

# LA SPECTROSCOPIE RAMAN pour l'environnement marin

Morgan TARDIVEL<sup>1</sup>

Florent COLAS<sup>1</sup>

Emmanuel RINNERT<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IFREMER/REM/RDT/LDCM,  
ZI de la Pointe du Diable,  
CS10070, 29280 Plouzané

<sup>2</sup> IFREMER/REM/LG/LCG, ZI de  
la Pointe du Diable,  
CS10070, 29280 Plouzané  
[emmanuel.rinnert@ifremer.fr](mailto:emmanuel.rinnert@ifremer.fr)

Dans ce contexte, des méthodes d'analyses chimiques ont été développées et sont régulièrement effectuées en routine. Cependant, la plupart de ces analyses est menée en laboratoire après collecte, transport et stockage des échantillons. Cette méthodologie fournit des jeux de données très bien caractérisés d'un point de vue métrologique mais souffrant d'une faible résolution spatiale et temporelle. Ainsi, il est nécessaire de disposer de capteurs de terrain pour compléter ces données. De nombreux laboratoires développent de nouveaux instruments de mesure pour l'identification et la quantification de composés d'intérêt. Ils doivent répondre à des critères stricts tant du point de vue de la mesure que des contraintes opérationnelles : faibles masse et volume pour une bonne manœuvrabilité en condition difficile, résistance à la pression hydrostatique, à la corrosion et à la bio corrosion, faible consommation électrique...

Dans ce contexte, la spectroscopie Raman marine et sous marine connaît un intérêt croissant dans la communauté océanographique. En effet, elle permet l'identification des molécules contenues dans un échantillon solide, liquide ou gazeux. C'est une technique non destructrice, non invasive, ne nécessitant pas de prétraitement des échantillons. En outre, contrairement à la spectroscopie d'absorption

L'analyse des composés chimiques est au cœur de nombreuses applications en sciences marines et environnementales : surveillance dans le cadre de la Directive cadre sur l'eau (Directive 2000/60/CE) et la Directive cadre stratégie milieu marin (2008/56/CE), études d'impact des activités industrielles marines, surveillance de l'état sanitaire des eaux et produits de la mer, études écosystémiques ou biogéochimiques...

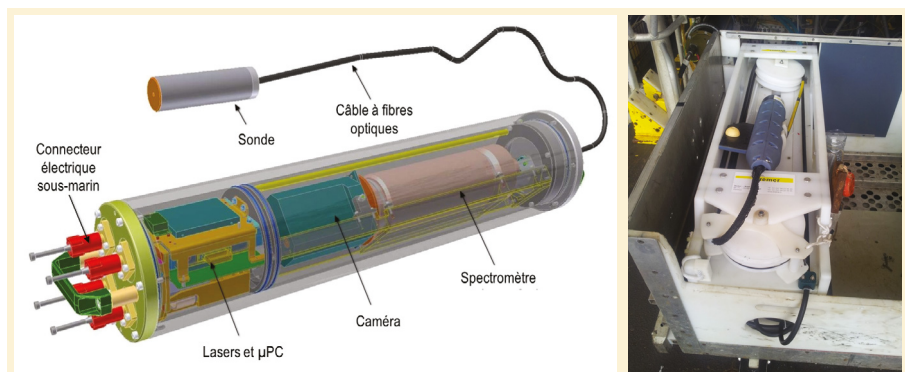
infrarouge, elle est applicable aux échantillons aqueux, en raison de la faible section efficace de diffusion Raman des molécules d'eau. Son inconvénient majeur, sa faible sensibilité, est maintenant sur le point d'être repoussé grâce à l'essor du SERS (*surface enhanced Raman scattering*). Finalement, comme nous allons le montrer, elle repose sur une instrumentation compatible avec un environnement difficile.

## Minéraux et gaz, une exploration guidée

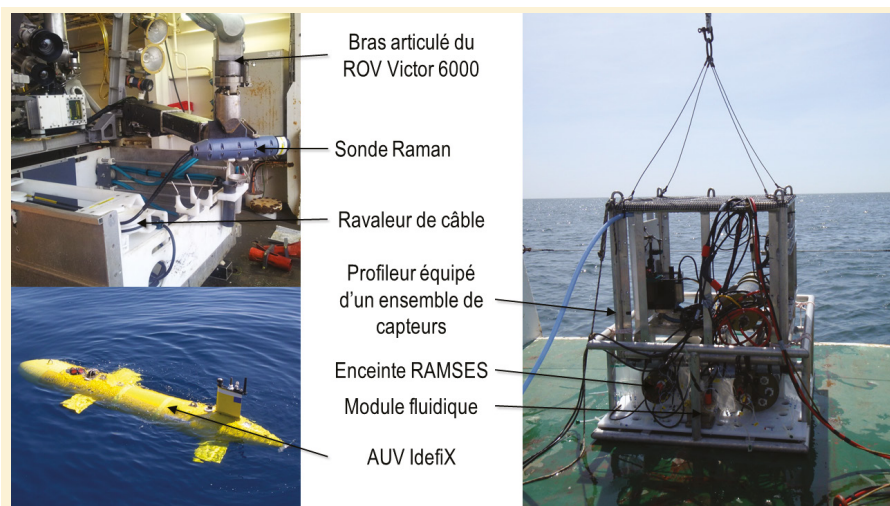
L'exploration des fonds marins est souvent synonyme d'expérimentations en conditions extrêmes. Les vecteurs qui permettent d'atteindre ces milieux où la lumière ne pénètre pas, où les températures varient de presque

0 °C à plus de 300 °C, où la pression hydrostatique atteint souvent plusieurs centaines de bars, contraignent les investigations. Notamment, la quantité d'échantillons remontés du fond vers le navire est souvent jugée trop faible compte tenu des besoins grandissants des communautés scientifiques dont les objectifs sont pluridisciplinaires. Ainsi, orienter ou encore rationaliser les prélèvements prend une grande importance dans les missions d'exploration.

Des instruments complexes aux capteurs mono paramètres, la palette est vaste concernant les grandeurs physiques. En revanche, l'analyse chimique renseignant sur la composition moléculaire des échantillons est plus orpheline. La spectroscopie Raman est une technique de choix



**Figure 1.** À gauche, vue CAO du spectromètre Raman *in situ* indiquant les composants essentiels et à droite, le spectromètre intégré au ROV (*remotely operated vehicle*) Victor 6000 avant une plongée.



**Figure 2.** Vecteurs du spectromètre Raman : de gauche à droite : ROV, AUV et profileur équipé d'un ensemble de capteurs.

car elle renseigne sur les vibrations des atomes constituant les molécules. L'analyse étant relativement rapide (quelques dizaines de secondes), le signal peut être transmis à bord du navire rapidement afin d'être interprété pour ou par les océanographes. Il est alors possible d'aiguiller la prise d'échantillons, qu'ils soient solides ou gazeux, en fonction des besoins. Le temps nécessaire à l'acquisition de la donnée au fond et à son traitement à bord est très largement rentabilisé en ciblant les échantillons à prélever et en orientant l'exploration sur les sites de plus grand intérêt en réduisant les risques de se focaliser sur une zone restreinte aux compositions semblables. L'identification minéralogique des solides ou encore la composition des gaz émis par les fonds sont des domaines d'application de la spectroscopie Raman *in situ*.

### Raman, spectroscopie en environnement sous-marin : Ramses

Le spectromètre Raman sous-marin est le fruit d'une collaboration entre Horiba Scientific et l'Ifremer. Il a été conçu pour permettre l'acquisition des spectres Raman à l'aide d'une sonde manipulable par le bras articulé des engins sous-marins océanographiques. Le système est constitué d'une enceinte et d'une sonde toutes

deux en titane reliées par un câble à fibres optiques (Figure 1). La première contient deux lasers, l'un émettant à 532 nm et l'autre à 691 nm, un spectromètre axial à prisme de Carpenter couplé à une caméra ainsi qu'un ensemble de cartes électroniques et un PC embarqué. La sonde est constituée d'optiques passives pour l'illumination des échantillons et la collection de la lumière diffusée. Le câble optique sous-marin assurant la liaison mesure 8 m de long pour permettre au bras articulé de positionner précisément la sonde au point d'analyse. Un ravaleur de câble rembobine le câble sous-marin au fur et à mesure des opérations pour limiter les risques d'accrochage. Ce système est qualifié pour un fonctionnement à 4800 m de profondeur sur une gamme de températures allant de 0 à 30 °C dans l'eau. Sa masse apparente est de 57 kg dans l'air et 11 kg dans l'eau (il pèse 570 newton dans l'air et 110 newton dans l'eau).

En fonction de l'état des échantillons à analyser, la sonde est équipée de divers modules. Pour les échantillons solides, un embout y est fixé de manière à protéger le hublot des chocs lors de l'analyse tout en assurant le maintien du focus le temps de l'analyse. Pour les gaz, un collecteur en forme d'entonnoir assure le prélèvement des bulles et leur guidage jusqu'à une chambre d'analyse. Pour les liquides, un module constitué de

pompes péristaltiques et de vannes est ajouté [1]. Le spectromètre peut être déployé à partir de différents vecteurs tels qu'un ROV (*remotely operated vehicle*), un AUV (*autonomous unmanned vehicle*) ou un profileur (Figure 2).

Ainsi, cet outil versatile peut s'adapter à de nombreuses problématiques de l'océanographie : études des minéraux, analyse de gaz libres émis par le fond ou détection et dosage de composés d'intérêt.

### Un exemple d'application en exploration : l'analyse de gaz libres

Les résultats présentés ici ont été obtenus lors de la campagne Marsite Cruise réalisée en novembre 2014 à bord du *N/O Pourquoi Pas ?* Cette campagne a eu lieu dans le cadre du projet européen Marsite dont l'objectif était d'étudier la sismicité en mer de Marmara. Cette région du globe est en effet potentiellement impactée par les aléas sismiques car elle est située le long de la faille Nord-Anatolienne. Des séismes ont lieu dans la partie ouest de la mer de Marmara, une zone constituée de couches sédimentaires riches en gaz. L'origine de ce gaz prend une part importante dans cette étude notamment pour différencier non seulement le type de gaz (méthane CH<sub>4</sub> ou dioxyde de carbone CO<sub>2</sub> par exemple) mais également son origine (biogénique ou thermogénique).

Durant cette campagne d'exploration des sorties de gaz le long de la faille Nord-Anatolienne, la sonde dédiée à l'analyse des gaz a été déployée (Figure 3). Elle est initialement remplie d'eau de mer comme le montre le spectre vert de la Figure 3. Ce spectre présente en effet les elongations symétriques et antisymétriques des hydroxydes de l'eau ainsi que les elongations des liaisons SO présentes dans les sulfates de l'eau de mer. Cette sonde est positionnée à la verticale de la sortie de gaz à analyser. En fonction du débit, le temps de remplissage de la cellule est de quelques secondes à une minute. S'en suit une acquisition d'une minute constituée de deux accumulations. Les données

brutes remontent en temps réel et permettent de déterminer rapidement la composition des gaz majoritaires. Le spectre bleu de la Figure 3 met en évidence les élongations symétriques des liaisons CH de la molécule de méthane. D'autres contributions marginales sont imputables à des composés aromatiques gazeux mais aussi sulfurés.

Durant cette campagne d'exploration, des sorties riches en CO<sub>2</sub> ont également été caractérisées. Les analyses réalisées à terre sur les prélèvements sont en corrélation avec ces analyses Raman *in situ*. Bien que la sensibilité et la justesse soient dégradées par rapport aux techniques de laboratoire, l'analyse *in situ* permet non seulement de guider les prélèvements mais aussi d'ajuster rapidement le planning des expérimentations en fond de mer.

## Identification des contaminations

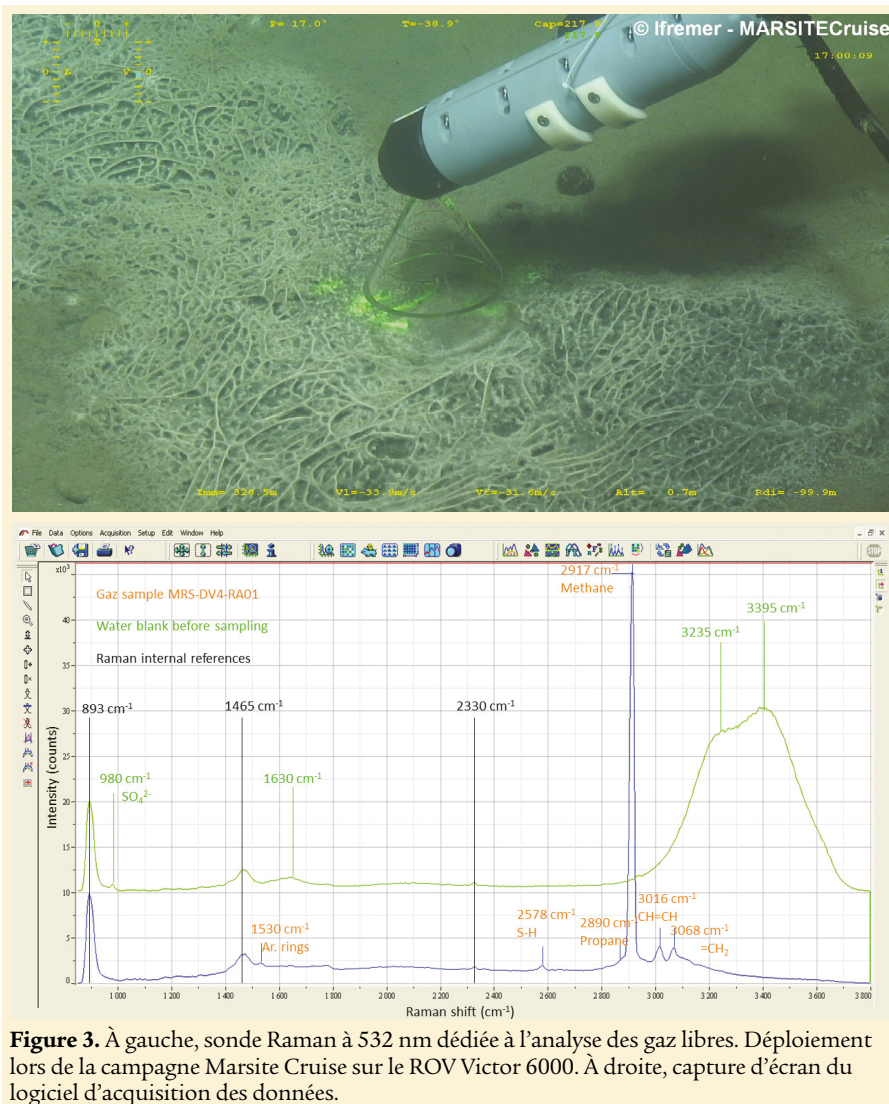
La spectroscopie Raman *in situ* trouve également un intérêt dans une toute autre problématique. Il s'agit encore une fois de tirer profit de la lecture en temps réel des données analytiques au plus proche du milieu naturel. Les contaminations du milieu marin qu'elles soient ponctuelles ou chroniques sont très recherchées à la fois pour protéger le milieu et les populations environnantes mais également pour identifier les sources d'origine. S'agissant d'un domaine d'application très strict et normalisé, cette méthode n'a pas encore percé le marché analytique. Cependant, le potentiel n'est pas moins intéressant. Les applications en exploration mentionnées

précédemment s'intéressent à des analytes solides, donc denses, ou à des gaz qui, compte tenu de la pression hydrostatique, sont fortement comprimés donc également denses. À l'opposé, le domaine de l'analyse des contaminations est majoritairement du ressort des faibles niveaux de concentration. Il faut nécessairement avoir recours à des techniques d'amplification du signal.

## Amplification du signal par effet SERS (surface enhanced Raman scattering)

Le SERS a été observé pour la première fois en 1974 par le groupe de Fleischmann. Il se traduit par l'exaltation de la diffusion Raman des molécules au voisinage de structures de métaux nobles dont les dimensions sont de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres, capables de générer des plasmons de surface. Il est d'autant plus remarquable que les facteurs d'exaltation peuvent atteindre 10<sup>11</sup> ouvrant la possibilité de détecter des molécules uniques. Ainsi, le couplage de la spectrométrie Raman à des substrats nanostructurés permet de repousser la limitation principale de la spectroscopie Raman : sa faible sensibilité.

Le SERS a bénéficié de l'essor des nanosciences et nanotechnologies. Il est maintenant possible de contrôler la matière à l'échelle nanométrique et de fabriquer les structures aux formes et dimensions variées en fonction des propriétés optiques souhaitées. Toutefois, le développement de ces substrats repose sur le choix du meilleur compromis entre sensibilité et répétabilité. En effet, l'exaltation locale du champ électrique est d'autant plus importante que les nanoparticules sont proches les unes des autres aboutissant à l'apparition de points chauds ou *hot-spots*. Toutefois, l'exaltation dépend alors drastiquement de la distance inter-particules et il est nécessaire de contrôler leur position relative au nanomètre près. Ainsi, des échantillons dont la géométrie est moins contraignante sont généralement employés. Un gain en sensibilité est alors nécessaire pour atteindre les seuils de détections adaptés.

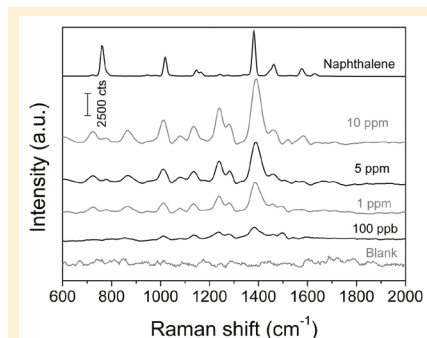


## Concentration par fonctionnalisation chimique

Pour cela, une stratégie couramment mise en œuvre consiste à fonctionnaliser les nanoparticules par une couche moléculaire pour pré-concentrer les molécules d'intérêt à proximité des zones sensibles. À titre d'exemple, dans le cas de composés de type HAP, une fonctionnalisation à fort caractère hydrophobe est déposée à la surface du substrat, aboutissant à une augmentation locale de la concentration en hydrocarbures [2]. La *Figure 4* montre les spectres SERS obtenus en conditions opérationnelles en zone côtière de la mer d'Iroise avec le spectromètre sous-marin. Ils montrent le spectre du naphthalène, un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) appartenant à la liste des substances prioritaires<sup>1</sup>. Ces spectres ont été obtenus lors de la calibration de notre système avec un substrat fabriqué par synthèse chimique. La limite de détection sur ce composé est inférieure à 100 µg/L.

## Conclusion

La spectroscopie Raman est donc une technique d'intérêt pour diverses applications *in situ* en océanographie en milieu côtier ou par grand fond, pour des analyses d'échantillons solides, liquides ou gazeux. En outre, l'essor du SERS grâce au développement des techniques de nanofabrication a ouvert la voie à l'analyse de composés à l'état de trace, démultipliant les champs



**Figure 4.** Spectres de calibration du naphthalène en conditions opérationnelles.

d'investigation possibles. Depuis quelques années, l'analyse Raman de laboratoire joue également un rôle central dans la thématique émergente des microplastiques. Ces contaminants solides du milieu naturel sont en effet de plus en plus étudiés compte tenu de leur fréquence d'occurrence et de leurs impacts sur l'environnement. Ces contaminants se trouvent à des échelles de plus en plus petites. La spectroscopie Raman étant aisément couplée à des techniques de microscopie optique, c'est une technique qui est de plus en plus employée pour l'identification et l'analyse des microplastiques en tant que contaminants du milieu naturel [3].

Toutes ces analyses génèrent actuellement des jeux de données très complexes et volumineux, dont l'interprétation requiert des experts. Ainsi un des axes de recherche cruciaux pour la spectroscopie Raman en tant qu'outil pour les sciences environnementales et l'océanographie concerne le traitement et d'analyse des spectres automatisés reposant sur une approche chimiométrique.

### POUR EN SAVOIR PLUS

- [1] Peron O., et al. First steps of *in situ* surface-enhanced raman scattering during shipboard experiments. *Applied Spectroscopy*, **64**, 1086-1093 (2010)
- [2] Tijunelyte I., et al. Diazonium salt-based surface-enhanced Raman spectroscopy nanosensor: detection and quantitation of aromatic hydrocarbons in water samples. *Sensors*, **17**, 1198 (2017)
- [3] Frere L., et al. A semi-automated Raman micro-spectroscopy method for morphological and chemical characterizations of microplastic litter. *Marine Pollution Bulletin*, **113**, 461-468 (2016)

<sup>1</sup> Une liste de substances, dites prioritaires, a été établie dans la Directive Cadre sur l'Eau (Directive 2000/60/CE) et est régulièrement révisée. Ces substances, dont certaines sont considérées dangereuses, sont des composés appartenant à différentes familles (métaux, les dérivés du pétrole, les pesticides, les solvants...). Dans les pays de la communauté européenne leurs rejets, émissions et pertes doivent faire l'objet d'une réduction progressive et, s'agissant des substances dangereuses prioritaires, d'un arrêt ou d'une suppression progressive, au plus tard vingt ans après la date d'inscription de ces substances dans la liste des substances prioritaires.

PUB