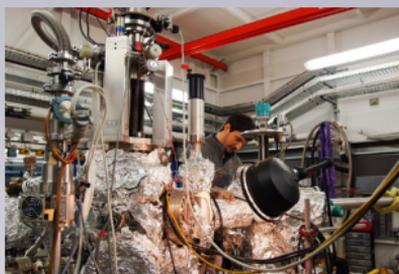


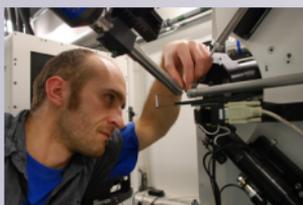
# Eventail des techniques

Installation de très haute technologie, un centre de rayonnement synchrotron est, à la fois, une machine qui produit un rayonnement d'une brillance exceptionnelle et d'une large gamme spectrale, et une plateforme de recherche pluridisciplinaire à la pointe des techniques expérimentales. Depuis janvier 2008, à SOLEIL, quelque 350 personnes accueillent près de 3000 chercheurs et industriels chaque année, issus de tous les domaines qui mobilisent la science et l'industrie : *biologie, pharmacie, environnement, physique, matériaux, chimie, géosciences, patrimoine...*

Qu'il s'agisse d'appréhender finement la structure et la géométrie de la matière, de sonder sélectivement les niveaux électroniques des atomes ou d'explorer leurs propriétés, l'utilisation du rayonnement synchrotron concerne un très large ensemble d'activités, tant en recherche fondamentale qu'en recherche appliquée ou d'intérêt industriel. Le programme scientifique de SOLEIL a été élaboré avec l'aide de groupes de travail et d'ateliers thématiques issus de larges communautés de scientifiques.

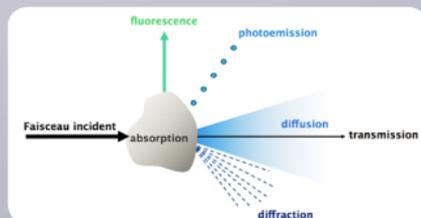


Depuis 2008, les utilisateurs viennent travailler sur une ou plusieurs stations expérimentales appelées « lignes de lumière », chaque ligne étant un véritable laboratoire avec sa gamme d'énergie, ses problématiques de recherche, ses dispositifs expérimentaux, ses techniques, son équipe de recherche et une disponibilité 24 heures sur 24, six jours par semaine.



## • Interactions lumière-matière

Lorsqu'un rayonnement électromagnétique rencontre un échantillon, différentes interactions, à différentes énergies, se produisent : absorption, diffusion, diffraction, photoémission, fluorescence... Ces interactions rayonnement-matière, observées séparément ou simultanément, sont exploitées par des techniques de caractérisation. Ces différentes techniques très complémentaires apportent des informations chimiques, électroniques, morphologiques ou structurales sur l'échantillon.



*Ce document présente une sélection de techniques essentiellement basées sur ces interactions rayonnement-matière et disponibles sur les 29 lignes de lumière prévues d'ici 2015 et les laboratoires supports de SOLEIL.*

**Contacts :** Philippe Deblay (01 69 35 90 05),  
Céline Lory (01 69 35 91 40) [industrie@synchrotron-soleil.fr](mailto:industrie@synchrotron-soleil.fr)



## Remerciements :

Alessandro COATI, Paul DUMAS, Erik ELKAIM, Philippe FONTAINE, Cameron KEWISH, Stefan KUBSKY, Pierre LEGRAND, Marie-Aline MARTIN, Pierre ROBLIN, Christophe SANDT, Sandrine SCHLUTIG, Matthieu SILLY, Nicolas TRCERA et Timm WEITKAMP.

## Contacts :

- Philippe Deblay (01 69 35 90 05),
- Céline Lory (01 69 35 91 40) - [industrie@synchrotron-soleil.fr](mailto:industrie@synchrotron-soleil.fr)

## Synchrotron SOLEIL

L'Orme des Merisiers, Saint-Aubin, BP48  
91192 Gif-sur-Yvette Cedex  
Tél.: + 33 (0)1 69 35 90 00

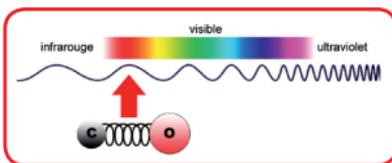
[www.synchrotron-soleil.fr](http://www.synchrotron-soleil.fr)



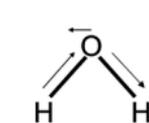
# La spectroscopie infrarouge

## • Principe de la technique

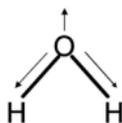
Dans les molécules, les liaisons vibrent à une fréquence bien déterminée qui dépend de la nature des atomes, du type de liaison entre ces atomes (simple, double, ou triple) et de leur environnement. Pour une



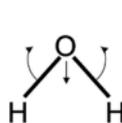
fréquence donnée de la lumière incidente, dans l'infrarouge, ces liaisons entrent en résonance : l'énergie apportée est alors transférée à la matière, la vibration des liaisons est amplifiée. On observe un pic d'absorption.



Elongation asymétrique  
3756  $\text{cm}^{-1}$



Elongation symétrique  
3652  $\text{cm}^{-1}$



Déformation  
1595  $\text{cm}^{-1}$

Exemple de la molécule d'eau

Nb : en IR, l'unité fréquemment utilisée n'est ni la fréquence, ni l'énergie comme en absorption X, mais le nombre d'onde (exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ ), qui est l'inverse de la longueur d'onde.

## • Formes de l'échantillon

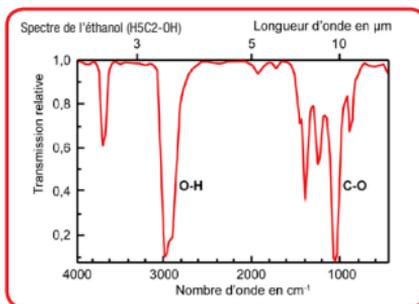
Gazeux, liquides, solides, surfaces.

## • Type de données acquises

On obtient un spectre qui représente la transmittance en fonction du nombre d'onde (l'inverse de la longueur d'onde). La transmittance est le rapport entre l'intensité de la lumière transmise par l'échantillon et l'intensité incidente ( $T = I/I_0$ ).

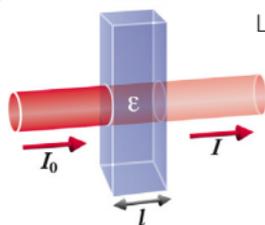
## • Informations obtenues

Cette technique permet l'identification de groupements moléculaires (fonctions chimiques et/ou liaisons caractéristiques entre deux atomes) grâce à leurs absorptions spécifiques dans le domaine de l'infrarouge. Par exemple sur le spectre de l'éthanol ci-contre, on peut reconnaître la liaison C-O, à un peu plus de 1000  $\text{cm}^{-1}$ , et la liaison O-H aux environs de 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Plus généralement, l'étude de ces spectres permet de remonter à la formule chimique d'une molécule ou de déterminer sa présence dans un échantillon.



## La spectroscopie infrarouge

Par ailleurs, grâce à la loi de Beer Lambert, on peut également déterminer la quantité des molécules d'intérêt.



$$\text{Loi de Beer-Lambert : } T = I/I_0 = \exp(-\epsilon lc)$$

avec :

- $l$  : longueur de l'échantillon traversé ;
- $c$  : concentration de la molécule dans l'échantillon ;
- $\epsilon$  : coefficient d'absorption qui dépend de la molécule et de la longueur d'onde.

### • Durée, de l'expérience aux résultats

De quelques secondes à plusieurs minutes pour l'acquisition d'un spectre à basse résolution, à quelques heures pour des spectres à moyenne résolution (molécules en phase solide et liquide). De quelques heures (minimum) à plusieurs jours d'accumulation pour la haute résolution en phase gaz.

### • Lignes SOLEIL proposant cette technique

AILES, SMIS.

### • Avantages du rayonnement synchrotron

- L'étendue de la gamme spectrale permet de couvrir la gamme complète de l'infrarouge proche jusqu'aux THz (observation des mouvements de vibration des molécules, mais également ceux de rotation de chacune des molécules pour la phase gazeuse) ;
- La brillance du faisceau permet une nette amélioration du rapport signal-sur-bruit par rapport à une source de lumière classique.
- La qualité spectrale de ce rayonnement (notamment sa faible dispersion) permet de sonder des échantillons de très petite dimension en phase condensée, tout comme des molécules en phase gazeuse à très haute résolution et ce, avec un grand nombre de photons.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

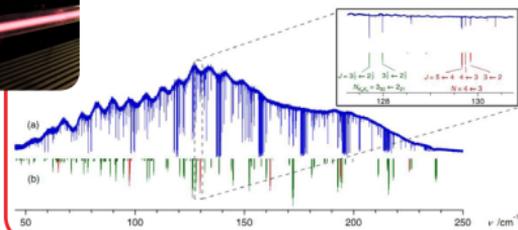
La signature de la forme  $^{15}\text{NH}$  du composé NH (espèce clef détectée dans notre atmosphère et dans l'espace) a pour la première fois été déterminée avec une extrême précision sur la ligne AILES par spectroscopie d'absorption dans le domaine des terahertz (IR lointains). Les données de référence pourront être comparées à celles enregistrées par la mission HERSCHEL pour valider et quantifier la présence de  $^{15}\text{NH}$  dans le milieu interstellaire.



Photo du plasma, produit par décharge électrique, utilisé pour cette étude.

Spectre en infrarouge lointain (transformées de Fourier) enregistré sur la ligne AILES : 120 scans accumulés pendant environ 7 heures

à très haute résolution ( $0,001 \text{ cm}^{-1}$ ). L'encadré détaille les pics de la structure fine de transitions électroniques particulières de  $^{15}\text{NH}$  (en rouge) et  $^{15}\text{NH}_2$  (en vert).

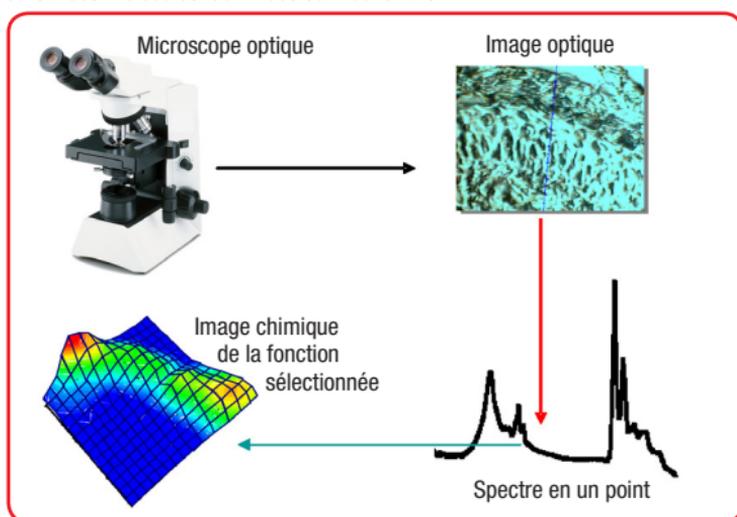


# La microscopie infrarouge

## • Principe de la technique

La microscopie infrarouge couple les techniques de microscopie optique (observation de la nature et la composition de l'échantillon) avec la spectroscopie d'absorption infrarouge (identification précise des composés chimiques). La platine du microscope se déplace pas à pas sur l'échantillon tandis que le spectromètre enregistre des spectres et identifie les différents composés, sur les différents points analysés.

Ces données sont ensuite compilées afin de visualiser une image chimique en 2D ou 3D des molécules identifiées sur l'échantillon.



## • Formes de l'échantillon

Solides, surfaces et liquides en milieux confinés.

## • Type de données acquises

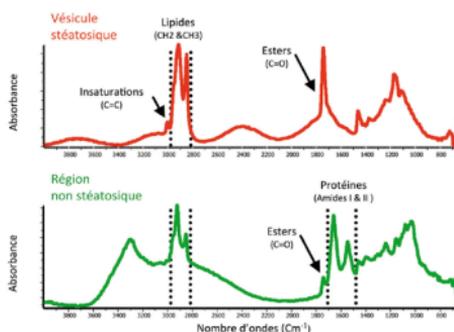
On obtient une matrice de spectres et l'image optique associée.

### Foie stéatosique

Étude d'un foie pour diagnostic pré-implantation sur la *Ligne SMIS*



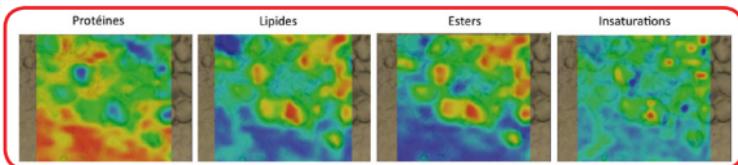
Spectres réalisés en différents points dans des vésicules stéatosiques et dans des zones saines.



## La microscopie infrarouge

### • Informations obtenues

Cette technique permet l'identification, la quantification et la répartition spatiale des composés de l'échantillon. Par exemple, dans le cas ci-dessous, l'étude a montré la présence de lipides insaturés en faible quantité dans une zone qui paraissait saine.



### • Durée, de l'expérience aux résultats

De quelques secondes à quelques minutes pour l'acquisition d'un spectre soit environ 30-45 minutes pour la cartographie d'un cheveu (diamètre d'environ 100  $\mu\text{m}$ ) avec une résolution de 10 x 10  $\mu\text{m}^2$ .

### • Ligne SOLEIL proposant cette technique

SMIS.

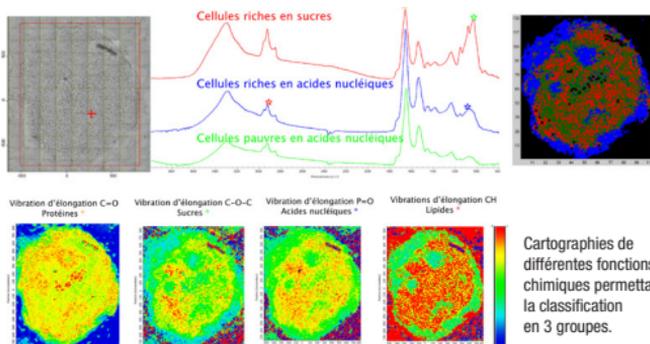
### • Avantages du rayonnement synchrotron

- La brillance du faisceau est l'élément essentiel pour atteindre une grande qualité spectrale et une bonne résolution spatiale (suffisamment de photons avec une petite taille de faisceau et possibilité de travailler sur de plus petites zones).
- La qualité spectrale permet une identification précise de la composition des échantillons, même hétérogènes (minéraux, tissus biologiques, matériaux anciens...). La résolution spatiale permet d'obtenir cette identification à l'échelle micronique (images chimiques plus détaillées).

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

Classification d'une monocouche de cellules souches embryonnaires humaines H9 (~15.000 cellules) en 3 groupes par une méthode de reconnaissance spectrale en microscopie infrarouge sur la ligne SMIS.

Diamètre des cellules  $12 \pm 2 \mu\text{m}$ ,  $112 \times 133 = 14896$  spectres à la résolution de  $12 \times 12 \mu\text{m}^2$

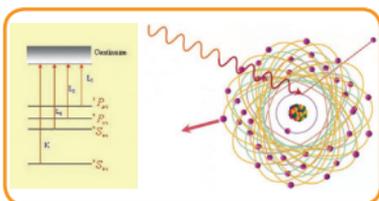


*Cette étude a montré qu'une population de cellules sensée être homogène est, en fait, très hétérogène : certaines cellules expriment plus de sucres ou accumulent plus de réserves, d'autres sont plus actives. Cela montre l'intérêt d'une telle technique pour mieux caractériser ces cellules avant utilisation médicale.*

# L'absorption X : XANES et EXAFS

## • Principe de la technique

La spectroscopie d'absorption des rayons X permet de sonder un élément chimique donné (exemple le nickel) présent dans un échantillon, en sélectionnant l'énergie ou la longueur d'onde qui est absorbée par cet élément et qui correspond à son seuil d'absorption (8 333 eV, pour le nickel). A cette énergie, un électron de cœur est arraché et va venir occuper des couches inoccupées externes de l'atome (continuum). Suivant l'orbitale qu'occupait l'électron, on parlera de seuil K, L<sub>1</sub>,...



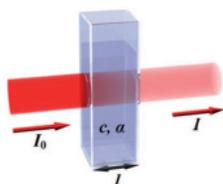
## • Formes de l'échantillon

Liquides, solides, gazeux, surfaces.

## • Type de données acquises

La loi de Beer-Lambert peut s'exprimer ainsi :

$$I = I_0 \exp(-\mu x)$$



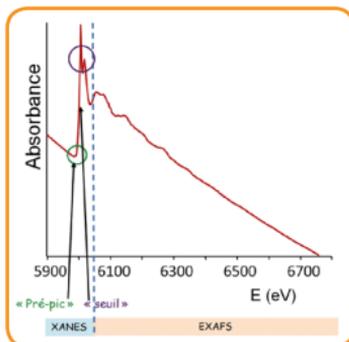
- $I_0$  est l'intensité incidente des rayons X ;
- $I$  est l'intensité transmise par l'échantillon ;
- $\mu$  est le coefficient d'absorption ( $\text{cm}^{-1}$ ) qui dépend du matériau ;
- $x$  est la longueur du trajet optique (cm), soit l'épaisseur de l'échantillon.

On obtient un spectre qui représente l'absorbance  $A$  ou coefficient d'absorption  $\mu$ , en fonction de l'énergie des photons. Le coefficient d'absorption est proportionnel à  $\ln I_0/I$ . En suivant celui-ci en fonction de l'énergie, on décrit ses discontinuités qui dépendent de la structure du matériau pour un élément donné.

## • Informations obtenues

Spectre d'absorption X : exemple du seuil K du Chrome (Cr).

**Pré-pic** : cette partie du spectre donne des indications sur la structure électronique de l'élément et sur la structure à courte distance. Par exemple le chrome III de structure octaédrique ne présente pas de pré-pic contrairement au chrome VI de structure tétraédrique.



## L'absorption X : XANES et EXAFS

**Seuil d'absorption** : l'énergie de celui-ci est caractéristique d'un élément chimique. Le photon absorbé permet d'arracher un électron de cœur de l'atome.

**XANES** : cette partie du spectre nous renseigne sur l'environnement à courte et moyenne distance autour de l'atome (jusqu'à 0.8 nm) et sur la configuration électronique de l'élément qui dépend des atomes voisins.

**EXAFS** : cette région donne des informations sur la nature, la distance interatomique avec les atomes voisins et le degré de désordre structural du matériau autour de cet élément.

### • Durée, de l'expérience aux résultats

De quelques microsecondes (EXAFS dispersif ou quick EXAFS) à plusieurs heures (XANES, EXAFS) pour l'obtention d'un jeu de données par échantillon. A cela s'ajoute le temps de préparation de l'environnement échantillon.

### • Lignes SOLEIL proposant ces techniques

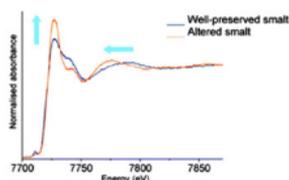
DEIMOS, DIFFABS, LUCIA, MARS, NANOSCOPIUM, ODE, SAMBA, TEMPO.

### • Avantages du rayonnement synchrotron

- Une grande brillance de faisceau est nécessaire pour cette technique qui par conséquent ne se fait que sur synchrotron aujourd'hui. Le grand nombre de photons permet en effet d'augmenter la probabilité d'avoir des transitions électroniques et permet d'avoir un rendement suffisant en quelques minutes ou heures au lieu de semaines.
- Les larges gammes spectrales disponibles sur les différentes lignes de lumière permettent de sonder la quasi-totalité des éléments du tableau périodique.
- L'accordabilité en énergie, obtenue grâce au monochromateur, permet une grande sélectivité sur l'élément à analyser.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

L'étude par absorption X réalisée sur un prélèvement de tableau de Murillo, sur la ligne de lumière LUCIA, a montré que l'altération du pigment bleu (devenu gris au cours du temps) est due à la migration des ions potassium hors des grains de pigment, qui provoque un changement de coordination des ions cobalt responsables de la couleur bleue du pigment.



*The Heavenly and Earthly Trinities* (*The Pedros* Murillo) oeuvre de Bartolomé Estaban Murillo, l'un des tableaux sur lesquels ont été prélevés des micro-échantillons examinés dans cette étude. Les prélèvements ont été réalisés dans la zone située à droite de la tête de l'enfant, au centre du tableau.

© National Gallery, London

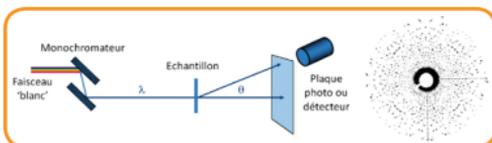
Publication : "Investigation of the discoloration of smalt pigment in historic paintings by micro X-ray absorption spectroscopy at the Co K-edge", *Analytical Chemistry*, 2011, 83(13): 5145–5152. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac200184f>.

Laurianne Robinet, Marika Spring, Sandrine Pagès-Camagna, Delphine Vantelon and Nicolas Trcera.

# Diffraction des rayons X

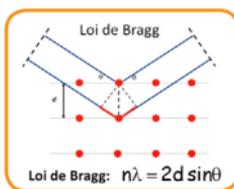
## • Principe de la technique

Un faisceau de rayons X durs (haute énergie) interagit avec les atomes constituant l'échantillon. Les nuages électroniques qui entourent ces atomes vont modifier le parcours des rayons X qui vont être diffusés dans plusieurs directions.



Si l'échantillon a une structure désordonnée, les faisceaux sont diffusés dans toutes les directions. En revanche, si ses atomes présentent de l'ordre à grande distance, la diffusion a lieu dans des directions bien définies (phénomène d'interférences) : c'est la diffraction. Ce phénomène se produit car la distance entre les atomes est du même ordre de grandeur que la longueur d'onde des rayons X : échelle de l'angström ( $10^{-10}\text{m}$ ). Les deux phénomènes (diffraction et diffusion), peuvent avoir lieu simultanément en fonction de l'ordre ou désordre de l'échantillon.

Si l'échantillon a une structure désordonnée, les faisceaux sont diffusés dans toutes les directions. En revanche, si ses atomes présentent de l'ordre à grande distance, la diffusion a lieu dans des directions bien définies (phénomène d'interférences) : c'est la diffraction. Ce phénomène se produit car la distance entre les atomes est du même ordre de grandeur que la longueur d'onde des rayons X : échelle de l'angström ( $10^{-10}\text{m}$ ). Les deux phénomènes (diffraction et diffusion), peuvent avoir lieu simultanément en fonction de l'ordre ou désordre de l'échantillon.



La diffraction peut être utilisée à différentes échelles, soit en modifiant l'énergie (ou la longueur d'onde) du faisceau incident, soit en modifiant l'angle. Ainsi les grands angles permettent d'obtenir des informations sur l'organisation atomique (quelques angströms) tandis que les petits angles renseignent sur

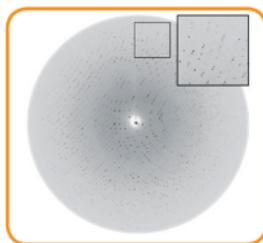
les grandes distances (colloïdes, billes, domaines, agrégats, couches, et autres objets de quelques dizaines de nm).

## • Formes de l'échantillon

Il existe trois grandes familles de systèmes : monocristallins, polycristallins (dont les poudres), ou désordonnés. Les échantillons peuvent avoir les formes les plus diverses. On peut s'intéresser aussi bien au volume, à la surface ou à une interface enterrée. Les échantillons peuvent présenter une organisation à des échelles variables (ex : monocristal, multicouches magnétiques, surface monocristalline avec quelques atomes disposés, systèmes cristallins épitaxiés, cristaux solide ou liquides, polymères cristallisés...).

## • Type de données acquises

L'échantillon est placé et tourne dans le faisceau X. Sur le détecteur (1D ou 2 D, mobile ou fixe) placé derrière l'échantillon, les rayons diffractés forment une figure de diffraction. Plus l'échantillon est de bonne qualité (taille suffisante, pas de défaut) plus la quantité d'informations contenue dans la figure de diffraction est importante.



## Diffraction des rayons X

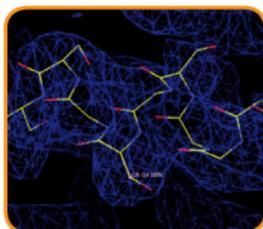
### • Informations obtenues :

A partir des figures de diffraction obtenues, on peut déterminer la structure du matériau (agencement des atomes, domaines... qui le composent). En général, une structure imaginée à partir de ce que l'on connaît du système est testée pour décrire la figure de diffraction. Les différents paramètres de cette structure sont optimisés, afin d'extraire la ou les position(s) des différents constituants de la structure (maille du cristal<sup>1</sup>). La largeur et la forme des taches de diffraction permettent d'obtenir une idée de la portée (qualité de l'ordre). L'intensité est reliée à la forme des constituants élémentaires (le motif<sup>2</sup>). Des études plus fines de la forme, des positions et des intensités de pics donnent en outre des renseignements sur les éventuels défauts, impuretés, sur-structures,...

Contrairement à la spectroscopie d'absorption qui donne une information très locale, la diffraction des rayons X donne une information statistique sur l'ensemble du cristal (ex : structure sur un système de plusieurs millions d'atomes ordonnés dans un cristal).

*1 Maille : unité géométrique qui, répétée dans les trois directions de l'espace, permet d'obtenir le réseau du cristal.*

*2 Motif : ensemble des atomes contenus dans la maille du cristal (par ex : dans le cas du sel de cuisine NaCl, le motif est formé d'un atome de chlore et d'un atome de sodium, positionnés aux sommets et aux centres des faces d'un cube élémentaire).*



### • Durée, de l'expérience aux résultats

La préparation dure de une à plusieurs heures selon l'échantillon (vide etc...). Les mesures peuvent prendre quelques minutes pour la diffraction de poudre (variant selon la quantité d'échantillon) à plusieurs heures pour les études de surfaces (pour une bonne statistique de mesure car peu de photons diffractés). La durée dépend également du type d'étude (pics regardés, diffraction basse, moyenne ou haute résolution).

### • Lignes SOLEIL proposant ces techniques

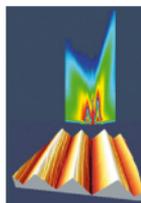
CRISTAL, DIFFABS, MARS, SEXTANTS, SIRIUS, SIXS, PROXIMA1, PROXIMA2 (biocristallographie).

### • Avantages du rayonnement synchrotron

- Brillance et faible divergence de la source nécessaires pour l'étude de petits cristaux (faible pouvoir diffusant), pour les études de surfaces, ou aux petits angles.
- Possibilité de faire des mesures à haute résolution pour déceler des détails dans l'organisation.
- Accordabilité en énergie permettant une grande sensibilité chimique en diffraction, en sélectionnant des énergies du faisceau incident autour des seuils d'absorption des éléments étudiés (techniques anomales ou résonantes).

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

Un échantillon de cuivre sur lequel a été déposé de l'argent a été analysé sur la ligne de lumière SIXS. La diffraction de surface permet d'extraire des informations morphologiques de la surface; dans l'exemple présenté ici, on peut en particulier mesurer, à partir des signaux obtenus dans la carte montrée en haut de la figure, l'inclinaison des facettes et leur période. L'image de microscopie à effet tunnel, (technique complémentaire à la diffraction X), de la surface étudiée est montrée en bas.

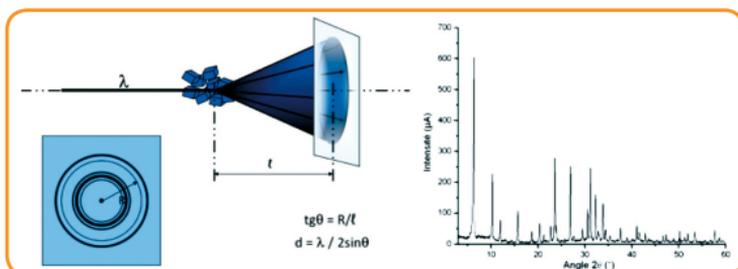


# Diffraction des rayons X

## cas particuliers

### • Cas de la diffraction de poudre

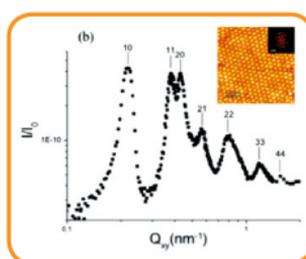
Une poudre est un ensemble de microcristaux orientés aléatoirement (dans le cas idéal). *Nb* : lorsque les microcristaux sont préférentiellement orientés dans certaines directions, la poudre est dite « texturée ».



Tandis que pour un monocristal, le cliché de diffraction présente un ensemble de taches ponctuelles, celui d'une poudre comprend des anneaux concentriques qui correspondent à l'intersection du plan du détecteur avec les cônes de diffraction. Celui-ci pourra être intégré sous forme d'un diagramme de diffraction représentant l'Intensité en fonction de l'angle. Plusieurs informations peuvent être extraites à partir de ces diagrammes comme par exemple : l'identification au sein d'un mélange de phases cristallines dont les signatures sont connues (bases de données), l'analyse quantitative (proportion des différentes phases), la résolution et l'affinement de la structure d'un composé, ou encore l'analyse microstructurale (taille des grains, déformations...)

### • Cas de la diffraction de surface

Dans le cas d'une couche très mince ou d'une surface, si le faisceau de rayons X est envoyé d'une manière quelconque, l'intensité diffusée ou diffractée mesurée sur le détecteur résulte de la diffusion par le volume et masque complètement le signal de la surface. Par contre s'il est envoyé sous une incidence rasante (inférieure à  $0.02^\circ$  entre la surface et le faisceau incident), le phénomène de réflexion totale intervient : le faisceau de rayons X est totalement réfléchi dans l'air sauf une onde évanescente qui ne pénètre dans le volume que de quelques nanomètres. Cette onde va interagir avec la couche en surface uniquement et fournir un signal de diffusion ou de diffraction si la couche superficielle est organisée. Si on mesure le signal aux petits angles, on parlera de GISAXS (Grazing Incidence Small Angle X-ray Scattering). Si on mesure le signal aux grands angles, on parle de GIXD (Grazing Incidence X-ray Diffraction).





# Diffraction des rayons X

## cas de la biocristallographie

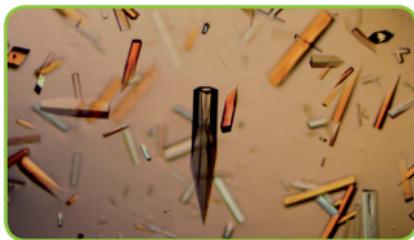
### • Principe de la technique

Un faisceau de rayons X de haute énergie (rayons X durs) interagit avec les atomes constituant l'échantillon : les nuages électroniques qui entourent ces atomes sont autant d'obstacles pour les rayons X, dont le parcours est alors modifié : c'est la diffusion. Si l'échantillon a une structure désordonnée, les faisceaux sont diffusés dans toutes les directions.

Mais si ses atomes sont parfaitement ordonnés, ce qui est le cas dans un cristal, la diffusion a lieu dans des directions bien définies (phénomène d'interférences) : c'est la diffraction. Ce phénomène se produit car la distance entre deux atomes est du même ordre de grandeur que la longueur d'onde des rayons X : échelle de l'Angström ( $10^{-10}$  m).

### • Forme de l'échantillon

**Cristal** – c'est-à-dire agencement régulier de milliards (de l'ordre de  $10^{14}$ ) d'exemplaires de la molécule dont on cherche à connaître la structure 3D. Pour cristalliser la molécule d'intérêt, une solution aqueuse saturée en la molécule est préparée, puis un



sel ou un produit organique est ajouté pour « sursaturer » la solution. On peut aussi jouer sur le pH ou la température, le but étant que des cristaux, de taille suffisante (10 à 200  $\mu\text{m}$ ), se forment. Cette étape de cristallisation est très empirique et nécessite parfois des milliers d'essais.

### • Type de données acquises

Sur le détecteur, les rayons diffractés forment une figure de diffraction : un ensemble de taches. On n'obtient donc pas directement une image de la molécule étudiée. Plus le cristal est « de bonne qualité » (taille suffisante, pas de défaut) plus la quantité d'information contenue dans la figure de diffraction est importante.

En pratique, des centaines de figures de diffraction sont enregistrées sur le cristal, qui tourne lentement dans le faisceau de RX.

### • Informations obtenues

Des relations mathématiques (transformées de Fourier) permettent, à partir de l'objet étudié, de déterminer la figure de diffraction qu'il donnera. Les transformées de Fourier inverses, quant à elles, donnent accès à la structure de l'objet - l'agencement des atomes qui composent le cristal - à partir de la figure de diffraction obtenue.

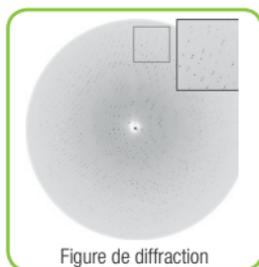
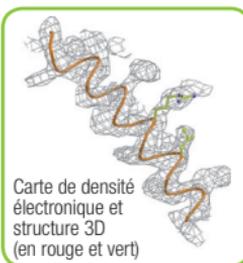


Figure de diffraction

## Diffraction des rayons X - cas de la biocristallographie

La position des taches des figures de diffraction informe sur la **maille\*** du cristal, leur intensité informe sur le **motif\*\*** du cristal. Le problème principal est la détermination d'une autre caractéristique des faisceaux diffractés, la **phase**, nécessaire pour « remonter » à la structure de la molécule. Il existe des techniques pour contourner ce problème, comme la fixation d'atomes particuliers (Pt, Se, Yb) aux molécules d'intérêt. Quand ce problème est résolu, des programmes informatiques calculent une première carte de densité électronique, qui est peu à peu affinée, jusqu'à obtenir la structure 3D.



\* Maille : unité géométrique qui, répétée dans les trois directions de l'espace, permet d'obtenir le réseau du cristal.

\*\* Motif : ensemble des atomes contenus dans la maille du cristal (par ex : dans le cas du sel de cuisine NaCl, le motif est formé d'un atome de chlore et d'un atome de sodium, positionnés aux sommets et aux centres des faces d'un cube élémentaire).

### • Lignes SOLEIL proposant cette technique

PROXIMA1, PROXIMA2 (spécifiquement dédiée à l'analyse de microcristaux pouvant descendre jusqu'à 5 µm).

### • Avantages du rayonnement synchrotron

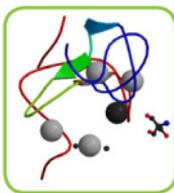
- La brillance et la faible taille du faisceau permettent d'étudier des cristaux de petite taille : très important car les cristaux de molécules biologiques sont particulièrement difficiles à obtenir.
- La brillance permet également de réduire le temps d'analyse, ce qui donne la possibilité de tester davantage de cristaux.
- La très faible divergence du faisceau permet d'étudier des molécules de plus grande taille (ex : ribosomes, de plusieurs centaines de milliers d'atomes).
- L'accordabilité en longueur d'onde facilite l'utilisation de méthodes expérimentales qui permettent de déterminer la structure de nouvelles macromolécules.

NB : Les statistiques récentes montrent que ~85% des structures de macromolécules déposées dans la base de données centralisée PDB ([www.pdb.org](http://www.pdb.org)) ont été déterminées en utilisant le RS.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

Les histones sont des protéines qui interviennent dans la compaction de l'ADN à l'intérieur des cellules. Un dysfonctionnement de leur activité peut entraîner des désordres dans l'activité cellulaire (mauvaise régulation de l'expression de certains gènes, répliquions anarchiques...).

Des chercheurs ont étudié sur PROXIMA1 l'action de la protéine UHRF1 impliquée dans ce processus de compaction de l'ADN. UHRF1 joue le rôle d'« adaptateur » : elle se fixe sur les histones et « recrute » d'autres enzymes. L'étude porte sur les effets de différentes mutations génétiques appliquées à la protéine UHRF1. Les chercheurs regardent si ces modifications influent sur la structure 3D de la protéine pour expliquer certaines altérations de son activité (interactions avec les histones). Elle constitue de ce fait une cible intéressante pour comprendre les mécanismes de développement de certains cancers.



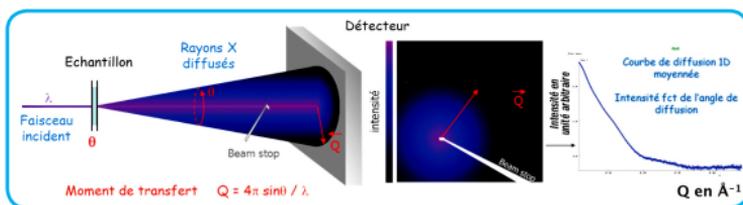
Représentation schématique de la structure de UHRF1, déterminée sur PROXIMA1. NB : la flèche verte correspond à une partie d'un feuillet β (structure secondaire de la protéine).

Publication : The PHD Finger of Human UHRF1 Reveals a New Subgroup of Unmethylated Histone H3 Tail Readers, (2011) Plos One 6: 27599. Lalous, N., Legrand, P., McEwen, A.G., Ramon-Maiques, S., Samama, J.P., Birk, C..

# Diffusion des rayons X (exemple du SAXS)

## • Principe de la technique

La diffusion des rayons X aux petits angles ou SAXS (Small Angle X ray Scattering) permet d'étudier des structures de molécules ou assemblages moléculaires de quelques angströms à plusieurs centaines de nanomètres, dans leurs conditions quasi-natives. La technique permet aussi d'évaluer les variations structurales de molécules soumises à des contraintes externes (température, pression, cisaillement...). Sur le principe, l'interaction d'un faisceau monochromatique X avec les couches électroniques internes des atomes de l'échantillon produit une déviation de ce faisceau. La variation de l'intensité du faisceau dévié en fonction de l'angle de diffusion (ou moment de transfert Q) va dépendre de la structure globale et interne de la molécule mais aussi des interactions intermoléculaires.



## • Formes de l'échantillon

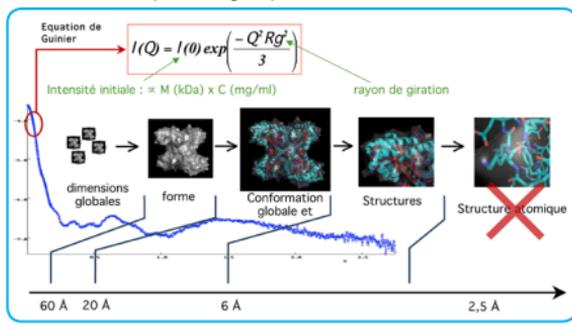
Solutions, colloïdes, gels, solides (partiellement) cristallisés, poudres, nanoparticules, agrégats, mousses...

## • Type de données acquises

En général, une expérience SAXS est réalisée sur une solution d'objets non orientés préférentiellement dans une direction de l'espace. On obtient alors un spectre de diffusion isotrope [intensité constante pour chaque valeur d'angle  $\theta$  (ou moment de transfert Q)]. Pour accroître le rapport signal sur bruit, l'intensité est moyennée pour chaque valeur de  $\theta$  (intégration radiale). Les spectres 1D obtenus représentent les variations d'intensité « I » (souvent représentées en échelle logarithmique), en fonction du moment de transfert « Q ».

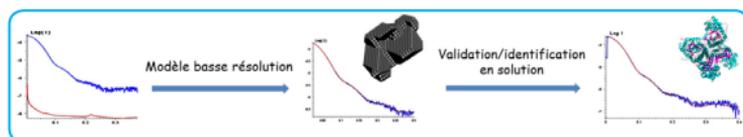
## • Informations obtenues

Une courbe SAXS est une représentation multi-échelle d'un objet (dimensions globales de l'objet à tous petits angles, structure interne à plus grands angles...). Une première analyse de la courbe à petits angles permet de déterminer la taille des objets et le degré d'oligomérisation grâce à différents paramètres (rayon de giration, intensité à l'origine  $I(0)$  qui dépend du poids moléculaire et de la concentration...).



## Diffusion des rayons X (exemple du SAXS)

Une analyse plus poussée des données restitue l'information sur la structure 3D de l'objet. Pour cela, des méthodes *ab initio* ont été développées pour calculer des formes géométriques compatibles avec la courbe de diffusion obtenue. Le modèle initial, sphère constituée de N billes d'une certaine densité électronique, est modifié par des algorithmes de modélisation. Les billes sont substituées par cycles successifs pour que la courbe de diffusion théorique générée soit comparable à celle de l'objet étudié.



Ainsi en biologie structurale, le SAXS est une technique performante pour discriminer des structures haute résolution obtenues par d'autres méthodes (par exemple : cristallographie ou Résonance Magnétique Nucléaire - R.M.N.), en comparant la courbe de diffusion théorique obtenue à partir d'un modèle atomique, avec la courbe expérimentale.

### • Durée de l'expérience aux résultats

Le temps de préparation est de 15 minutes. Les acquisitions sont de l'ordre de 0.5 à 1 seconde pour un spectre.

### • Lignes SOLEIL proposant cette technique

SWING (SAXS complétée par le WAXS\* et GISAXS\*\*), SEXTANTS (SAXS pour les échantillons solides), SIXS et SIRIUS (GISAXS pour les surfaces uniquement) et MARS (WAXS). \* Wide Angle X rays Scattering - \*\* Grazing Incident SAXS.

### • Avantages du rayonnement synchrotron

- La brillance du faisceau permet d'optimiser le temps de l'expérience (0.5 à 1 seconde maximum, au lieu de 1 à 2h avec les tubes à anodes tournantes) et d'analyser des échantillons très dilués.
- La technique dite « stopped flow », permet d'étudier des cinétiques courtes de l'ordre de la ms, au cours de phénomènes biologiques ou chimiques et peut être couplée à des étapes de séparation rapide comme l'HPLC (chromatographie en phase liquide) sur des échantillons inhomogènes.
- La petite taille du faisceau permet d'étudier la diffusion aux très petits angles.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

Différents tanins en solution dans l'éthanol ont été étudiés par SAXS sur la ligne SWING pour suivre la modification de leur structure au cours de leur oxydation. Ces réactions d'oxydation que subissent les tanins au cours de la fabrication de certains aliments (vin, ou autres aliments à base de fruits par exemple), peuvent entraîner des changements structuraux importants (masse molaire, conformation) qui modifient probablement leurs propriétés physico-chimiques, d'où une influence possible sur les qualités gustatives du produit. L'étude s'est particulièrement portée sur les degrés de polymérisation (DP) qui résultent de réactions intermoléculaires.



Courbes de SAXS de deux fractions de tanins natifs (DP : 9 et 40). Après une semaine d'oxydation, le DP moyen est multiplié par 1,4 pour la première fraction et par 3 après 2 semaines pour la seconde fraction. Les courbes de diffusion permettant également de déterminer l'évolution des conformations en solution des tanins : polymères linéaires semi-flexibles pour les tanins natifs, polymères en étoile à un peu moins de trois branches pour les polymères oxydés (dans le cas ici du DP 40).

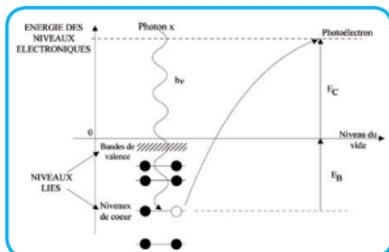
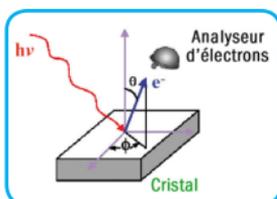
**Références :** 1. C. Poncet-Legrand, B. Cabane, A.-B. Bautista-Ortin, S. Carrillo, H. Fulcrand, J. Pérez, A. Vernhet (2010), *Biomacromolecules*, 11, 2376-2386 - 2. A. Vernhet, S. Dubascoux, B. Cabane, H. Fulcrand, E. Dubreucq, C. Poncet-Legrand (2011), *Anal. Bioanal. Chem.*, 401, 1559-1569

# Spectroscopie de Photoémission (XPS)

## pour les études de surfaces

### • Principe de la technique

La spectroscopie de photoémission, XPS (X Ray Photoelectron Spectroscopy) ou spectroscopie ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis), est une méthode d'analyse de surfaces, élémentaire (identification et quantification d'un atome donné dans un composé) et chimique (nature des liaisons chimiques, degré d'oxydation, identification de composés...). Elle est non ou très peu destructive (faibles doses de photons incidents utilisées). Cette technique consiste à analyser en énergie cinétique les électrons arrachés d'une surface (effet photoélectrique), lorsqu'on excite celle-ci par des photons d'une énergie «  $h\nu$  » donnée (impulsions laser UV, sources UV ou X ou rayonnement synchrotron). Ces électrons appelés « photo-électrons » appartenant à une couche intérieure de l'atome (électrons de cœur), sont éjectés avec un angle particulier (noté «  $\theta$  ») et se déplacent avec une énergie cinétique (notée «  $E_c$  »). L'énergie de liaison «  $E_B$  » caractérisant un électron d'un niveau électronique donné est directement accessible par la relation de conservation de l'énergie :  $E_B = h\nu - E_c$



Où  $h\nu$  est l'énergie des photons incidents.

Et  $E_c$  est l'énergie cinétique mesurée.

**NB :** tous les atomes possédant des niveaux de cœur, sauf l'hydrogène, sont détectables.

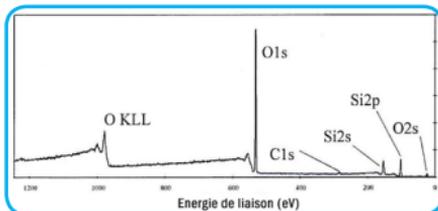
A noter que l'émission de cet électron provoque une vacance sur l'orbitale de l'atome, qu'un électron de plus haute énergie va venir combler, causant un dégagement d'énergie. Celle-ci peut se traduire par l'émission d'un photon (fluorescence) ou être absorbée par un autre électron qui sera éjecté à son tour (électron Auger). Ces phénomènes sont exploités par d'autres techniques (RIXS ou spectroscopie Auger).

### • Formes de l'échantillon

Petits échantillons solides (surfaces) sous vide (minimum  $5 \cdot 10^{-8}$  mbars). Cette technique peut aussi être utilisée pour l'étude d'espèces en phase gazeuse, voire d'agrégats ou de nanoparticules.

### • Type de données acquises

En général, on obtient des spectres de photoémission mettant en évidence les niveaux de cœur (XPS) et les bandes de valence : les différents pics étant caractéristiques des différents éléments présents sur la surface.

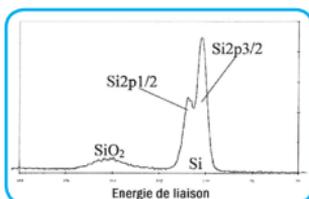


Spectre de survol de l'oxyde de silicium ( $SiO_2$ ).

## Spectroscopie de Photoémission (XPS)

### • Informations obtenues

Les spectres des énergies de liaison des électrons de cœur est spécifique d'un atome, ce qui permet son identification. Par ailleurs, l'aire du pic d'un élément donné (intensité) est liée à la quantité de cet élément. En fonction de la proportion des éléments, on peut donc remonter à la structure stœchiométrique de la surface. Les informations sur les énergies de liaison renseignent également sur les propriétés électroniques de la matière, notamment au niveau de Fermi. Sur un spectre plus fin, autour d'un élément donné (ex, ci-dessus, le silicium), en fonction du nombre de composants dans ce spectre, on peut également connaître le nombre d'éléments non équivalents électroniquement ( $Si^{2+}$ ,  $Si^{3+}$ ,  $Si^{4+}$ ... dans l'oxyde de Silicium  $SiO_2$ ).



### • Durée, de l'expérience aux résultats

Pour une étude de surface typique, il faut compter une semaine environ, dont 1 jour au moins de préparation de l'échantillon (préparation du substrat, dégazage, reconstruction de la surface), puis 1 à 2 jours pour caractériser l'échantillon, selon le type de mesures à faire. A cela s'ajoute le temps pour renouveler l'expérience dans les mêmes conditions (répétabilité) ou en faisant plusieurs acquisitions en fonction du temps (études cinétiques) ou encore avec différents dosages.

### • Avantages du rayonnement synchrotron

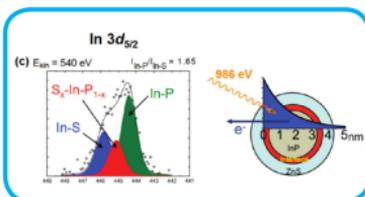
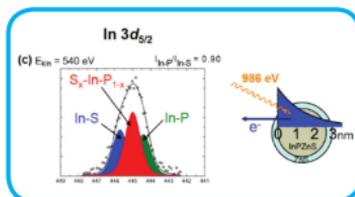
- Gamme spectrale plus grande (accordabilité en énergie).
- Meilleur flux permettant de travailler avec de petits faisceaux de quelques dizaines de nanomètres pour des images résolues spatialement ou des acquisitions rapides (images résolues en temps) ou résolues en spin.
- Résolution en énergie.

### • Lignes SOLEIL proposant cette technique

ANTARES, CASSIOPEE, PLEIADES, TEMPO.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

Les nanocristaux semi-conducteurs sont très étudiés du fait de leurs propriétés optiques et électroniques uniques présentant des intérêts en recherche fondamentale et appliquée. Depuis les années 90, on s'intéresse notamment aux « phosphides indium », solution alternative aux semi-conducteurs à base de cadmium, du fait du développement de nouvelles voies de synthèse chimique permettant de produire des échantillons de grande qualité sur des temps de réactions courts. Dans cet exemple, les structures internes de nanocristaux de InP/ZnS (cœur/enrobage), synthétisés de deux façons différentes, ont été étudiées par photoémission à haute résolution en énergie ( $\Delta E = 200$  meV) sur la ligne TEMPO. Les informations obtenues permettent une vue précise des mécanismes de réactions sous-jacents et une meilleure compréhension de l'origine des propriétés photochimiques des nanocristaux semi-conducteurs.



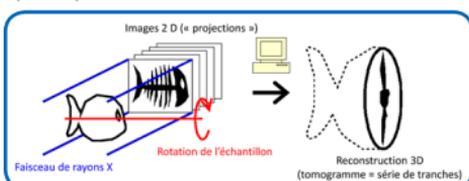
Spectres d'In 3d<sub>5/2</sub> à 986 eV sur des nanocristaux synthétisés en une étape à gauche ou deux étapes à droite.

# Microtomographie

## • Principe de la technique

Fonctionnant sur le même principe qu'un scanner médical, mais avec une meilleure résolution, la **microtomographie** est une technique de radiographie X (faisceau monochromatique ou blanc) qui permet, à partir d'une série de mesures effectuées depuis l'extérieur d'un objet, de reconstituer l'intérieur de celui-ci en 3D.

Ainsi cette technique non destructive donne accès à la microstructure ou morphologie de l'objet à très haute résolution (jusqu'au micromètre et, en combinaison avec la microscopie X, jusqu'à 100 nm). Elle permet notamment de localiser et de caractériser des défauts ou autres détails internes à un échantillon, d'établir la répartition en densité de matière, de suivre l'évolution dynamique d'un matériau, de vérifier la conformité géométrique des formes et d'effectuer des mesures dimensionnelles.



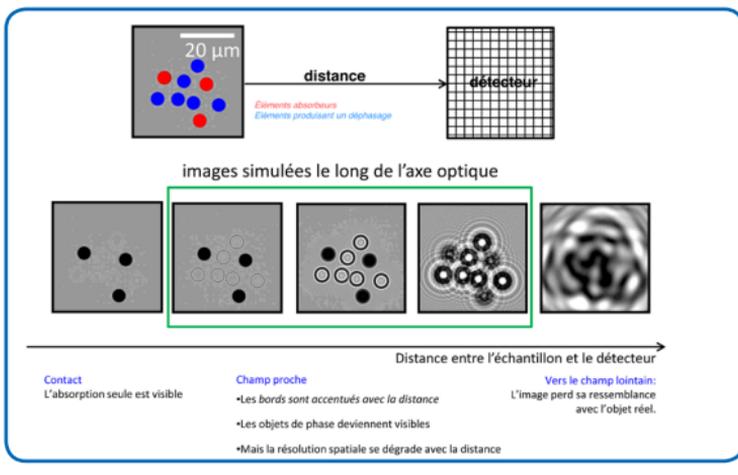
*Schéma de principe de la tomographie : L'échantillon est placé dans un faisceau X suffisamment large pour couvrir toute la zone d'intérêt dans l'échantillon (microtomographie « plein champ »). Un détecteur est situé en aval de l'échantillon.*

## • Formes de l'échantillon

Échantillons solides ou semi-solides, par exemple des tissus biologiques (biopsies), des alliages ou encore des matériaux composites.

## • Type de données acquises

On enregistre quelques centaines à plusieurs milliers d'images entre lesquelles l'échantillon est tourné. Chacune de ces images correspond à une carte d'intensité de rayons X transmise par l'échantillon, sous un angle d'incidence donné (projection dans un plan). Ensuite des tranches virtuelles de l'objet sont calculées par ordinateur. On obtient ainsi des images volumiques de plusieurs milliards de voxels (pixels volumétriques) ou giga-octets par échantillon, représentant l'intérieur de l'objet en 3D. Le faisceau très intense, parallèle et cohérent produit par le synchrotron permet non seulement d'augmenter la résolution spatiale des images, mais aussi d'améliorer le contraste – et donc la sensibilité – grâce à la technique de contraste de phase\*.



## Microtomographie

### \*Contraste de phase.

Pour les rayons X durs, la réfraction, pourtant faible, devient néanmoins plus forte que l'absorption (effet particulièrement prononcé pour les éléments légers comme dans les matériaux organiques). Des interférences dues à la réfraction, qu'on appelle « contraste de phase », permettent de révéler les matériaux légers (difficiles à observer par l'absorption X) et de différencier des matières de densité et composition semblables, sans ajout d'agent de contraste. Pour pouvoir exploiter le contraste de phase, il faut des rayons X cohérents. Ceci nécessite une source petite et lointaine donnant pourtant une forte intensité (brillance de la source). L'exigence de cohérence est l'une des principales raisons pour construire des lignes de lumière longues. De plus, il existe une gamme de distances optimale entre l'objet et le détecteur qui donne un contraste de phase suffisamment fort sans pour autant dégrader sensiblement la résolution spatiale des images.

### • Informations obtenues

Cette technique permet de détecter la présence et/ou la forme de détails morphologiques, et plus généralement la distribution de densité, à l'intérieur de l'objet étudié. Ces données sont utiles pour obtenir des paramètres structuraux tels que la porosité ou la tortuosité. Il est également possible de modéliser les propriétés de transport d'un fluide dans une structure (par exemple, dans un réseau vasculaire) ou les propriétés mécaniques ou thermiques. L'utilisation de rayons X « durs » (dépassant les 5 keV) permet d'étudier des échantillons épais, à pression ambiante, et dans des environnements échantillons variés (fours, tractions, cellules d'humidité).

### • Durée de l'expérience aux résultats

Le temps d'un scan microtomographique varie en fonction de la technique utilisée, des paramètres et conditions de l'expérience. En ce qui concerne les techniques de plein champ, un équipement optimisé pour la résolution temporelle peut permettre de descendre sous la seconde et de réaliser des études dynamiques, tandis que le temps d'un scan typique d'échantillon « statique » varie entre quelques minutes et plusieurs heures. La préparation peut être relativement rapide comme elle peut être compliquée (échantillon difficile à couper, environnements liquides ou gazeux...).

### • Lignes SOLEIL proposant cette technique

NTOMO, PSICHE, PUMA.

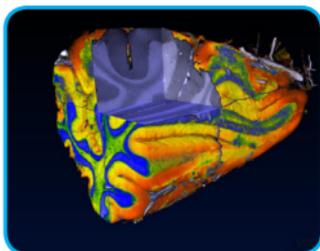
### • Avantages du rayonnement synchrotron

- Résolution spatiale due à la cohérence et à l'intensité du faisceau.
- Disponibilité du contraste de phase due à la cohérence du faisceau.
- Grande sensibilité permettant de visualiser des détails difficiles à voir avec des sources de laboratoire.
- Rapidité d'acquisition.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique

Le cerveau humain possède des microstructures compliquées et fascinantes qui requièrent des techniques d'imagerie adéquates. Les techniques usuelles d'imagerie par résonance magnétique (IRM) et tomographie X sont toutes deux confrontées à leurs limitations respectives. Bien que l'IRM apporte un excellent contraste entre les différents composants des tissus cérébraux, la résolution spatiale de cette technique limite les investigations au niveau cellulaire. Par ailleurs, la microtomographie X classique (par absorption) ne permet pas d'obtenir un contraste suffisant pour les tissus mous.

La microtomographie X en contraste de phase permet de combiner un contraste accru (semblable à l'IRM) avec une résolution allant jusqu'aux dimensions cellulaires. Le résultat présenté ci-dessus résulte de l'étude d'un cerveau humain *in vitro* par contraste de phase obtenu par interférométrie à réseaux, sur la ligne ID19 de l'ESRF, à 23 keV.



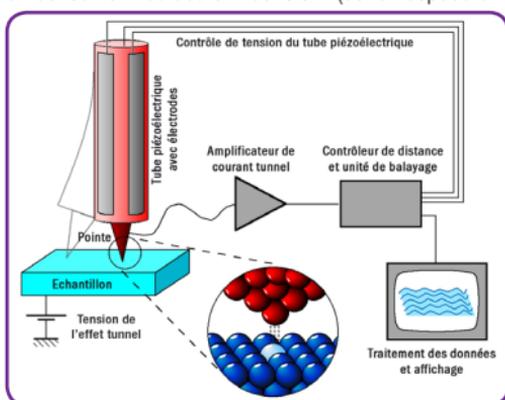
Résultats publiés dans : G. Schulz, T. Weitkamp, I. Zanette et al., *J.R. Soc. Interface* 7 (2010) 1665.

# Le STM

## (Scanning Tunneling Microscope)

### • Principe de la technique

Une pointe très affûtée est balayée à proximité d'une surface conductrice. Si cette pointe est pré-polarisée (1 Volt par exemple), un courant\* peut être mesuré entre la pointe et la surface étudiée avant que la pointe entre en contact avec cette dernière. Ce phénomène quantique appelé « effet tunnel » est lié à une chance, non nulle, qu'un électron traverse une barrière (le vide dans ce cas) entre deux matériaux. Ce courant dépend de la distance entre la pointe et la surface. Une mesure STM consiste à balayer la pointe au-dessus de la surface à étudier en conservant ce courant constant (donc l'espace entre la pointe et la surface).



Le mouvement de la pointe suit alors précisément la topographie électronique de la surface balayée et les chercheurs peuvent imager la surface avec une grande précision (quelques angströms ou dixièmes de nanomètres, soit la taille des atomes !).

\*Ce courant est très faible (quelques nano-ampères, ou milliardièmes d'ampères) et décroît exponentiellement avec la distance entre les deux conducteurs.

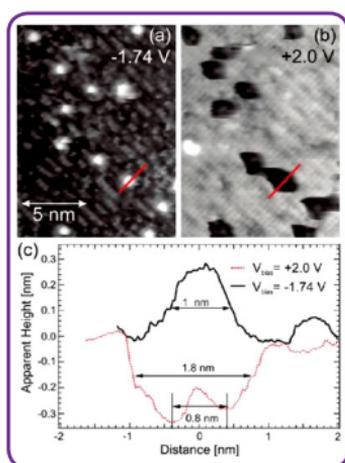
### • Formes de l'échantillon

Surfaces, couches minces.

### • Type de données acquises

Le mouvement de la pointe transcrit la topographie électronique de la surface qui est alors traduite sous forme d'une image contrastée.

*Images STM d'une surface de silicium Si(001) saturée en eau obtenue, au Laboratoire de Surfaces (Stefan KUBSKY), permettant de compléter les observations obtenues par photoémission, à l'échelle atomique.*



## Le STM (Scanning Tunneling Microscope)

### • Type d'informations obtenues

Les techniques de diffraction et diffusion des rayons X permettent d'étudier la structure atomique et la morphologie des surfaces ou des objets nanométriques en moyennant l'information sur tout l'échantillon. Le STM, grâce à sa résolution très poussée, permet d'obtenir une information locale, dans l'espace réel.

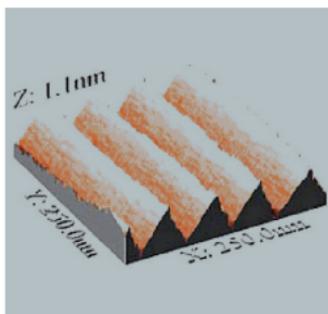
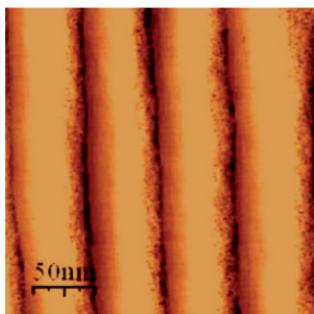
### • Durée, de l'expérience aux résultats

L'acquisition sur le STM est relativement rapide (quelques minutes). En revanche la préparation de la surface est assez longue. Elle comprend la mise de l'échantillon sous ultraviolet, le nettoyage par bombardement d'ions Argon, la recuite, la pré-analyse par spectroscopie Auger, la pré-analyse sous LEED (Low Electron Energy Diffraction), équipement intégré dans la chambre de préparation du STM, afin de s'assurer du bon état de la surface, la réalisation du dépôt à étudier, la recuite, la nouvelle analyse (spectroscopie Auger) et LEED et son transfert sur le STM, l'ensemble prenant plusieurs heures.

### • Laboratoire SOLEIL proposant cette technique

Disponible au Laboratoire de Surfaces, le STM est un outil complémentaire pour les lignes de lumière qui s'intéressent aux études des surfaces de matériaux.

### • Exemple d'étude réalisée avec cette technique



Images STM (250x250) nm<sup>2</sup> (soit environ 1000x1000 atomes = 1 000 000), 2D et 3D, d'une surface de nickel [Ni(322)] après dépôt de 0,8 monocouche\* d'argent (Ag) et après recuit à 370°C. On remarque la morphologie en « toit d'usine », avec l'Ag qui couvre les bandes plus claires, les bandes foncées étant constituées de Ni – **Remarque** : dans l'image 3D, les angles sont exagérés, ceux-ci sont en fait compris entre 1 et 3°.

*\*NB : signifie que sur 10 sites possibles, 8 seulement sont occupés.*

*Images obtenues au Laboratoire de Surfaces, Yves GARREAU, Alessandro COATI.*