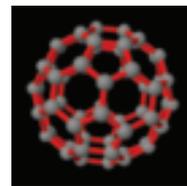


Microscopie moyen infrarouge de nano-objets individuels



L'absorption d'un nano-objet individuel, par exemple une boîte quantique de semi-conducteurs ou un virus, peut être mesurée sans détection de photons. On peut en effet détecter à la place les déformations locales générées par l'absorption d'impulsions lumineuses incidentes. Cette classe d'imagerie d'absorption se révèle particulièrement puissante pour mesurer l'absorption ultrafaible d'un nano-objet unique en particulier dans la gamme spectrale des grandes longueurs d'onde $\lambda \sim 10 \mu\text{m}$ correspondant à l'infrarouge moyen. « À l'écoute » de ces nano-objets, en détectant les déformations locales avec un microscope à force atomique, on peut allier utilement spectroscopie localisée et microscopie à des échelles nanométriques largement inférieures à la longueur d'onde.

Introduction

L'observation d'objets de très petites dimensions constitue un des défis constants des nanosciences. Ces dernières ont ouvert la voie à de nouvelles techniques de visualisation de nano-objets. Les cas du microscope à effet tunnel et du microscope à force atomique sont exemplaires à ce titre. Ces instruments permettent de décrire les morphologies atomiques avec des résolutions spatiales sous l'échelle du nanomètre. Imager par la lumière des nanostructures, en mesurant par exemple les photons absorbés, constitue aussi une voie d'exploration très fructueuse. L'absorption de lumière est en effet la signature de nombreux processus physiques, chimiques ou biologiques au sein de ces objets que les nanosciences tentent sans relâche de percer puis d'exploiter avantageusement. Une imagerie d'absorption dans la gamme du moyen infrarouge, correspondant à des longueurs d'onde λ de l'ordre de $10 \mu\text{m}$, est très utile en nanosciences. Pour des nanostructures issues de milieux solides, une imagerie d'absorption dans cette gamme de longueur d'onde permet d'analyser optiquement les sauts d'énergie d'électrons qui sont de l'ordre de quelques dizaines de meV c'est-à-dire de l'ordre de la valeur de $k_B T$ à

température ambiante (25 meV). En chimie et en biologie la gamme spectrale du moyen infrarouge correspond également aux signatures vibrationnelles caractéristiques et bien identifiées de nombreux composés chimiques. Une imagerie d'absorption exploitant ces signatures est utile pour la cartographie chimique d'objets du vivant micrométriques ou submicrométriques de type bactéries, cellules, virus.

La microscopie infrarouge est naturellement une technique couramment employée mais elle présente des résolutions spatiales limitées par la diffraction de la lumière (environ $\lambda/2$). De nombreuses techniques de champ proche optique ont été proposées pour dépasser cette limite de diffraction et sonder optiquement la matière à des échelles plus petites que la longueur d'onde. La gamme de l'infrarouge moyen reste cependant moins adaptée à ce type d'expériences que la gamme du visible où des détecteurs performants et des sources monochromatiques très stables sont depuis longtemps disponibles couramment. Dans ces approches, on sonde localement le champ électromagnétique, qui est sensible à la fois aux variations de la partie réelle (inhomogénéités) et de la partie imaginaire (absorption) de l'indice optique. L'extraction de l'absorption est possible grâce à une mesure interférométrique du champ en

Article proposé par :

Sébastien Sauvage, sebastien.sauvage@ief.u-psud.fr

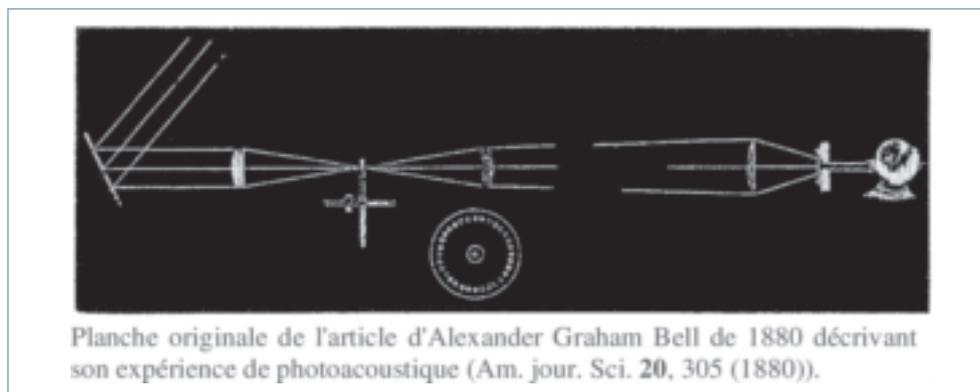
Philippe Boucaud, philippe.boucaud@ief.u-psud.fr

Institut d'Électronique Fondamentale (IEF), UMR 8622, CNRS/Université Paris-Sud 11, Orsay

Alexandre Dazzi, alexandre.dazzi@clio.u-psud.fr

Jean-Michel Ortéga, jean-michel@clio.u-psud.fr

CLIO-Laboratoire de Chimie Physique (LCP), UMR 8000, CNRS/Université Paris Sud 11, Orsay



amplitude et en phase mais reste indirecte et dépendante des modèles utilisés. La petitesse de l'absorption d'une nanostructure telle qu'une boîte quantique est également un handicap dans l'infrarouge moyen et lointain. L'absorption peut correspondre à une variation de transmission aussi petite que 10^{-9} dans une expérience purement optique réalisée en limite de diffraction vers $10\ \mu\text{m}$ de longueur d'onde. Lorsque l'absorption est faible, il s'agit de détecter une petite variation dans un grand nombre de photons transmis, ce qui est difficile lorsque cette variation est plus petite que 10^{-5} . Le flux de photons détecté après l'échantillon est aussi sensible à d'autres contributions parasites que l'absorption telles que la diffusion, la réflexion, la diffraction. Réaliser une microscopie d'absorption d'une boîte quantique unique dans l'infrarouge moyen requiert donc une approche radicalement différente s'affranchissant de la détection de photons.

Un moyen pour contourner ces difficultés consiste à chercher une autre signature de l'absorption, alternative aux photons transmis dans une expérience purement optique. Le principe repose sur la déformation acoustique et thermique engendrée localement par l'absorption d'une impulsion lumineuse incidente. Ce principe est très ancien car il fait écho aux premières expériences de photoacoustique conduites par Alexander Graham Bell en 1880. À l'époque, Bell et son collègue Sumner Tainter à Washington D.C. cherchaient comment transmettre la voix à distance avec de la lumière plutôt qu'avec des fils électriques encombrants, comme Bell l'avait montré expérimentalement avec un « téléphone électrique » de son cru quatre années plus tôt. Ils ont constaté qu'en envoyant de la lumière solaire modulée par une roue perforée en rotation sur diverses substances, notamment sur un disque fin de sélénium cristallin, et en écoutant avec un cornet acoustique, on pouvait entendre très distinctement un son provenant de l'illumination. Ils comprirent alors que la « perturbation moléculaire produite par la lumière » sur la substance se transmettait à l'air par sa surface jusqu'à l'oreille. En d'autres termes, plus actuels, l'absorption de la lumière par le matériau le chauffe localement ; l'élevation locale de température produit une dilatation et une variation de pression de l'air environnant qui se propage jusqu'à l'oreille. Bell fut très enthousiasmé par ces résultats et par leur importance stratégique et commerciale, puisqu'ils débouchaient sur ce qu'il

appela le photophone et préfiguraient la téléphonie sans fil. Cette invention, qu'il considéra supérieure à celle du téléphone, n'eut pas le succès escompté car elle fut rapidement détrônée par la télégraphie sans fil à ondes hertziennes de Guglielmo Marconi. La mise en évidence de l'effet photothermique resta en sommeil pendant près de 60 ans avant de donner naissance à une spectroscopie d'absorption puissante, qui prit son plein essor avec l'invention du laser en 1960, notamment pour l'étude des traces de gaz.

Les expériences de Bell ont posé le premier jalon des nombreuses mesures de type photoacoustique et photothermique qui ont suivi depuis. Notons simplement que par rapport aux expériences purement optiques, les mesures photoacoustiques et photothermiques ne sont sensibles qu'à l'absorption puisque, sans absorption, il n'y a pas de signal. Nous discutons dans cet article d'une version moderne, adaptée aux nanosciences, des expériences classiques de photothermique et photoacoustique. Pour illustrer la puissance de cette approche, nous présentons les images obtenues sur des boîtes quantiques de semi-conducteurs de taille nanométrique et des virus biologiques.

Microscopie photothermique et photoacoustique moyen infrarouge

Une microscopie d'absorption sans détection de photons, qui s'appuie sur la mesure de la déformation locale photothermique et photoacoustique générée par l'absorption, est présentée sur la *figure 1*. Cette figure décrit la configuration expérimentale d'une telle mesure appliquée à des boîtes quantiques de semi-conducteurs. L'expérience couple un microscope à force atomique (AFM) et une source laser impulsienne, selon un dispositif de mesure conçu au centre infrarouge CLIO basé sur un laser à électrons libres. L'impulsion picoseconde infrarouge du laser, spectralement résonante avec l'absorption à étudier, est envoyée sur un échantillon contenant un plan de boîtes quantiques enterrées (ou une bactérie contenant un virus comme décrit plus loin). D'un point de vue classique, l'absorption d'une partie de l'énergie de l'impulsion crée une déformation locale qui se propage jusqu'à la surface. Dans le cas des boîtes quantiques, la nanostructure émet spontanément des modes de vibrations du réseau cristallin ou phonons en quelques dizai-

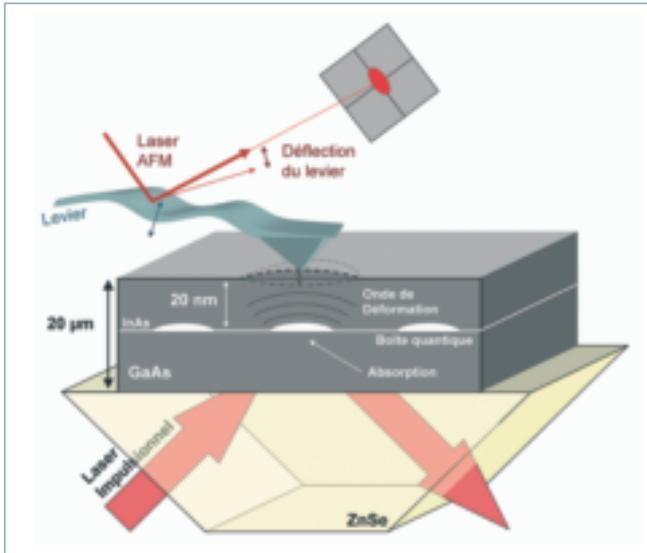


Figure 1 – Principe de la mesure photothermique et photoacoustique de l'absorption ultrafaible d'une boîte quantique enterrée. La pointe du microscope à force atomique, en contact avec la surface, détecte la déformation locale générée par l'absorption d'un photon de l'impulsion lumineuse incidente.

nes de picosecondes, qui se propagent vers la surface et l'atteignent en quelques picosecondes. En se décomposant rapidement, ces phonons conduisent également à une élévation locale de la température, une diffusion de la chaleur et une dilatation du matériau au voisinage de la boîte quantique. On a pris soin préalablement de placer la pointe d'un microscope à force atomique en contact avec la surface ; cette pointe se trouve à l'extrémité d'un levier et l'ensemble constitue un objet macroscopique massif. L'onde de déformation qui atteint la surface constitue alors une excitation percussive qui se répète à la fréquence de répétition du laser.

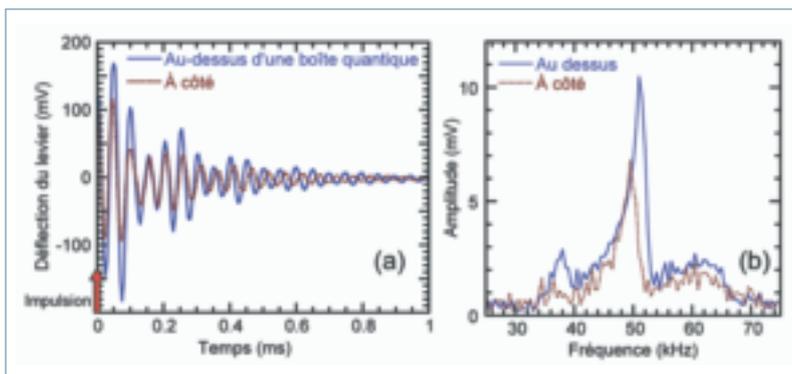


Figure 2 – (a) Signal de déflexion enregistré sur le détecteur à quatre quadrants du microscope à force atomique après passage des impulsions lumineuses picosecondes à l'instant initial. La courbe pleine correspond au signal enregistré lorsque la pointe est au-dessus d'une boîte quantique, le trait en pointillé lorsque la pointe est loin d'une boîte quantique. La longueur d'onde du laser est de 9,6 μm . (b) Spectre du signal temporel de la figure (a) obtenu par transformée de Fourier. On distingue nettement le mode principal de vibration mécanique du levier de l'AFM vers 50 kHz dont l'amplitude et la fréquence change lorsque la pointe passe au-dessus d'une boîte quantique enterrée qui a absorbé une fraction de l'énergie incidente.

Une fraction de l'énergie de déformation est transférée par contact à la pointe et transmise au levier qui la maintient à la surface. L'énergie transmise au levier finit par générer une oscillation mécanique bien après que l'impulsion lumineuse est passée et que la déformation locale a disparu, comme décrit sur la *figure 2(a)*. Cette oscillation est lente puisque sa fréquence, qui dépend du levier utilisé, est de 50 kHz comme observé sur la *figure 2(b)*. L'amplitude de cette oscillation, détectable avec le laser d'alignement de l'AFM, est directement proportionnelle à l'absorption intégrée dans le temps de la boîte quantique enterrée.

Dans cette expérience, la pointe AFM joue le rôle d'un microphone localisé ultrasensible à l'écoute des vibrations engendrées par l'absorption de lumière du nano-objet enterré et le laser correspond à la lumière solaire modulée dans l'expérience de Bell de 1880. Par rapport aux anciennes expériences de type photoacoustiques et photothermiques, on dispose ici d'une résolution spatiale nanométrique donnée par le microscope à force atomique. La résolution ultime de la mesure est liée au rayon de contact de la pointe AFM avec la surface plane de l'échantillon, ici 2 nm, 4 ordres de grandeur en dessous de la longueur d'onde.

Image d'absorption ultrafaible de boîtes quantiques de semi-conducteurs

Les boîtes quantiques de semi-conducteurs sont des nanostructures solides modèles présentant une taille caractéristique de 20 nm. Ces boîtes quantiques constituent des puits de potentiel pour les porteurs de charges dans les semi-conducteurs que sont les électrons et les trous. Dans d'aussi petits volumes, les effets quantiques de confinement jouent un rôle prépondérant et l'absorption moyen infrarouge est liée à la transition du porteur de charge

entre niveaux discrets confinés comme décrit dans l'*encadré n°1*. À température ambiante, une telle absorption est très faible. Si on imaginait réaliser une expérience de transmission optimale, on viendrait placer une seule boîte quantique au centre d'un faisceau focalisé en limite de diffraction. La variation relative de transmission attendue, c'est-à-dire la fraction relative de photons absorbés par la boîte quantique, ou absorptance, est simplement le rapport $A = \sigma/S$ entre l'aire de la petite surface opaque effective (de section efficace σ) que prend la boîte quantique pour les photons et l'aire d'illumination S . La section efficace traduit la probabilité d'interaction entre la lumière et l'électron confiné dans la boîte quantique et s'exprime sous la forme $\sigma = \hbar\omega_0 e^2 d^2 / (\hbar\Gamma \hbar n c \epsilon_0)$. L'absorptance dépend essentiellement du carré de la longueur du dipôle et est inversement proportionnelle à la surface S et à l'élargissement homogène $\hbar\Gamma$ de la transition.



Encadré 1

D'où provient l'absorption moyen infrarouge d'une boîte quantique ?

Lorsqu'un électron libre du cristal de semi-conducteurs passe au voisinage d'une boîte quantique, il tombe dans le puits de potentiel que forme la boîte quantique. Une image réelle de la boîte quantique obtenue par transmission électronique est donnée en haut de la figure E1. La géométrie de la boîte quantique a une forme de lentille aplatie avec un cœur en InGaAs riche en indium (puits de potentiel) entourée de barrières de GaAs (haut potentiel) sans indium. La profondeur du puits de potentiel vaut environ 300 meV pour une composition locale en indium de 50%. L'électron capturé dans ce petit volume est fortement confiné sur des distances de l'ordre de 4 nm verticalement et 20 nm latéralement. L'équation qui régit l'état électronique de l'électron confiné dans la boîte quantique est l'équation de Schrödinger de la mécanique quantique. *A priori* l'équation tient compte des millions d'atomes formant le cristal et la boîte quantique, mais il existe des formalismes sophistiqués (de type **k.p** multibandes alliés à la théorie de la fonction enveloppe) qui permettent de s'affranchir des détails microscopiques inutiles, et de ne conserver que les paramètres physiquement pertinents, comme dans les cas les plus simples le potentiel moyen V et la masse effective m de l'électron. L'ensemble des fonctions d'onde solutions et leurs énergies est appelé structure électronique. Un exemple calculé par de telles méthodes est représenté sur la figure E1. Ce calcul tient compte des couplages entre les différentes bandes du semi-conducteur, du champ de contrainte des boîtes quantiques et de leur géométrie réaliste anisotrope, caractérisée par microscopie électronique en transmission.

Sans compter le spin, la boîte quantique possède six niveaux bien confinés ayant pour origine la bande de conduction. On a représenté l'énergie des niveaux discrets confinés ainsi que les fonctions d'onde correspondantes par des contours qui renferment 2/3 de la probabilité de présence de l'électron.

Pour saisir intuitivement le résultat du calcul, on peut réduire la description du problème aux deux paramètres V et m en se restreignant à un modèle à une seule bande. L'équation de Schrödinger indépendante du temps prend alors la forme simplifiée bien connue des cours de mécanique quantique :

$$(-\hbar^2/2m\Delta + V(x,y,z))\psi(x,y,z) = E\psi(x,y,z).$$

Pour une boîte quantique parallélépipédique de taille $L_x L_y L_z$ avec des hauteurs de barrière infinie, les solutions sont indicées par trois entiers strictement positifs n_x, n_y et n_z avec la fonction d'onde

$$\psi_{n_x, n_y, n_z}(x, y, z) = \sqrt{\frac{8}{L_x L_y L_z}} \sin(n_x \pi x / L_x) \sin(n_y \pi y / L_y) \sin(n_z \pi z / L_z)$$

et avec les énergies propres

$$E_{n_x, n_y, n_z} = \hbar^2 \pi^2 / 2m (n_x^2 / L_x^2 + n_y^2 / L_y^2 + n_z^2 / L_z^2).$$

On retrouve essentiellement sur les fonctions d'onde réalistes de la figure E1 la forme intuitive donnée par la description simple ci-dessus avec $L_x = 20$ nm, $L_y = 18$ nm, $L_z = 4$ nm et $m = 0,07 m_0$, où m_0 est la masse de l'électron.

L'absorption d'un électron est gouvernée par le carré du dipôle $e\vec{r}$ de la transition à l'énergie du photon (si cette transition existe). Sur la figure E1 les flèches représentent les transitions permises pour une boîte quantique dopée avec un électron, ainsi que les énergies d'absorption correspondantes situées dans la gamme spectrale de l'infrarouge moyen. Plus la flèche est épaisse, plus l'absorption est importante. La transition modèle S-P exhibe une longueur de dipôle $\langle S|x|P \rangle = \langle S|y|P \rangle \approx 3$ nm soit un cinquième de la taille latérale de la boîte quantique comme déduit du modèle simple ci-dessus. L'absorption observée sur la figure 3 à 120 meV provient de la transition du niveau fondamental S vers le niveau D de la boîte quantique prédit à 119 meV, dont le dipôle est un ordre de grandeur plus court, ce qui donne une amplitude d'absorption beaucoup plus petite.

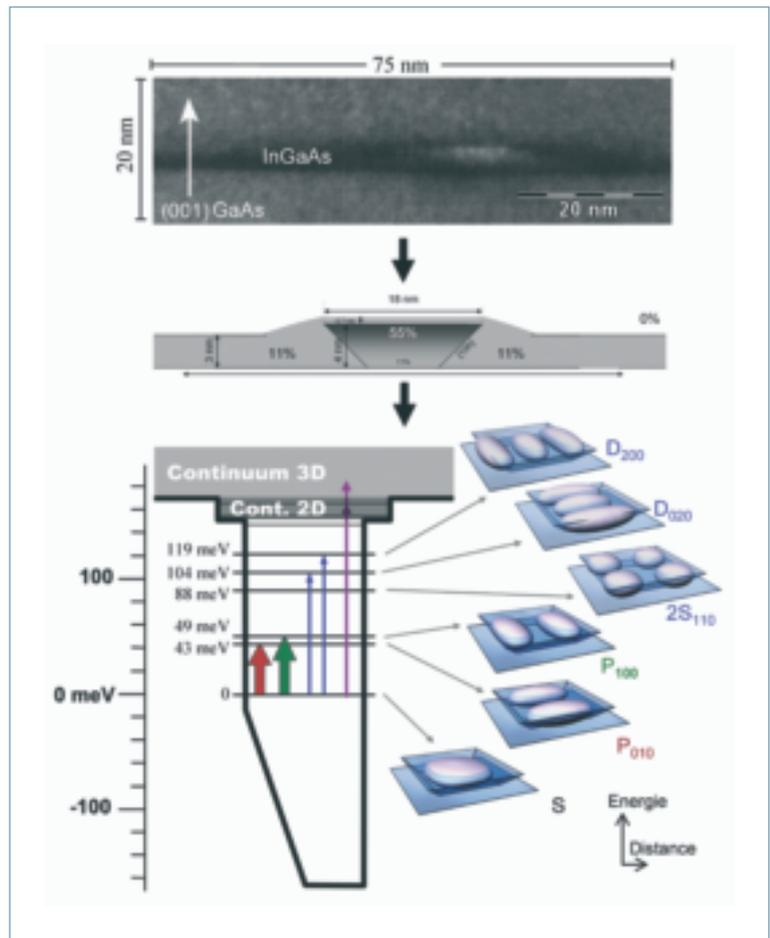


Figure E1 – L'image du haut est une image réelle en transmission électronique d'une boîte quantique d'InGaAs insérée au cœur d'une matrice de GaAs. Le contraste de l'image dépend de la composition locale du matériau. La composition en indium déduite de l'image précédente est représentée au milieu de la figure et sert de paramètre d'entrée pour la résolution tridimensionnelle de l'équation de Schrödinger dans un formalisme **k.p** à 8 bandes tenant compte du champ de contrainte. Le diagramme du dessous décrit la structure électronique d'une telle boîte quantique.



Dans le moyen infrarouge, l'énergie du photon $\hbar\omega_0$ est de l'ordre de 100 meV.

- e est la charge électrique élémentaire.
- $d = 0,3$ nm est la longueur réaliste du dipôle responsable de l'absorption observée.
- $\hbar\Gamma = 10$ meV est la largeur homogène de raie à température ambiante,
- \hbar la constante de Planck réduite,
- $n = 3,3$ l'indice optique du matériau,
- c la vitesse de la lumière, ϵ_0 la permittivité du vide.

On se place dans les conditions les plus favorables, en prenant pour S la plus petite surface que permet la limite de diffraction soit environ $(\lambda/2)^2$ avec $\lambda = 10$ μm . L'ordre de grandeur de la variation de transmission à laquelle on peut s'attendre est donc de 10^{-9} dans une expérience idéale en limite de diffraction, soit un photon absorbé sur un milliard. Une boîte quantique unique est donc quasiment transparente dans l'infrarouge moyen. Il semble extrêmement difficile de mesurer l'absorption avec une détection optique et de la résoudre spatialement de cette manière sous la limite de diffraction.

La *figure 3* à gauche présente une imagerie d'absorption ultrafaible d'un plan de boîtes quantiques enterrées réalisée avec le montage de la *figure 1* à une longueur d'onde de 9,6 μm . L'image de 800 \times 800 nm² est formée en deux heures par balayage de la surface avec la pointe de l'AFM de gauche à droite et de haut en bas et par l'accumulation du signal de la *figure 2* pour chaque pixel. La puissance du laser est d'environ 10 mW sur quelques millimètres carrés. Les taches blanches correspondent à l'absorption des boîtes quantiques présentes sous la surface. La résolution spatiale est de 60 nm (quelques pixels), limitée par la taille que prend

la déformation en surface. La résolution est donc largement sous-longueur d'onde ($\lambda/150$) et en fait proportionnelle à la profondeur d'enterrement de la nanostructure. On peut compter 10 à 15 boîtes quantiques sur l'image, chaque boîte quantique correspondant à un groupe d'une quinzaine de pixels. C'est beaucoup moins que le nombre de boîtes quantiques effectivement enterrées sous la surface, estimé à environ 250. On ne voit manifestement pas toutes les boîtes quantiques. Deux raisons expliquent cela. Premièrement, seule une fraction d'entre elles est résonante avec le laser incident et donc absorbe un photon, à cause de la fluctuation de taille et de composition dans une distribution de boîtes quantiques. Deuxièmement, seules les plus grosses, exhibant les niveaux les plus énergétiquement profonds, sont significativement peuplées avec un électron, les autres étant statistiquement presque vides à température ambiante. Au-delà des capacités d'imagerie, la pointe AFM permet également de réaliser une spectroscopie localisée. En laissant la pointe fixe au dessus d'une boîte quantique et en faisant varier la longueur d'onde du laser à électrons libres, l'absorption d'une boîte quantique unique est résolue spectralement comme montré sur la *figure 3* à droite. On observe une résonance à 120 meV avec une largeur homogène de 10 meV attribuée à une des transitions S-D du système. Une telle imagerie ouvre de nouvelles perspectives pour la visualisation de nanostructures, même avec de très faibles absorptions, dans la gamme du moyen infrarouge. De plus, aux très basses températures, la réduction des largeurs homogènes de raie conduira à des propriétés optiques plus marquées.

Microscopie de virus infectant une bactérie

Une imagerie chimique est aussi très utile en biologie. Par rapport aux nanostructures de la matière condensée, les

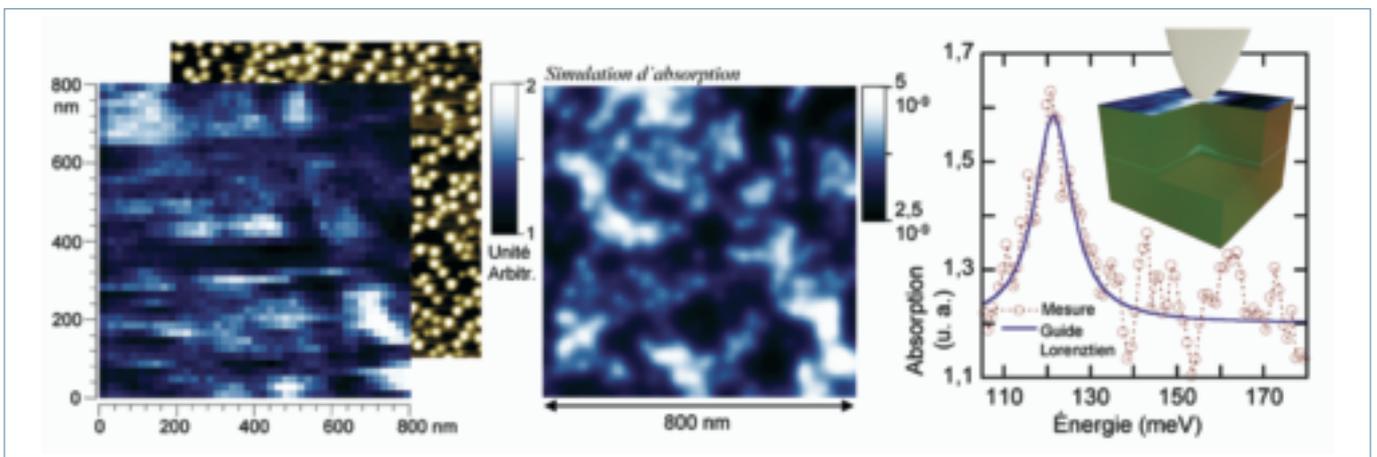


Figure 3 – (À gauche) Microscopie d'absorption de boîtes quantiques enterrées. Les zones blanches représentent l'absorption des boîtes quantiques sous la surface. Une boîte quantique correspond à un groupe d'une quinzaine de pixels. La résolution est de 60 nm. Le régime de mesure d'absorption est donc largement sous-longueur d'onde ($\lambda/150$). Seules les boîtes quantiques résonantes avec le laser sont détectées. Pour comparaison, l'image en arrière fond est une mesure de la morphologie typique de boîtes quantiques en surface non recouvertes par du GaAs. (Au milieu) Simulation d'une image d'absorption typique dans les conditions expérimentales de l'image de gauche. (À droite) Spectroscopie localisée réalisée en laissant la pointe fixe au dessus d'une boîte quantique et en faisant varier la longueur d'onde du laser.

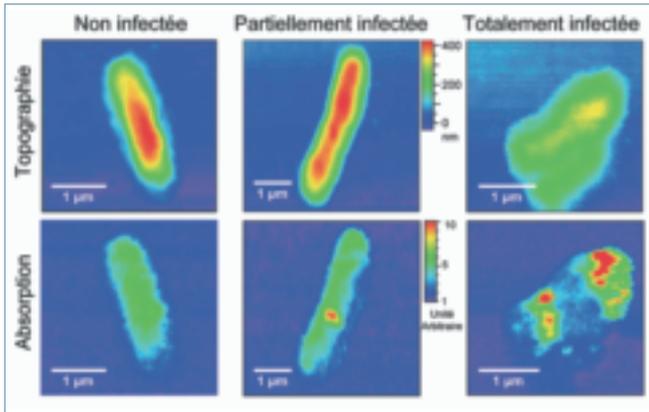


Figure 4 – Microscopie photothermique induite de l’absorption d’une bactérie *Escherichia coli* infectée par un virus à différents stades d’évolution de l’infection. Grâce à la cartographie chimique sélective, on voit nettement, au centre de la bactérie, l’ADN du virus « enterré ». La longueur d’onde du laser de 9,5 µm a été fixée sur la bande d’absorption du phosphate, signant la présence d’ADN. Cet état précède celui où l’infection envahit la totalité du volume de la bactérie.

objets de la biologie sont des structures beaucoup plus souples dont les modules élastiques sont 100 fois plus petits. Les volumes absorbants mis en jeu et donc les énergies absorbées sont aussi des ordres de grandeurs plus élevés et conduisent à des soulèvements de surface nanométriques essentiellement dus aux effets thermiques. Une cartographie chimique peut-être réalisée en fixant la longueur d’onde du laser sur une bande d’absorption de l’objet biologique étudié.

Cela est illustré sur la *figure 4* pour des bactéries *Escherichia coli* infectées par un virus à différents stades d’évolution. L’absorption mesurée est liée à l’excitation des modes de vibration moléculaire du phosphate ($\lambda = 9,52 \mu\text{m}$), qui signe la présence de l’ADN. Les images de topographie sont également représentées pour permettre de visualiser la forme spécifique en bâtonnet de la bactérie *E. coli*. Toutes les mesures ont été réalisées dans l’air et donc sur des bactéries séchées. Les bactéries ont été infectées par des virus T5 pendant 20 minutes puis tuées par un antibiotique, ce

Encadré 2

Comment détecter l’absorption liée aux vibrations moléculaires par effet photothermique ?

La mesure à l’échelle nanométrique couplant un AFM avec le laser à électrons libres dans l’infrarouge (méthode AFMIR), est basée sur la détection thermomécanique de l’absorption. Lorsque la source de lumière infrarouge éclaire l’objet absorbant à une longueur d’onde correspondant à une vibration moléculaire, une partie du rayonnement est absorbée. L’excitation des vibrations moléculaires va décroître rapidement jusqu’à devenir nulle si le rayonnement n’est pas entretenu. La vibration s’amortit en effet de par les nombreuses collisions entre les atomes concernés et les atomes voisins. Ces collisions engendrent une agitation globale de la matière qui se traduit par une augmentation de la température. L’expression qui relie l’absorption et l’élévation de la température est donnée par : $\Delta T = \frac{E_{abs}}{\rho V C_p}$ où ρ est la densité de la matière, V son volume, et C_p sa capacité calorifique. L’augmentation de température produit de manière instantanée une dilatation relative $\Delta x/x$ de la matière qui peut s’écrire sous la forme : $\frac{\Delta x}{x} = \alpha \Delta T = \frac{\alpha}{\rho V C_p} E_{abs}$ où α est le coefficient thermoélastique. Par exemple, pour un objet de 1 µm de rayon et une augmentation de température ΔT de 10 K, le déplacement vertical est de 1 nm (en prenant un coefficient thermoélastique de 10^{-4} K^{-1}). Ce déplacement vertical est tout à fait détectable par un microscope AFM dont la sensibilité verticale est subnanométrique.

De cette manière, à chaque tir impulsif du laser infrarouge, on peut associer la dilatation de l’objet mesurée par l’AFM directement à son absorption. Comme la résolution latérale de l’AFM est nanométrique, on comprend ici tout l’intérêt d’une telle détection qui devient indépendante de la longueur d’onde d’éclairage. Les limitations de résolution sont dans ce cas uniquement liées aux propriétés thermomécaniques des objets.

De plus, il est également possible de mesurer la spectroscopie d’absorption d’objets très petits comme une bactérie ou un virus en fixant le point de mesure sur l’objet et en faisant varier la longueur d’onde. La figure E2 représente le spectre AFMIR d’une bactérie *E. coli* et le spectre d’un grand nombre de bactéries mesuré par spectroscopie standard par transformée de Fourier. Pour obtenir ce dernier il est nécessaire de sonder des milliers de bactéries pour obtenir un signal exploitable, alors qu’avec la méthode AFMIR on obtient facilement le spectre d’une seule bactérie.

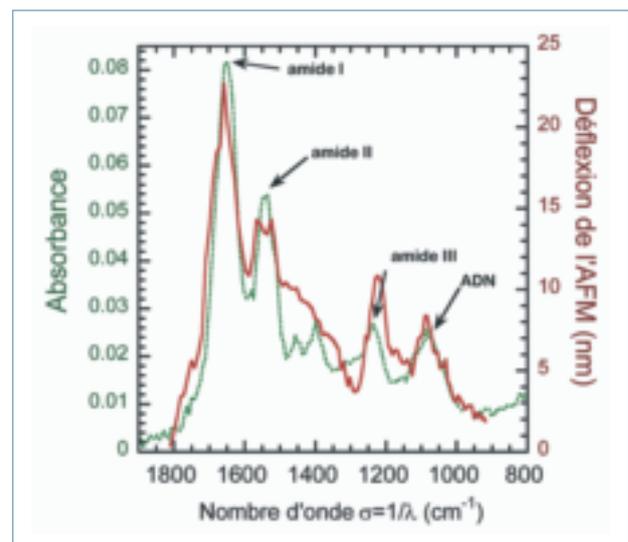


Figure E2 – Comparaison du spectre de milliers de bactéries obtenu par spectroscopie standard par transformée de Fourier (trait pointillé vert) avec le spectre AFMIR d’une seule bactérie *E. coli*. (trait plein rouge).



qui a permis de figer leurs évolutions. Le temps d'infection de 20 minutes a permis de trouver, sur un échantillon de plusieurs centaines de bactéries, différents stades d'avancement de l'infection. L'infection virale se déroule comme suit : après que le virus T5 a injecté son ADN dans la bactérie, le processus de fabrication de protéines virales commence. L'ADN de la bactérie est détruit ; l'ADN viral reste dans le cytoplasme et est dupliqué. Une fois que les protéines nécessaires à la fabrication de nouveaux virus sont produites, l'auto-assemblage démarre. Les têtes de virus sont assemblées d'un côté et les queues de l'autre. Lorsque toutes les têtes sont construites, l'emballage de l'ADN à l'intérieur de celles-ci peut se réaliser. La finalisation de l'infection se fait par l'assemblage des queues sur les têtes pleines et la lyse de la bactérie, libérant ainsi une centaine de virus.

Comme le montrent les images successives, on peut trouver des bactéries infectées à plusieurs stades. Le premier stade est celui où le remplissage de l'ADN des virus n'a pas commencé (*figure 4* à gauche). Le signal homogène de la bande d'absorption du phosphate à l'intérieur de la bactérie confirme cette hypothèse. Dans le stade intermédiaire (*figure 4* au milieu) il y a très peu de virus plein d'ADN. Au stade final la bactérie se désagrège en libérant une centaine de virus pleins (*figure 4* à droite). Ce qui est remarquable, c'est que cette cartographie de l'ADN permet de localiser un virus isolé au sein même de la bactérie. Le virus a une taille aussi petite que 90 nm, mais présente une absorption très grande compte tenu de la compacité de l'ADN dans la tête du virus (voir *l'encadré 2*). Nous avons également vérifié que le signal mesuré correspondait bien à la bande d'absorption du phosphate en réalisant un spectre infrarouge sur un seul virus. Toutes ces mesures montrent la potentialité de la microscopie infrarouge à l'échelle nanométrique pour la biologie.

Bien que cette mesure biologique soit réalisée dans l'air, elle peut apporter des renseignements nouveaux en permettant une « photographie » d'un processus biologique à un stade donné. Pour réaliser la cartographie chimique de bactéries dans des conditions plus proches du vivant, il faut opérer en milieu liquide. Des premiers essais, effectués récemment, ont été concluants.

Conclusion

Une microscopie d'absorption infrarouge peut être réalisée sans détection de photon en exploitant comme signature alternative de l'absorption la déformation locale engendrée par l'absorption d'impulsions lumineuses incidentes. La résolution spatiale est obtenue grâce à un microscope à force atomique en contact avec la surface. La résolution spectrale est limitée par la largeur spectrale du laser incident. Ce type de mesure offre à la fois une grande sensibilité – qui permet de détecter des absorptions aussi faibles que 10^{-9} – et une résolution spatiale largement sous-longueur d'onde ($\lambda/150$ à $\lambda = 10 \mu\text{m}$) – ce qui autorise l'accès à des nanostructures individuelles. Cette technique permet de sonder pour la première fois, sur une boîte quantique unique, sa structure électronique entre niveaux de la bande de conduction. C'est aussi la première fois, toutes longueurs d'onde confondues, que l'absorption d'une boîte quantique unique à température ambiante est résolue à une échelle plus petite que la longueur d'onde. Ces résultats ouvrent un nouveau champ d'études des boîtes quantiques et plus généralement sur l'imagerie infrarouge de nano-objets.

Ont également participé à ce travail J. Houel de l'Institut d'Électronique Fondamentale, CNRS-Univ. Paris-Sud 11. R. Prazeres, F. Glotin du Laboratoire de Chimie Physique CLIO, CNRS-Univ. Paris-Sud 11. à Orsay, Aristide Lemaître, Gilles Patriarche, Audrey Miard du Laboratoire de Photonique et de Nanostructures (LPN), CNRS, Marcoussis ainsi que M. De Frutos du Laboratoire de Physique du Solide, CNRS-Univ Paris-Sud à Orsay.

POUR EN SAVOIR PLUS

- J. Houel, S. Sauvage, P. Boucaud, A. Dazzi, R. Prazeres, F. Glotin, J.-M. Ortéga, A. Miard, A. Lemaître, « Ultraweak-absorption microscopy of a single semiconductor quantum dot in the midinfrared », *Physical Review Letters* **99**, 217404 (2007).
- A. Dazzi, R. Prazeres, F. Glotin, J. M. Ortéga, « Local infrared microspectroscopy with subwavelength spatial resolution with an atomic force microscope tip used as a photothermal sensor », *Optics Letters* **30**, 2388 (2005).