

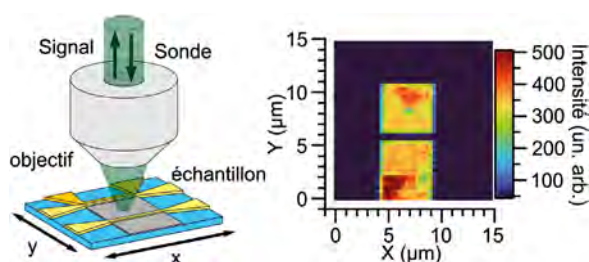
SPECTROSCOPIE ET IMAGERIE RAMAN : DES MATÉRIAUX QUANTIQUES À LA MATIÈRE VIVANTE

Yann GALLAIS¹, Alexandr ALEKHIN¹, Stéphanie DEVINEAU²

¹ Université Paris Cité / Matériaux et Phénomènes Quantiques, Paris, France

² Université Paris Cité / Biologie Fonctionnelle et Adaptative, Paris, France

*yann.gallais@u-paris.fr, alexandr.alekhin@u-paris.fr, stephanie.devineau@u-paris.fr



La spectroscopie Raman a déjà une longue histoire dans les études vibrationnelles des structures moléculaires et cristallines. Après une brève introduction historique, nous décrivons quelques développements récents de cette technique dans l'étude des matériaux quantiques comme les supraconducteurs. Nous abordons ensuite l'extension de cette technique à l'imagerie Raman confocale qui est maintenant devenue son application principale et que nous illustrons sur l'exemple des matériaux 2D et du vivant.

<https://doi.org/10.1051/photon/202312131>

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.

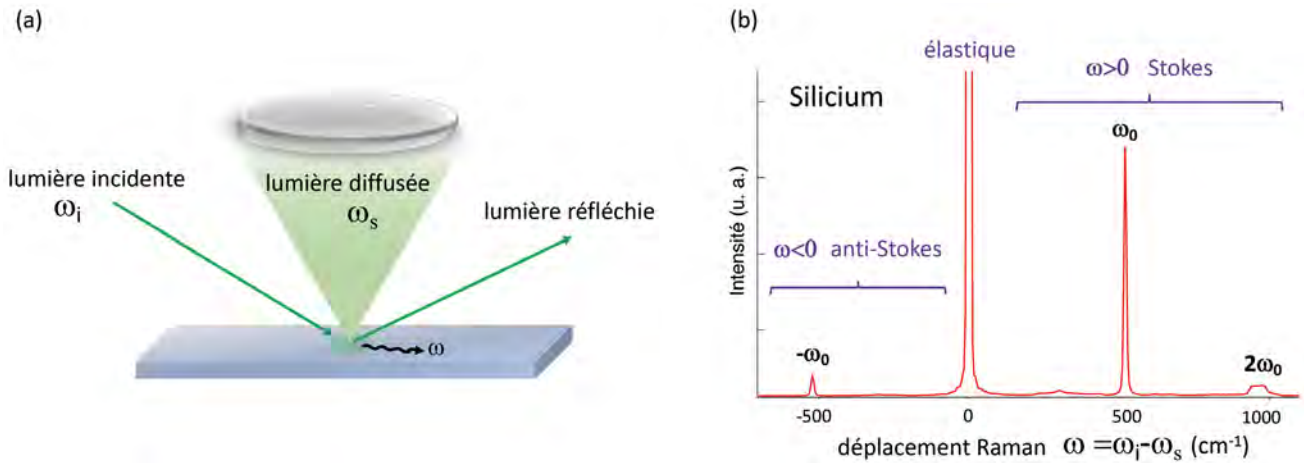
INTRODUCTION HISTORIQUE

La diffusion Raman est un processus de diffusion inélastique de la lumière découvert indépendamment en 1928 par Raman et Krishnan (en Inde) et Landsberg et Mandelstam (en URSS). Le principe de l'expérience est simple : un rayonnement incident monochromatique visible ou proche infrarouge éclaire un échantillon, la majeure partie de la lumière est réfléchiée ou transmise et une partie infime est diffusée par l'échantillon. Cette diffusion peut

être élastique mais dans le cas de la diffusion Raman, elle est inélastique et on définit alors le déplacement Raman comme étant la différence d'énergie entre la lumière incidente et celle diffusée $\omega = \omega_i - \omega_s$. Le déplacement Raman généralement noté en nombre d'onde (unités cm^{-1}) correspond à une excitation de l'échantillon, le cas le plus connu étant les modes de vibrations d'une molécule ou d'un cristal (phonons). Dans le cas où le déplacement Raman est positif/négatif, on a un processus

de création/destruction d'excitations dans l'échantillon (processus Stokes et anti-Stokes (figure 1)).

Initialement la spectroscopie Raman était limitée par la faible section efficace du processus et par la nécessité de filtrer efficacement la diffusion élastique qui est généralement plusieurs ordres de grandeurs plus intense que la diffusion Raman inélastique. Avec la découverte du laser dans les années 1960 et le développement de spectromètres dispersifs multi-monochromateurs ●●●



permettant de filtrer efficacement la raie élastique, la diffusion Raman s'est progressivement imposée en chimie et en physique pour les études vibrationnelles des molécules et cristaux. La spectroscopie Raman est ainsi vite devenue un outil de caractérisation des matériaux complémentaire aux techniques de diffraction des rayons X pour identifier les phases cristallines et détecter des transitions de phases structurales [1]. Pour certaines transitions plus subtiles comme la transition paraélectrique ferroélectrique, elle a même eu un rôle pionnier dans l'étude des oxydes de type pérovskites ferroélectriques comme BaTiO_3 et PbTiO_3 . Un second pas a été franchi dans les années 1980 avec le développement des détecteurs CCD à haut rendement quantique permettant une acquisition multicanale beaucoup plus rapide des spectres par rapport aux détecteurs monocanaux comme les photomultiplicateurs utilisés précédemment.

Figure 1. (a) Principe de la diffusion Raman. (b) Spectre Raman obtenu sur le silicium cristallin montrant la présence d'un phonon optique de nombre d'onde $\omega_0 = 520 \text{ cm}^{-1}$. On notera la présence de processus Stokes à 2 phonons ($2\omega_0$).

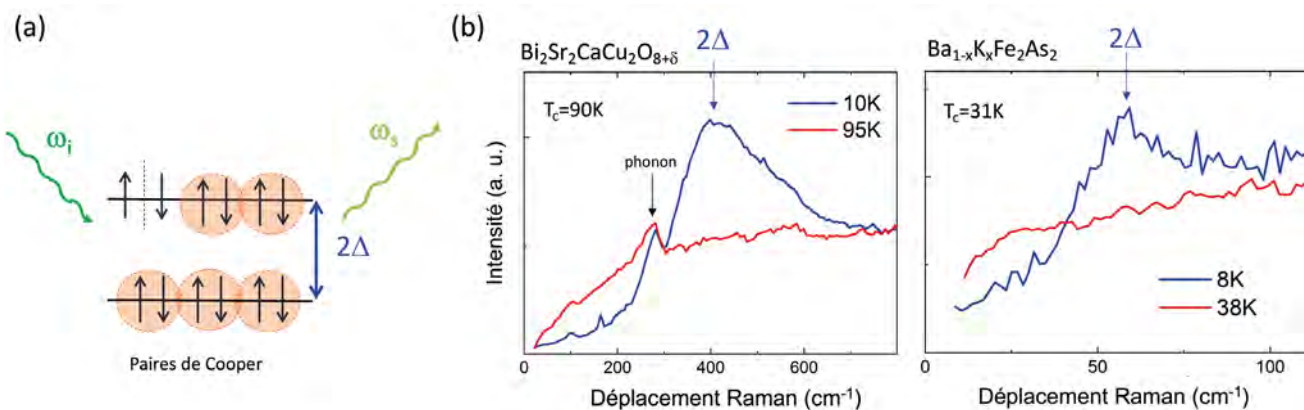
Ce développement a permis une extension majeure de l'utilisation de la spectroscopie Raman dans deux directions. La première concerne l'étude des excitations non vibrationnelles, électroniques ou magnétiques par exemple, pour lesquels les signaux étaient souvent trop faibles pour être analysés. La seconde porte sur le développement de l'imagerie Raman permettant de combiner l'information spectroscopique, par exemple fonctionnelle pour une molécule, et l'information spatiale par microscopie.

Dans la suite de cet article, nous allons illustrer avec quelques exemples ces deux avancées.

AU-DELÀ DU RAMAN VIBRATIONNEL : L'EXEMPLE DES SUPRACONDUCTEURS.

Dans les années 1980, les effets de résonance apparaissant lorsqu'une énergie de laser incident proche du gap optique du matériau, ont été mis à profit pour sonder les excitations électroniques dans les semiconducteurs dopés et dans les

Figure 2. (a) Excitation d'une paire de Cooper brisée par diffusion Raman dans un supraconducteur à l'énergie 2Δ où Δ est le gap supraconducteur. (b) Spectre Raman dans l'état supraconducteur (bleu, $T < T_c$) et dans l'état métallique (rouge, $T > T_c$) pour deux matériaux supraconducteurs à haute température critique.



hétérostructures de semiconducteurs de type III-V comme GaAs [2]. Ces études pionnières avaient démontré que la spectroscopie Raman pouvait sonder des excitations électroniques. Plus récemment ces études fondamentales ont été étendues aux matériaux métalliques pour lesquels ces effets de résonance sont faibles voire inexistantes en raison de l'absence de gap optique. Il est souvent communément admis que la diffusion Raman n'est pas observable dans les métaux. C'est en partie vrai pour les « bons » métaux comme l'or ou l'argent : la lumière incidente visible pénètre très peu dans le matériau (quelques nanomètres) et le signal déjà très faible est souvent dominé par celui de la couche d'oxyde qui se forme en surface. En revanche pour les « mauvais » métaux comme bon nombre d'oxydes par exemple, la situation est très différente : la lumière visible pénètre sur plusieurs dizaines voire centaines de nanomètres et les signaux, bien que faibles, sont facilement observables

avec l'instrumentation actuelle [3]. Du point de vue fondamental, ces mauvais métaux sont très intéressants car ils sont le siège d'ordres électroniques quantiques exotiques dus aux interactions électroniques, on parle alors de matériaux quantiques. L'exemple le plus emblématique est celui des matériaux supraconducteurs qui se comportent comme des conducteurs parfaits (leur résistance électrique est nulle) sous une température de transition T_c de l'ordre du Kelvin ou moins dans la plupart des métaux. Du point de vue microscopique l'état fondamental supraconducteur se caractérise par un appariement des électrons par paires, appelées paires de Cooper. Contrairement à un métal normal, cet état de la matière possède un gap dans son spectre d'énergie : le premier niveau d'énergie excité en énergie correspond à la brisure de paires de Cooper en deux électrons non-appariés. Cette excitation de brisure de paires de Cooper est de nature purement électronique et non vibrationnelle. Deux ●●●

Spectromètres Raman compacts – Pro-Lite

Pro-Lite propose les spectromètres de son partenaire Wasatch, qui développe des systèmes compacts hautes performances. Leur large gamme est composée de spectromètres Raman mono longueur d'ondes d'excitation (248, 405, 532, 633, 785, 830 et 1064 nm). Chaque système peut être proposé avec une source Laser et une sonde de mesure.



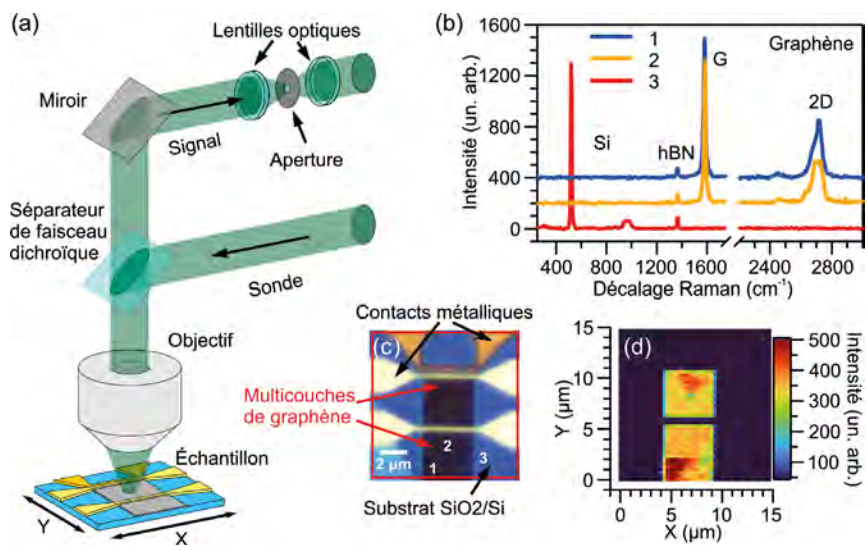
À encombrement équivalent, grâce au choix méticuleux des composants, ils sont les systèmes les plus sensibles du marché et permettent la détection de signaux faibles. Cette haute sensibilité des spectromètres repose sur 3 éléments principaux :

- Une plus grande ouverture d'entrée que la concurrence ($f/1.3$ ou $f/2$).
- Des réseaux en transmission brevetés par Wasatch.
- Des optiques en transmission qui assurent une efficacité de 93% entre l'entrée et le capteur.

Ces trois éléments permettent la collection de plus de photons et autorisent une plus grande proportion d'entre eux à rejoindre le détecteur. Par leur compacité et leur transportabilité, ils sont adaptés aux applications de recherche générale visant à minimiser des ensembles sans compromis sur la sensibilité. ●

CONTACT
 Pro-Lite Technology France
 Nicolas Marlet
 05 47 48 90 70
 nicolas.marlet@pro-lite.fr
 www.pro-lite.fr

Figure 3. (a) Principe de la microscopie Raman confocale. L'aperture installée dans le trajet du faisceau de signal supprime toutes les contributions du signal provenant des points en dehors du point focal de l'objectif, améliorant ainsi la qualité des images Raman. (b) Spectres Raman dans différentes régions d'un dispositif graphène/hBN/SiO₂ avec contacts métalliques (image optique en (c)). On notera notamment les phonons « G » et « 2D » typiques du graphène. La forme spectrale de la bande 2D sur le spectre 1 est typique d'un échantillon de graphène épais (<10 couches). Celle sur le spectre 2 correspond à un graphène bi-couche. (d) Variation spatiale de la forme de la bande 2D indiquant un échantillon globalement bi-couche mais avec 2 zones en rouge plus épaisses.



exemples de spectre Raman de supraconducteurs dits à « haute température de transition critique, T_c » sont montrés figure 2 pour l'oxyde de cuivre supraconducteur à haute température $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{CaCu}_2\text{O}_{8+\delta}$ ($T_c = 90\text{K}$) découvert à la fin des années 1980, et pour le supraconducteur au fer $\text{Ba}_{1-x}\text{K}_x\text{Fe}_2\text{As}_2$ ($T_c = 31\text{K}$) découvert plus récemment en 2008. Dans la phase métallique ($T > T_c$) les spectres de ces deux supraconducteurs montrent un continuum d'origine électronique dû aux excitations de type électron-trou proche du niveau de Fermi. Pour $T < T_c$ le spectre Raman se transforme radicalement avec l'apparition d'un pic de paires brisées. Le déplacement Raman du pic donne directement l'« énergie de liaison » des paires de Cooper, une caractéristique essentielle de l'état supraconducteur.

IMAGERIE RAMAN : DES MATÉRIAUX 2D AU VIVANT

Parallèlement aux études spectroscopiques fines, l'amélioration de la détection en diminuant notamment drastiquement les temps d'acquisition des spectres, a permis l'essor de l'imagerie Raman. Son principe repose sur un microscope confocal standard couplé à un spectromètre visible permettant l'acquisition point par point de spectres Raman avec une résolution latérale inférieure au

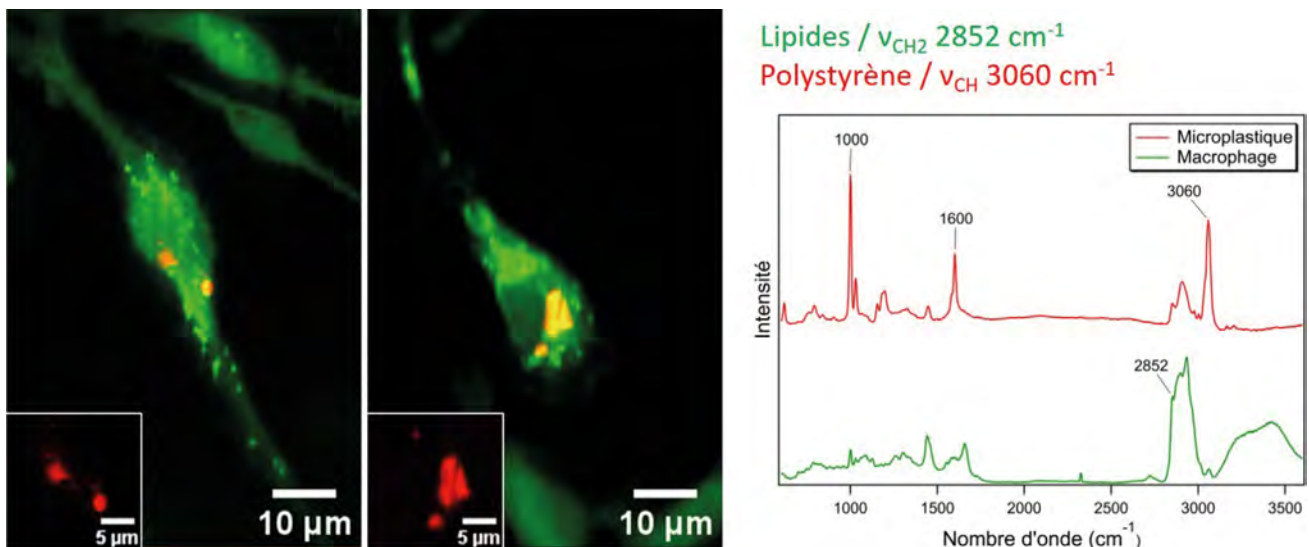
micron. On obtient ainsi une information spectroscopique, généralement vibrationnelle, sur la nature de l'échantillon qui est résolue spatialement, sans marqueur spécifique. Par rapport à d'autres techniques d'imagerie comme la microscopie de fluorescence très utilisée en biologie, l'imagerie Raman confocale présente plusieurs avantages : elle est non-invasive, et très facile à mettre en œuvre car elle ne nécessite pas de préparation de surface ou d'échantillon particulière. Elle peut également être utilisée pour l'observation *in situ* d'échantillons biologiques tels que des cellules.

En physique des matériaux, l'imagerie Raman a connu un essor considérable de son utilisation suite à la découverte du graphène, une monocouche d'atomes de carbone obtenue initialement par exfoliation mécanique. Depuis c'est tout une classe de matériaux bi-dimensionnels dits « 2D » (comme les dichalcogénures de métaux de transition ou « TMD ») qui a fait son apparition, ouvrant la voie à un nouveau type

En physique des matériaux, l'imagerie Raman a connu un essor considérable de son utilisation suite à la découverte du graphène, une monocouche d'atomes de carbone obtenue initialement par exfoliation mécanique.

de dispositifs fonctionnels basés sur l'empilement de ces matériaux 2D faiblement couplés (les hétérostructures de « van der Waals »). Dans le cas du graphène, la forme spectrale de la bande de double phonon intracouche dite « 2D » à 2700 cm^{-1} est très sensible au nombre de couches de carbone, permettant de caractériser rapidement l'épaisseur de l'échantillon exfolié [4]. Dans le cas d'échantillons micrométriques présentant des variations spatiales d'épaisseur, ou bien de l'empilement de différents matériaux 2D, l'imagerie Raman

Figure 4. Images Raman de macrophages, cellules spécialisées du système immunitaire, exposés à des microplastiques de polystyrène. La microscopie Raman permet d'identifier les lipides (en vert) et les microplastiques de polystyrène internalisés (en rouge) à partir de leurs vibrations moléculaires spécifiques à 2852 et 3060 cm^{-1} sans marquage. Les spectres Raman correspondants sont présentés à droite. Les microplastiques de polystyrène de taille micrométrique sont localisés dans le cytoplasme de la cellule.



apporte une information vibrationnelle sur la nature des matériaux et leur épaisseur. Un exemple d'imagerie Raman des matériaux 2D est présenté en figure 3 dans le cas d'un dispositif de graphène sur une couche nanométrique isolante de nitrure de bore hexagonal (hBN).

Non destructrice, l'imagerie Raman connaît également un fort développement dans le domaine biomédical, où elle pourrait être utilisée comme technique rapide de diagnostic basée sur l'analyse spectrale d'échantillons biologiques [5]. En effet, chaque cellule est composée de centaines de biomolécules différentes, protéines, lipides, sucres, acides nucléiques, qui contribuent au spectre Raman d'une cellule ou d'un tissu. Or, chaque type cellulaire possède sa propre signature spectrale, ce qui permet par exemple de distinguer des cellules cancéreuses de cellules non cancéreuses dans un même tissu ou d'identifier des bactéries pathogènes. Des recherches sont également menées pour détecter par imagerie Raman des biomarqueurs sanguins de maladies neurodégénératives en associant la détection de biomolécules spécifiques et l'analyse multivariée des données spectrales. L'imagerie Raman est aussi très utile en biologie ou en toxicologie pour l'observation *in situ* de lignées cellulaires ou d'organismes modèles exposés à un stress environnemental ou chimique. La détection de microplastiques de polystyrène dans des macrophages permet ainsi de suivre la phagocytose de particules par les cellules spécialisées du système immunitaire (figure 4).

CONCLUSION

Dans cet article, nous avons illustré quelques applications nouvelles ou originales de la spectroscopie et de l'imagerie Raman. Les directions futures vont vers l'amélioration de sa résolution spatiale avec les techniques de champ proche comme le TERS (tip-enhanced Raman spectroscopy), et vers l'imagerie ultra-rapide reposant sur la diffusion Raman stimulée (SRS). Ces deux techniques encore peu démocratisées ont un avenir prometteur dans l'imagerie des nanomatériaux et du vivant. ●

RÉFÉRENCES

- [1] W. H. Weber, R. Merlin, « Raman Scattering in Materials Science », Springer Series in Materials Science (2000)
- [2] G. Abstreiter, M. Cardona et A. Pinczuk « Light scattering by free carrier excitations in semiconductors », dans Light Scattering in Solids IV, Springer (1984)
- [3] T.P. Devereaux et R. Hackl, Rev. Mod. Phys. **79**, 175 (2006)
- [4] X. Cong, X. L. Liu, M. L. Lin, P. H. Tan, npj 2D Mater. Appl. **4**, 13 (2020)
- [5] K. Kong, C. Kendall, N. Stone, I. Notinghe, Adv Drug Deliv. Rev. **89**, 121 (2015)

Solutions pour la spectroscopie RAMAN

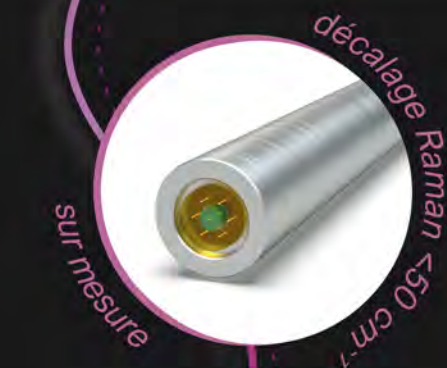
01 Spectromètres haute sensibilité



02 Lasers fibrés RAMAN



03 Sondes fibrées



info@idil.fr

Prototypes d'ingénierie, développement de systèmes complets, intégrations OEM et opto-électroniques