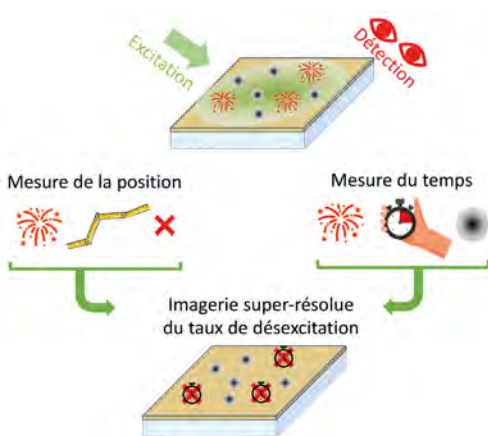


# DES NANOTORCHES POUR ÉTUDIER LES MATÉRIAUX NANOSTRUCTURÉS

**Ignacio IZEDDIN<sup>1</sup>, Valentina KRACHMALNICOFF<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup> Institut Langevin, ESPCI Paris, Université PSL, CNRS, 75005 Paris, France

\*[valentina.krachmalnicoff@espci.fr](mailto:valentina.krachmalnicoff@espci.fr)



La nanophotonique s'intéresse à la génération et au contrôle de la lumière grâce à la nanostructuration de la matière, ainsi qu'à l'imagerie de ces nanostructures. Mais comment étudier les propriétés optiques de ces matériaux à l'échelle nanométrique ? Dans cet article, nous présentons une nouvelle technique inspirée d'approches de microscopie à super-résolution établies en bioimagerie que nous avons adaptée au domaine de la nanophotonique dans le but d'obtenir des cartographies super-résolues de l'interaction lumière-matière.

<https://doi.org/10.1051/photon/202211440>

Article publié en accès libre sous les conditions définies par la licence Creative Commons Attribution License CC-BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), qui autorise sans restrictions l'utilisation, la diffusion, et la reproduction sur quelque support que ce soit, sous réserve de citation correcte de la publication originale.

La nanophotonique est une branche de l'optique qui étudie des phénomènes qui ont lieu à des échelles nanométriques. Ceci comprend l'étude et la manipulation de l'interaction de la lumière avec des objets nanostructurés ou avec des particules de taille inférieure à la longueur d'onde. L'utilisation de particules métalliques pour modifier les propriétés de la lumière était connue dès l'antiquité [1]. L'éclat des

couleurs des vitraux de la Sainte Chapelle à Paris trouve son origine dans la présence de nanoparticules métalliques à l'intérieur du verre. En effet, lorsque la lumière éclaire une nanoparticule métallique, les électrons présents dans le matériau oscillent périodiquement, ce qui crée un mouvement de charges électriques à la surface de la particule, appelé plasmon de surface. La longueur d'onde des plasmons de surface dépend non seulement de la nature du matériau qui compose

la particule, mais aussi de sa taille et de sa forme. Les propriétés extraordinaires des plasmons dans des particules métalliques, dans des assemblages de nanoparticules métalliques ou dans des surfaces métalliques nanostructurées, en ont fait des candidats d'exergue pour manipuler les propriétés optiques de la lumière et pour accroître l'interaction lumière-matière à des échelles sub-longueur d'onde.

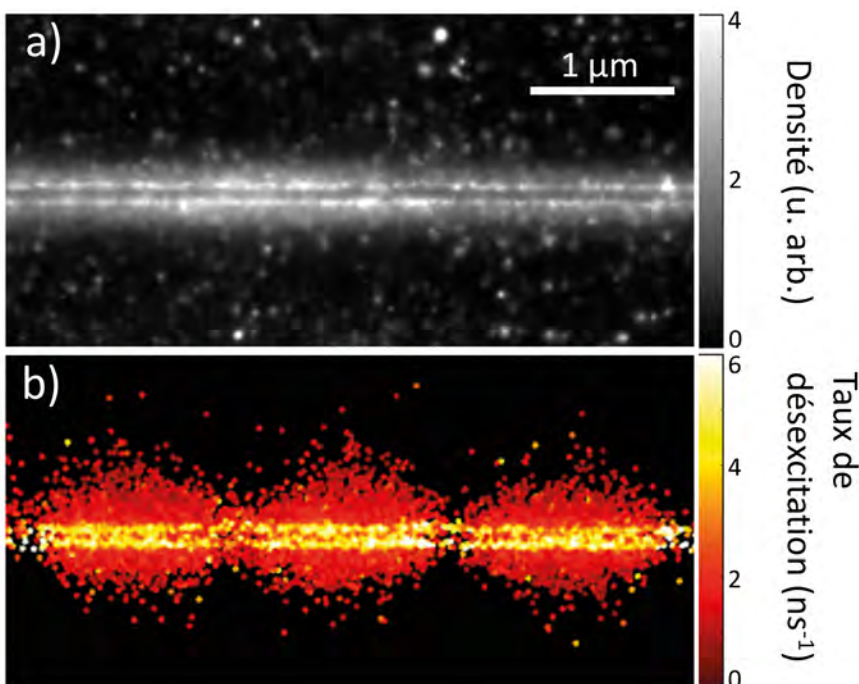
Les nouvelles techniques de fabrication d'objets structurés à

l'échelle nanométrique ont rendu possible la manipulation des matériaux les plus disparates, allant des métaux, aux matériaux diélectriques, aux semi-conducteurs. L'explosion des nanotechnologies au cours des dernières décennies a créé le besoin de développer des stratégies et des outils permettant de mener des études à de telles échelles. La nanophotonique répond à ces demandes selon deux axes principaux : la génération et le contrôle de la lumière par la manipulation de nouveaux matériaux avec des propriétés optiques innovantes, et l'imagerie à l'échelle du nanomètre des propriétés optiques des nanostructures, ce qui a poussé la recherche scientifique vers le développement de méthodes d'imagerie non-conventionnelles [2]. Si l'on est capable de manipuler la lumière à de telles échelles, on doit aussi être capable d'observer les résultats de telles manipulations, ce qui constitue un défi en soi à cause de la limite de résolution des systèmes optiques conventionnels. En effet, la limite de résolution est une

conséquence du phénomène de diffraction de la lumière, déjà décrit par Ernst Abbe en 1873. L'image d'un point ou PSF pour *point-spread function* est une tache de diffraction et la résolution est ainsi limitée, selon le critère d'Abbe, à  $d_{Abbe} = \lambda/2ON$ , avec  $\lambda$  la longueur d'onde et  $ON$  l'ouverture numérique du système, qui est typiquement de l'ordre de 250 nm pour la lumière visible et avec des objectifs de microscope de grande ouverture numérique.

Le besoin d'observer les interactions de la lumière avec la matière nanostructurée a mené au développement de techniques d'imagerie super-résolue et de sondes nanoscopiques en champ proche. Cependant, les désavantages de telles techniques, dont le coût des instruments, la complexité de leur mise en œuvre et de l'interprétation des signaux que l'on peut en extraire, ont poussé les chercheurs à se tourner vers des techniques d'imagerie en champ lointain super-résolues qui ont révolutionné, il y a une vingtaine d'années, l'imagerie des systèmes biologiques.

**Figure 1.** Imagerie super-résolue de molécules uniques à proximité d'un nanofil d'argent. **(a)** Densité de molécules détectées. **(b)** Image du taux de désexcitation des molécules. Les trois zones circulaires sont un effet de la forme du champ de vue de la détection [5].



**VOTRE PARTENAIRE :**  
**Photométrie**  
**Radiométrie & Colorimétrie**

**Radiomètres UV-C**

Désinfection  
Contrôle de source UV (LED UV, Excimer & Mercure basse pression)  
Polymérisation



**Colorimètres & Vidéocolorimètres**

Mesures de l'uniformité en couleur ou luminance de vos sources ou displays



**Nouveau Spectroradiomètre IR**

Technologie BiTec : détecteur à matrice InGaAs + diode InGaAs  
Refroidissement thermoélectrique  
Plage spectrale 950-2150nm



### LA MICROSCOPIE DE SUPER-RÉSOLUTION EN CHAMP LOINTAIN

En raison de sa spécificité moléculaire et de sa compatibilité avec la cellule vivante, la microscopie à fluorescence est un outil fondamental des sciences biologiques. En effet, l'imagerie biologique a vécu une véritable révolution avec l'irruption de la microscopie à fluorescence super-résolue [3]. E. Betzig, S. W. Hell et W. E. Moerner ont reçu le prix Nobel de Chimie en 2014 pour leurs contributions dans ce domaine en démontrant, avec des stratégies conceptuellement différentes, qu'il était possible de contourner la limite de résolution imposée par la diffraction. Le type de microscopie que nous allons détailler dans cet article est basée sur l'excitation et la détection de molécules uniques et est connue sous l'acronyme SMLM, pour *Single-Molecule Localization Microscopy*. Comme expliqué dans l'encart, la microscopie SMLM repose

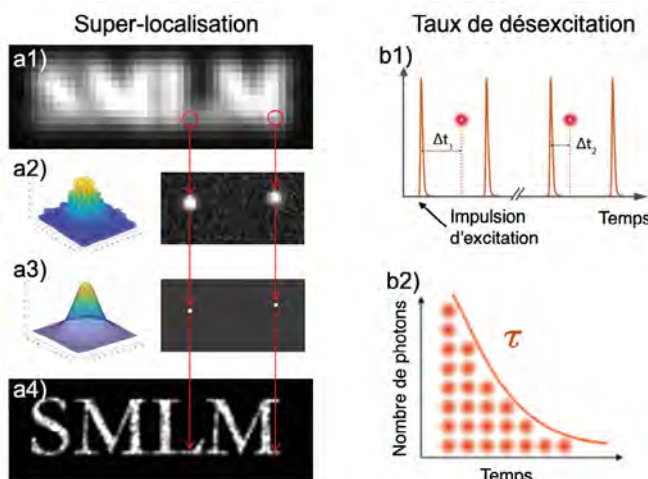
sur le fait que l'on peut localiser la position d'un émetteur isolé avec une précision bien supérieure à la largeur de l'image de la molécule et qui ne dépend que du nombre de photons détectés. Lors d'une expérience typique de SMLM, la précision de localisation est de l'ordre de 10 nm. Le deuxième pilier de l'imagerie SMLM s'appuie sur la capacité d'isoler l'émission de fluorescence d'un émetteur unique parmi un ensemble dense. À l'origine, ceci a été possible grâce au développement des sondes fluorescentes photoactivables. En contrôlant le taux de probabilité de la transition inactif/actif de chaque fluorochrome avec un laser de photoactivation, on peut arriver au régime de détection d'émetteurs isolés. Pour réaliser une image super-résolue par SMLM, on enregistre une série d'images de molécules isolées spatialement qu'on localisera par la suite avec une précision de quelques nanomètres. En superposant la position de tous les

émetteurs détectés, on parvient à générer une image super-résolue avec une résolution qui n'est en principe limitée que par le nombre de photons détectés pour chaque fluorochrome et par la capacité à échantillonner correctement l'objet d'intérêt.

### VOIR À L'ÉCHELLE DU NANOMÈTRE... ET DE LA PICOSECONDE : LE SMFLIM

La nanostructuration de la matière modifie ses propriétés photoniques. Un émetteur fluorescent isolé s'avère être la sonde ultime idéale pour sonder ces modifications locales du champ électromagnétique. L'intensité de fluorescence et le taux de désexcitation de la molécule sont les deux grandeurs qui permettent de sonder la réponse de la molécule à l'environnement optique dans lequel elle se trouve. En particulier, le taux de désexcitation donne accès à la densité locale d'états électromagnétiques

## Obtenir des images spatialement super-résolues de la densité locale d'états électromagnétiques (LDOS)



**Super-localisation :** Dans une image de microscopie à fluorescence classique où tous les fluorochromes émettent simultanément, la résolution spatiale de l'image est limitée par la diffraction (a1). En imagerie SMLM, les émetteurs individuels sont activés de manière stochastique et ils sont imagés comme des PSFs individuelles jusqu'au photoblanchiment (a2). Ce processus est répété pendant des dizaines de milliers d'images. Pour chaque image, les PSFs des molécules uniques sont identifiées et ajustées avec une fonction gaussienne pour retrouver leur centre de masse (a3). Par la suite, une image pointilliste super-résolue peut être reconstruite (a4), où la taille choisie du point de reconstruction reflète typiquement la précision de la localisation.

**Taux de désexcitation :** Un laser impulsif excite un fluorochrome. L'intervalle de temps  $\Delta t_i$  entre l'impulsion excitatrice et l'émission d'un photon fluorescent est mesuré avec une précision de l'ordre de la picoseconde (b1).

Les temps d'arrivée  $\Delta t_i$  sont reportés dans un histogramme qui donne la décroissance de la fluorescence en fonction du temps. Un ajustement exponentiel de l'historgramme est généralement utilisé pour retrouver le temps caractéristique de décroissance de fluorescence  $\tau$  qui est l'inverse du taux de désexcitation (b2).

(LDOS pour local density of states) qui mesure le nombre de modes optiques accessibles dans un environnement spécifique.

Comment mesurer simultanément la position et le taux de déséxcitation fluorescente d'un émetteur ? Afin de répondre à ce défi, les chercheurs de l'Institut Langevin à l'ESPCI Paris – PSL, CNRS, ont développé la technique smFLIM pour *single-molecule fluorescence lifetime imaging microscopy*, qui combine l'imagerie de super-résolution SMLM, et la mesure du temps de déséxcitation de chaque molécule. Pour obtenir une cartographie super-résolue avec la technique smFLIM, il faut d'abord recouvrir la nanostructure avec une couche très dense de fluorochromes photoactivables. On veillera à ce que seulement un sous-ensemble des fluorochromes soient actifs à un instant  $t$ , pour imager des PSFs bien isolées et pouvoir dérouler une acquisition de type SMLM (voir encart). Contrairement

aux expériences SMLM classiques, on excite le tapis de fluorochromes avec un laser impulsif, pour permettre une mesure du taux de déséxcitation (voir encart). La recombinaison de ces deux mesures permet de reconstruire une image super-résolue du taux de déséxcitation et donc de la LDOS, comme illustré dans la figure à gauche du résumé. Avec le système développé à l'Institut Langevin, il est possible d'imager en smFLIM, avec une résolution de 10 nm, un champ de vue de l'ordre de  $10 \mu\text{m}^2$ , et ceci pour tout type de structure, qu'elle soit déterministe, périodique ou aléatoire, métallique ou diélectrique.

#### ÉTUDE D'UN SYSTÈME NANOSTRUCTURÉ SIMPLE : LE NANOFIL D'ARGENT

Parmi les systèmes les plus simples qu'on peut étudier en nanophotonique on compte les nanofils métalliques. La Fig.1a reporte une image super-résolue de la densité de

molécules détectées obtenue pour un fil d'argent de plusieurs microns de longueur et de 115 nm de diamètre. Chaque point représente une molécule détectée avec une précision d'environ 15 nm. On remarquera une zone foncée qui semble couper le fil en deux. Dans cette zone, le nombre de molécules détectées est très faible. Ceci est dû au fait que la lumière qui éclaire le fil est modifiée par la présence du fil qui est à l'origine d'une zone d'ombre à son sommet.

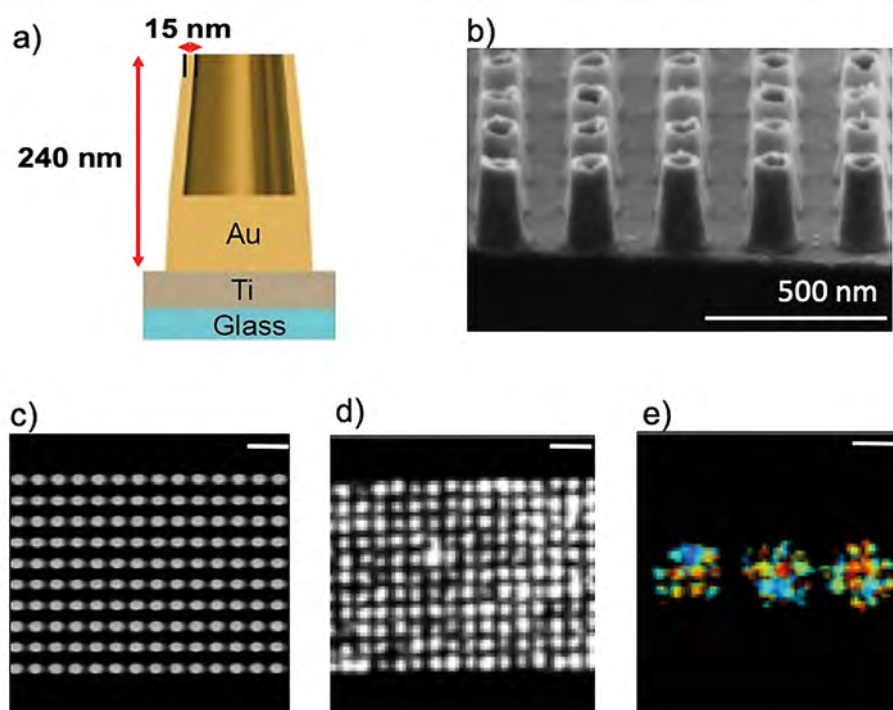
Le caractère métallique du nanofil lui confère des propriétés intéressantes en termes de LDOS. En effet, plus une molécule fluorescente s'approche du nanofil d'argent, pour des distances allant de la centaine de nanomètres au contact, plus la LDOS sera grande, ce qui se traduit par une augmentation du taux de déséxcitation des molécules. L'image du taux de déséxcitation obtenue en smFLIM à proximité d'un fil d'argent est présentée dans la Fig.3b et illustre de façon très ●●●

Hamamatsu Photonics will be at:  
**OPTIQUE NICE 2022 | booth 35**  
 4<sup>th</sup>-8<sup>th</sup> July 2022, Nice

The **ORCA®-Quest** quantitative CMOS (qCMOS) camera with Photon Resolving functionality is the leap in scientific camera evolution that transforms imaging into imagining.

**HAMAMATSU**  
 PHOTON IS OUR BUSINESS

**HAMAMATSU PHOTONICS FRANCE**  
 19 rue du Saule Trapu, 91300 Massy, France  
 Tel: +33 1 69 53 71 00 | [infos@hamamatsu.fr](mailto:infos@hamamatsu.fr)



**Figure 2.** (a) Dessin en coupe d'une nanocheminée en or.

(b) Image au microscope électronique à balayage (MEB) de l'arrangement périodique de nanocheminées.

(c) Image MEB de l'arrangement périodique de nanocheminées vu d'en haut.

(d) Image de la densité de détections de molécules uniques.

(e) Image du taux de désexcitation. Les différentes couleurs indiquent différentes valeurs du taux de désexcitation. Dans c-e, la barre d'échelle indique une longueur de 500 nm.

simple et visuelle le phénomène décrit plus haut. Lorsque les molécules sont proches du fil, on mesure des taux de désexcitation élevés (couleur jaune), alors que les taux de désexcitation sont plus faibles pour les molécules détectées loin du fil (couleur rouge). Pour plus d'information sur ce sujet le lecteur pourra se reporter à l'article [5].

### VERS L'ÉTUDE DE NANOSTRUCTURES COMPLEXES AUX PROPRIÉTÉS OPTIQUES INATTENDUES

La technique smFLIM ouvre d'importantes perspectives pour l'étude à l'échelle nanométrique des propriétés optiques de systèmes bien plus complexes qu'un nanofil. La figure 2 illustre les résultats obtenus sur un système nanostructuré qui est un arrangement périodique de nanocheminées d'or. Le dessin en coupe d'une nanocheminée est reporté sur

la Fig.2a. Chaque nanocheminée est à une distance d'environ 250 nm de ses plus proches voisines. Une image prise au microscope électronique à balayage de l'échantillon est reportée dans la Fig.2b et permet de visualiser l'arrangement périodique des structures individuelles. Cet échantillon a été fabriqué au Mesa+ Institute, University of Twente.

Les propriétés optiques à l'échelle nanométrique peuvent être étudiées avec le smFLIM en exploitant toute l'originalité de cette technique, à savoir la capacité d'observer l'interaction lumière-matière à l'échelle nanométrique sur des zones de l'échantillon qui font plusieurs microns carrés. Les figures 2 c-e sont un exemple des données obtenues. La Fig.2c est une image au microscope électronique à balayage de l'échantillon vu d'en haut et la Fig.2d reporte la densité de molécules uniques

détectées à la surface des cheminées. L'arrangement périodique est visible dans l'image super-résolue du taux de désexcitation (Fig. 2 e). La couleur des points encode la valeur du taux de désexcitation mesuré. En étudiant minutieusement les valeurs du taux de désexcitation mesurés en fonction de la position où la molécule est détectée, il sera possible de comprendre en détail les phénomènes physiques qui pilotent les propriétés optiques de cette structure. Cette étude est actuellement en cours de réalisation.

### CONCLUSION

En conclusion, la combinaison d'outils issus de la bioimagerie à super-résolution avec ceux de la nanophotonique s'avère très fructueuse et capable de répondre à des nouveaux défis de l'optique moderne. Dans cet article, nous avons montré que la microscopie SMLM, en combinaison avec des mesures de désexcitation de fluorescence, peut aider à mieux comprendre l'interaction fondamentale entre la lumière et la matière dans des dispositifs et structures nanophotoniques. Nous avons décrit un nouveau montage expérimental, nommé smFLIM, capable de mesurer simultanément la position et la durée de vie de fluorescence de fluorochromes uniques pour obtenir des images super-résolues de LDOS, et nous espérons que cet article inspirera des nouveaux développements à l'interface de ces deux domaines. ●

### RÉFÉRENCES

- [1] M. Stockmann, *Physics Today* 64, 39 (2011)
- [2] A. F. Koenderink *et al.*, *Nanophotonics* 11, 169-202 (2022)
- [3] S.W. Hell, *Science* 316, 1153 – 1158 (2007)
- [4] D. Bouchet *et al.*, *Optica* 6, 135-138 (2019)
- [5] G. Blanquer *et al.*, *ACS Photonics* 7, 393-400 (2020)