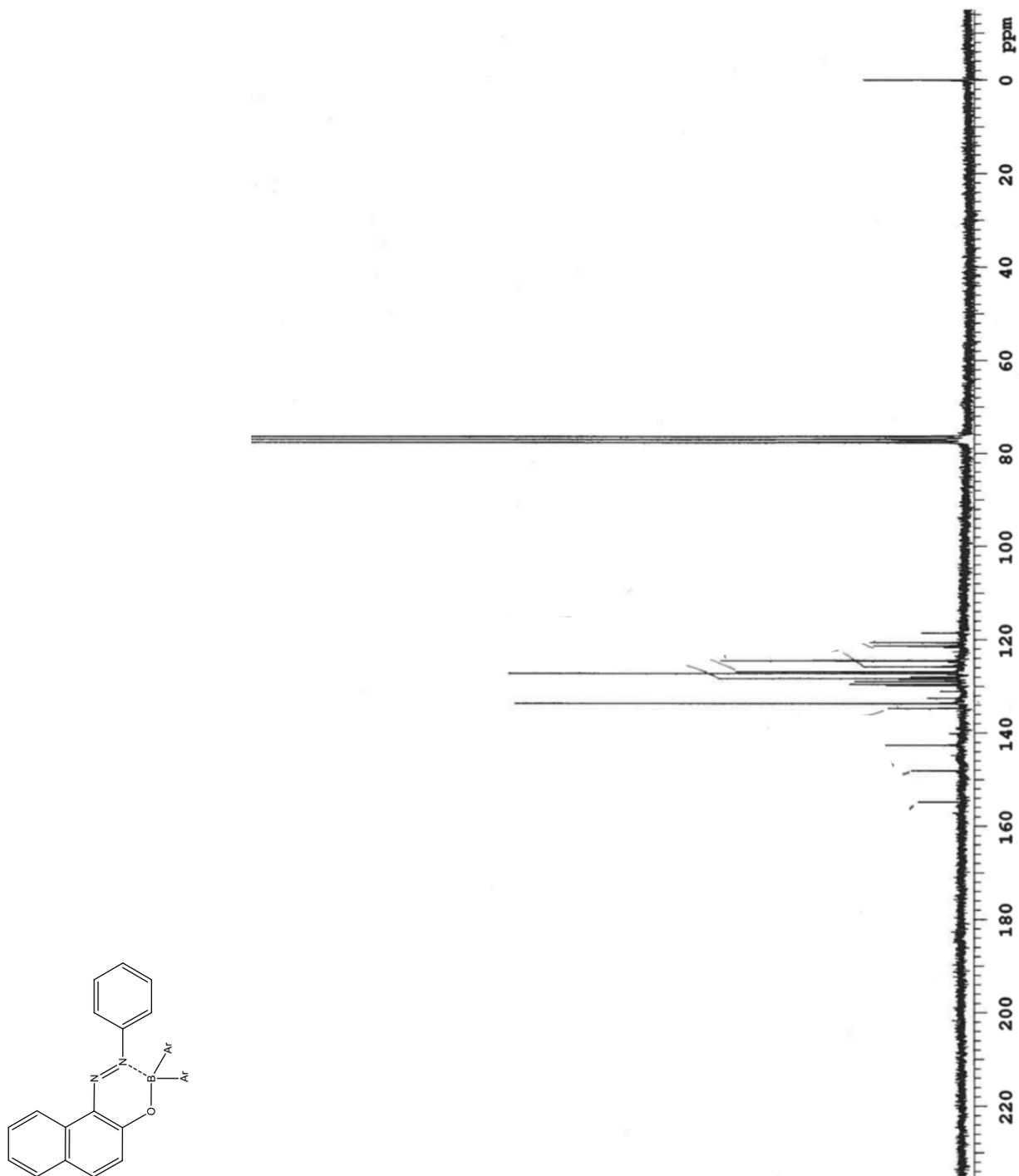
Spectre A.5 (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**) (CDCl₃)

Spectre A.6 4-méthyl-2-(phényldiazényl)phénol (**37**) (CDCl₃)

Spectre A.7 (1-(phényldiazényl)naphthalèn-2-ol) (**38**) (CD₃COCD₃)

Spectre A.8 1-(phényldiazényl)naphthalèn-2,6-ol (**39**) (CD₃COCD₃)

Spectre A.9 (2-phénylazo-p-crésol)diphénylbore (**50**) (CDCl₃)

Spectre A.10 (1-phénylazo-2-naphtholato)diphénylbore (**48**) (CDCl₃)

RÉFÉRENCES

- Arndt, D. C., (2005). Method of Developing Latent Fingerprint (Brevet No US 6 841 188 BI). US Patent and Trademark Office.
- Auld, C. (2004). An Investigation into the Recovery of Latent Fingerprints From the Inner and Outer Surfaces of Motor Vehicles, Final Year Project Report, BSc Forensic Science, April. University of Lincoln.
- Bandey, H. L., Bleay, S. M., Bowman, V. J., Downham, R. P., et Sears, V. G. (2014). Fingerprint visualisation manual. Home Office, London.
- Bandey, H., Bleay, S., Bowman, V., Downham, R., Sears, V., Gibson, A., Bowman, V., Fitzgerald, L., Ciuksza, T., Ramadani, J et Selway, C. (2018). Fingerprint Source Book v2.0 (2^e éd.). Home Office.
- Beaudoin, A. (2004). New technique for revealing latent fingerprints on wet, porous surfaces: Oil Red O. *Journal of Forensic Identification*, 54(4), 413.
- Beaudoin, A. (2012). Fingerprint staining technique on dark and wetted porous surfaces: oil red O and rhodamine 6G. *Journal of Forensic Identification*, 62(4), 315.
- Benosmane, A. (2009). Préparation d'azo-structures et d'analyse par diffraction RX d'un chéorophénylazo-Béta-naphtol [mémoire, Université Mentouri Constantine]. <http://193.194.84.142/theses/chimie/BEN5527.pdf>.
- Bessler, K. E., Dourado, E. B., de S. Carvalho, M., Lemos, S. S., et Ellena, J. (2005). An Alternative Method for the Preparation of Diphenylboron Chelates. The Crystal and Molecular Structures of (Pyridine-2-acetyloximato) diphenylboron and (1-Phenylazo-2-naphtholato) diphenylboron. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 631(10), 1935-1940. DOI: 10.1002/zaac.200500192.

- Binetin, S., & Devillers, J. (1994). QSAR for organic chemical sorption in soils and sediments. *Chemosphere*, 28(6), 1171-1188. DOI :10.1016/0045-6535(94)90335-2.
- Bleay, S. M., Bradshaw, G. et Moore, J. E. (2006) Fingerprint Development and Imaging Newsletter: Special Edition Arson, Home Office Scientific Development Branch Publication No. 26/06, April. London : Home Office.
- Braasch, K., de la Hunty, M., Deppe, J., Spindler, X., Cantu, A. A., Maynard, P., Lennard, C., et Roux, C. (2013). Nile red : Alternative to physical developer for the detection of latent fingerprints on wet porous surfaces?. *Forensic science international*, 230(1-3), 74-80. DOI : 10.1016/j.forsciint.2013.03.041.
- Brennan, J. S. (1989) 1,8-Diazafluoren-9-one, Metropolitan Police Serious Crime Unit operational trial report on DFO, April. London : Metropolitan Police.
- Bumrah, G. S. (2017). Cyanoacrylate fuming method for detection of latent fingerprints: a review. *Egyptian journal of forensic sciences*, 7(4), 1-8. DOI : 10.1186/s41935-017-0009-7.
- Burns, D. S. (1994). Sticky-side powder: the Japanese solution. *Journal of Forensic Identification*, 44(2), 133-138.
- Burrows, P. E., Sapochak, L. S., McCarty, D. M., Forrest, S. R., et Thompson, M. E. (1994). Metal ion dependent luminescence effects in metal tris-quinolate organic heterojunction light emitting devices. *Applied physics letters*, 64(20), 2718-2720. DOI : 10.1063/1.111453.
- Castello, A., Alvarez, M., Miquel, M. and Verdu, F. (2002) 'Long lasting lipsticks and latent prints', *Forensic Science Communications*, vol. 4 (2). <https://www.ojp.gov/ncjrs/virtual-library/abstracts/long-lasting-lipsticks-and-latent-prints>.
- Carrick M (1983) Cyanoacrylate glue fuming. Lightning Powder Company.
- Champod, C., Lennard, C., Margot, P., et Stoilovic, M. (2017). *Traces et empreintes digitales : traité de dactyloscopie 1^{ère} éd.*. France : Presses polytechniques et universitaires romandes.

- Day, K. and Bowker, W. (1996) 'Enhancement of Cyanoacrylate Developed Latent Prints Using Nile Red', *J. Forens. Ident.*, vol. 46 (2), pp 183–187.
- Dhakal, C. (2013) Comparison of different latent fingermark development techniques on wet paper surfaces, Journal article submitted in part fulfilment of MSc, Kings College, London, September.
- Diamante, C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Klaassen, C. D., Marks Jr, J. G., Shank, R. C., Slaga T. J., Snyder, P.W., et Andersen F, A. (2009). Final report on the safety assessment of Basic Violet 1, Basic Violet 3, and Basic Violet 4. *International journal of toxicology*, 28(6 Suppl 2), 193S-204S. DOI: 10.1177/1 091 581 809 354 649.
- Di Donna, L., Maiuolo, L., Mazzotti, F., De Luca, D., et Sindona, G. (2004). Assay of Sudan I contamination of foodstuff by atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry and isotope dilution. *Analytical chemistry*, 76 (17), 5104-5108. DOI : 10.1021/ac0498821.
- Ferreira, G. R., et de Oliveira, L. F. C. (2017). Synthesis, spectroscopic and structural studies of new azo dyes metal chelates derivated from 1-phenil-azo-2-naphthol. *Journal of Molecular Structure*, 1146, 50-56. DOI : 10.1016/j.molstruc.2017.05.121.
- Fierz-David, H. E., & Vittum, P. W. (1949). *Dye Chemistry*. New York, Interscience Publishers.
- Fitzgerald, L. (2005). Development of Fingerprints on Old Documents. Presentation at International Fingerprint Research Group, 11–15 April, 2005. The Hague: Netherlands Forensic Institute.
- Flint, O. (1994). *Food microscopy: a manual of practical methods, using optical microscopy*. *Microscopy Handbooks*, 30. Bios, Oxford.
- Frank, A., et Almog, J. (1993). Modified SPR (small particle reagent) for latent fingerprint development on wet, dark objects. *Journal of Forensic Identification*, 43(3), 240-244.
- French, R. W. (1926). Azure C tissue stain, *Stain technology*, 1: 79-80.

- Frick, A. A., Fritz, P., Lewis, S. W., et Van Bronswijk, W. (2012). A Modified Oil Red O Formulation for the Detection of Latent Fingermarks on Porous Substrates, *Journal of Forensic Identification*, vol 62 (6), 623-641.
- Frick, A., Fritz, P., Lewis, S., et Van Bronswijk, W. (2013). Sequencing of a modified oil red O development technique for the detection of latent fingermarks on paper surfaces. *Journal of Forensic Identification*, 63(4), 369-385.
- Frick, A. A., Busetti, F., Cross, A., et Lewis, S. W. (2014). Aqueous Nile blue: a simple, versatile and safe reagent for the detection of latent fingermarks. *Chemical Communications*, 50(25), 3341-3343.
- Gaskell, C., Bleay, S. M., et Ramadani, J. (2013a). Natural yellow 3: a novel fluorescent reagent for use on grease-contaminated fingermarks on nonporous dark surfaces. *Journal of Forensic Identification*, 63(3), 274-285.
- Gaskell, C., Bleay, S. M., Willson, H. et Park, S. (2013 b). Enhancement of Fingermarks on Grease-Contaminated, Nonporous Surfaces: A Comparative Assessment of Processes for Light and Dark Surfaces. *Journal of Forensic Identification*, 63(3) 286–319.
- Gilbert, N., Ricard, S., Bergeron, J., Lambolez, P., et Daoust, B. (2020). Synthesis of Exo- and Endocyclic Enamides Through Copper-Catalyzed Regioselective Intramolecular N-Halovinylolation. *European Journal of Organic Chemistry*, 2020(17), 2517-2529. DOI : 10.1002/ejoc.202000137.
- Goode, G. C. et Morris, J. R. (1983) Latent fingerprints : A review of their origin, composition and methods for detection. Atomic Weapons Research Establishment.
- Greenspan, P., Mayer, E. P., et Fowler, S. D. (1985). Nile red: a selective fluorescent stain for intracellular lipid droplets. *The Journal of cell biology*, 100(3), 965-973. DOI : 10.1083/jcb.100.3.965.
- Guérin-Bodeau, S. et Madani, S. (2016). Annabac : sujets & corrigés 2017 Sciences 1re ES.
- Guigui, K., et Beaudoin, A. (2007). The use of oil red O in sequence with other methods of fingerprint development. *Journal of Forensic Identification*, 57(4), 550-581.

- Hansen, P. E., et Lyčka, A. (1986). Carbon–carbon coupling constants of 1-phenylazo-2-naphthol and 2-phenylazo-1-naphthol obtained by the SEMINA-1 technique. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 24 (9), 772-776. DOI : 10.1002/mrc.1260240908.
- Hardwick, S., A., Kent, T., et Sears, V. G. (1990). Fingerprint detection by fluorescence examination : A guide to operational implementation. Police Scientific Development Branch, Home Office.
- Haylock, S. E. (1979). Carbohic gentian violet solution. *Fingerprint Whorld*, 4(15), 82-83.
- Holder, E. H., Robinson, L. O., et Laub, J. H. (2011). The fingerprint sourcebook. US Department. of Justice, Office of Justice Programs, National Institute of Justice.
- Hohaus, E. et Wessendorf, K. (1980). Borchelate und Bormetallchelate, VI [1] Zur Bildung von Borchelaten aromatischer Azoverbindungen / Boron Chelates and Boron Metal Chelates, VI [1]The Formation of Boron Chelates of Aromatic Azo Compounds. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 35(3), 319-325. DOI : 10.1515/znb-1980-0311.
- Hristova, S., Deneva, V., Pittelkow, M., Crochet, A., Kamounah, F. S., Fromm, K. M., Hansen, P.E., et Antonov, L. (2018). A concept for stimulated proton transfer in 1-(phenyldiazenyl) naphthalen-2-ols. *Dyes and Pigments*, 156, 91-99. DOI : 10.1016/j.dyepig.2018.03.070.
- Horobin, R. W. (1988). *Understanding histochemistry*. E. Horwood.
- Horobin, R. W. et Kiernan, J. A. (2002). *Conn's biological stains : a handbook of dyes, stains and fluorochromes for use in biology and medicine*, (10e éd.). BIOS Scientific Publishers.
- Houck, M. M., Crispino, F., et McAdam, T. (2017). *The science of crime scenes*. Academic Press.
- Hughes, E. D., Ingold, C. K., et Ridd, J. H. (1958). 13. Nitrosation, diazotisation, and deamination. Part I. Principles, background, and method for the kinetic study of diazotisation. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 58-65. DOI : 10.1039/JR9580000058.

- International Fingerprint Research Group. (2014). Guidelines for the assessment of fingerprint detection techniques. *Journal of Forensic Identification*, 64(2), 174-200.
- Involdstad, H. (1976). How long will a fingerprint last. *Fingerprint and Identification Magazine*, 57(9), 4-5.
- Jian, Z., et Dao-An, G. (1991). A modified cyanoacrylate technique utilizing treated neutral filter paper for developing latent fingerprints. *Forensic science international*, 52 (1), 31-34. DOI : 10.1016/0379-0738 (91) 90094-Y.
- Kaflé, B. P. (2019). *Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry*. Elsevier.
- Knowles, A. M. et Thomas, G. L. (1974). Development of Latent Fingerprints by Police Forces in the United Kingdom; Results of a survey carried out by Police Scientific Development Branch, Report 18/74. London : Home Office.
- Lee, H. C., et Gaensslen, R. E. (1984). *Cyanoacrylate fuming: Theory and procedures*. University of New Haven, New Haven.
- Lemon, J. (1989). Fingerprint Operational Trial, Letter from Fingerprint Section to Chief Superintendent in charge, Surrey Police, regarding trial results on DFO, 9 March. England: Surrey Police Force.
- Marder, E., et Ruderman, I. W. (1951). The Coupling of Phenol Alcohols with Benzene Diazonium Chloride. *Journal of the American Chemical Society*, 73(11), 5475-5476. DOI : 10.1021/ja01155a541.
- Marriott, C., Lee, R., Wilkes, Z., Comber, B., Spindler, X., Roux, C., et Lennard, C. (2014). Evaluation of fingerprint detection sequences on paper substrates. *Forensic science international*, 236, 30-37. DOI : 10.1016/j.forsciint.2013.12.028.
- Mehlem, A., Hagberg, C. E., Muhl, L., Eriksson, U., et Falkevall, A. (2013). Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. *Nature protocols*, 8 (6), 1149-1154. DOI : 10.1038/nprot.2013.055.

- Mitsui, T., Katho, H., Shimada, K., et Wakasugi, Y. (1980). Development of latent prints using a Sudan black B solution. *Ident. News*, 30 (8), 9-10.
- Morris, J. R. et Goode, G. C. (1974). The Detection of Fingerprints by Chemical Techniques – Report for Period April 1972–March 1974, SSCD Memorandum 356. Aldermaston: Atomic Weapons Research Establishment.
- Morris, A.D. (1992). Superglue as an option to gentian violet on adhesive side of tape. *Fingerprint Whorl* 18:101–2.
- Nikfar, S., et Jaberidoost, M. (2014). Dyes and colorants. DOI:10.1016/B978-0-12-386454-3.00602-3.
- Oden, S., et Von Hofsten, B. (1954). Detection of fingerprints by the ninhydrin reaction. *Nature*, 173 (4401), 449-450. DOI : 10.1038/173449a0.
- O'Shea, B. (2018). The preparation of fluorescent fingerprinting powders using 8-hydroxyquinoline compounds and magnetite [Thèse, University de Waikato].
- Perry, H., et Sears, V. G. (2015). The Use of natural yellow 3 (curcumin) for the chemical enhancement of latent friction ridge detail on naturally weathered materials. *Journal of Forensic Identification*, 65 (1), 46–66.
- Pounds, C. A., et Strachan, J. M. (1986). The Use of Biological Dyes for Revealing Latent Fingerprints: Part 2, Operational Trials to Compare Performance of Sudan Black B with Metal Deposition and Small Particle Reagent on Plastic Surfaces. In Home Office Central Research Establishment Report no. 595.
- Proescher, F. (1927). Oil red O pyridin, a rapid fat stain. *Stain Technology*, 2 (2), 60-61. DOI : 10.3109/10520292709115655.
- Ramotowski, R., Cantu, A. A., Joullie, M. M., et Petrovskaia, O. (1997). 1,2-Indanediones: a preliminary evaluation of a new class of amino acid visualising reagents. *Fingerprint Whorl*, 23 (90), 131-140.
- Ramotowski, R. (3^{ed.}). (2012). Lee and Gaensslen's advances in fingerprint technology. CRC press.

- Rawji, A., et Beaudoin, A. (2006). Oil red O versus physical developer on wet papers: a comparative study. *Journal of Forensic Identification*, 56(1), 33-54.
- Ricard, S., Ladouceur, F., Couture, G., et Daoust, B. (2020). Copper-catalyzed β -iodovinylolation of azole and pyrrole derivatives. *Heterocycles: an international journal for reviews and communications in heterocyclic chemistry*, 100(5), 747-767.
- Rys, P. (1996). Diazotization of weakly basic aromatic amines: kinetics and mechanism. *Physico-Chemical Principles of Color Chemistry*, 4, 1-43. Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-94-009-0091-2_1.
- Salama, J., Aumeer-Donovan, S., Lennard, C., & Roux, C. (2008). Evaluation of the fingerprint reagent oil red o as a possible replacement for physical developer. *Journal of Forensic Identification*, 58(2), 203-237.
- Saunders, G. (1993). Notes on the use of nile red, dansyl chloride, a modified physical developer, and the ITEK RS process for visualizaing latent prints. US Secret Service Forensic Laboratory.
- Singh, T. (2014). Exploring New Synthetic Methodologies using Organoboron Catalysts. [Thèse, University de Toronto].
- Sorisky, A., Pardasani, D., Gagnon, A., et Smith, T. J. (1996). Evidence of adipocyte differentiation in human orbital fibroblasts in primary culture. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81(9), 3428-3431. DOI : 10.1210/jcem.81.9.8784110.
- Springer, E., et Bergman, P. (1995). A fluorescent small particle reagent (SPR). *Journal of Forensic Identification*. 45 (2), 164-168.
- Stoilovic, M., Lennard, C., Wallace-Kunkel, C., et Roux, C. (2007). Evaluation of a 1, 2-indanedione formulation containing zinc chloride for improved fingerprint detection on paper. *Journal of Forensic Identification*, 57(1), 4.
- Sutcliffe, L. (2000). Lipid Reagents, HOSDB Placement Year Report. London : Home Office.

- Szele, I., et Zollinger, H. (1983). Azo coupling reactions structures and mechanisms. *Preparative Organic Chemistry*, 1-66. DOI : 10.1007/3-540-12396-2_5.
- Tang, C. W., et VanSlyke, S. A. (1987). Organic electroluminescent diodes. *Applied physics letters*, 51(12), 913-915. DOI : 10.1063/1.98799.
- Theys, P., Turgis, Y., Lepareux, A., Chevet, G., & Ceccaldi, P. F. (1968). New technique for bringing out latent fingerprints on paper: vacuum metallisation. *Int Crim Police Rev*, 217, 106.
- Valeur, B. (2004). *Invitation à la fluorescence moléculaire*. De Boeck Supérieur.
- Valizadeh, H., Amiri, M., et Hosseinzadeh, F. (2012). Nanoparticles of organosilane-based nitrite ionic liquid immobilized on silica for the diazotization of aniline derivatives and subsequent synthesis of azo dyes. *Dyes and pigments*, 92(3), 1308-1313. DOI : 10.1016/j.dyepig.2011.09.013.
- Velasco, M. I., Kinen, C. O., De Rossi, R. H., & Rossi, L. I. (2011). A green alternative to synthesize azo compounds. *Dyes and Pigments*, 90(3), 259-264. DOI : 10.1016/j.dyepig.2010.12.009.
- Wade, D. C. (2002). Development of Latent Prints with Titanium Dioxide (TiO₂). *Journal of Forensic Identification*, 52 (5), 551-559.
- Wilkinson, D. (1999). A one-step fluorescent detection method for lipid fingerprints: Eu(TTA)₃.2TOPO. *Forensic Science International*, 99 (1), 5-23. DOI : 10.1016/S0379-0738 (98) 00176-5.
- Wood, L. W. (1991). The discovery of superglue fuming. *Fingerprint Whorld*, 16(64), 117-118.
- Xu, H., et Zeng, X. (2010). Synthesis of diaryl-azo derivatives as potential antifungal agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20 (14), 4193-4195. DOI : 10.1016/j.bmcl.2010.05.048.

- Yoshino, J., Furuta, A., Kambe, T., Itoi, H., Kano, N., Kawashima, T., Yuzuru I., et Asashima, M. (2010). Intensely fluorescent azobenzenes: synthesis, crystal structures, effects of substituents, and application to fluorescent vital stain. *Chemistry—A European Journal*, 16(17), 5026-5035. DOI : 10.1002/chem.201000258.
- Zollinger, Z. (2003). *Color chemistry: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments* (3^eéd.). Wiley-VCH.