

Peut-on détecter des contraintes résiduelles par micro-spectroscopie RAMAN au sein d'échantillon de bois de peuplier ?

Aubin Normand¹, Anne M. Charrier¹, and Aude L. Lereu^{2*}

¹Aix Marseille Univ, CNRS, CINaM, Marseille, France

² Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Marseille, Institut Fresnel, Marseille, France

*aude.lereu@fresnel.fr

Mots clefs : contrainte de maturation, micro-spectroscopie RAMAN, bois de tension

Contexte et objectifs

La génération de tension interne dans le bois lors de la croissance est un fait bien établi^{1,2} qui contribue au phénomène de réorientation et à l'équilibrage des contraintes subis par le bois. Ces contraintes ont été extensivement mesurées à l'échelle macroscopiques³. Dans le cas des arbres angiospermes, le rôle de la couche G apparaissant dans le bois de tension dans la génération de cette tension n'est plus à démontrer. Cependant, l'origine de cette tension à l'échelle de la paroi cellulaire ne fait pas consensus^{1,4}. L'apport de nouvelles informations sur l'état de contrainte de chacune des couches, ou même de chacun des constituants de la paroi cellulaire, serait précieux pour supporter ou disqualifier certaines de ces théories.

Plusieurs études ont montré la sensibilité de la spectroscopie RAMAN à la présence de contraintes au sein de matériaux lignocellulosiques en observant les décalages spectraux de certains pics lors d'un essai de traction⁵⁻⁷. Un décalage important du pic situé à 1095cm⁻¹, correspondant à la cellulose, a notamment été montré. La technologie micro-RAMAN permet quant à elle d'atteindre une résolution de l'ordre de 350nm, suffisante pour discriminer plusieurs couches pariétales. La détection de décalages spectraux par cette technologie au sein d'échantillons de bois peut donc être un outil important pour explorer la distribution des contraintes entre les couches pariétales de bois.

L'objectif ultime de cette étude est de répondre aux questions suivantes :

- Des contraintes résiduelles dans des échantillons de bois de tension/normal/opposé persistent-elles après la coupe ?
- La cellulose est-elle dans un état tendu in vivo et relaxée lors de la coupe, ou au contraire est-elle dans un état de compression après la libération des contraintes ?

Pour cela, nous examinons de manière systématique le décalage éventuel de certains pics spectraux entre les différentes couches d'échantillon de bois de tension (T), opposé (O) et normal (N). Ces décalages pouvant être attribués soit aux modifications chimiques induites sous la contrainte soit à des contraintes résiduelles, nous discuterons de l'introduction d'un terme correctif, visant à compenser l'effet des variations en composition chimique sur la position spectrale des pics.

Matériaux et méthodes

Les échantillons sont extraits de jeunes peupliers de 7 mois (*Populus euramericana*) cultivés en champ. Les échantillons de bois de tension proviennent de pousses dont la réorientation a été forcée en étant contraint par un tuteur et sont comparés à des échantillons provenant de plantes

ayant grandi sans tuteur. Pour éviter l'effondrement de la couche G, les échantillons sont inclus en résine puis ultra-microtomés.

La spectroscopie micro-RAMAN est une technique de spectroscopie vibrationnelle permettant de caractériser la composition chimique d'un échantillon en étudiant la réponse vibrationnelle lors de la sollicitation par un laser. À chaque molécule, chaque liaison atomique correspond une bande vibrationnelle. Ici, un objectif X100, NA = 0.9, couplé à un laser de longueur d'onde $\lambda = 532\text{nm}$ ont été choisis pour obtenir une grande résolution (360nm selon le critère de Rayleigh). La résolution spectrale est de 0.68cm^{-1} et la bande détectée va de 515 cm^{-1} à 1730 cm^{-1} . Le temps d'acquisition pour chaque spectre est fixé à 4s, la puissance du laser à 14mW. Chaque cartographie est composée de 14400 pixels (120x120 pts, 40x40 μm).

Le processus de traitement des spectres se déroule comme suit :

- (1) Détection et suppression des rayons cosmiques.
- (2) Lissage par la méthode de Savitsky Golay.
- (3) Suppression de la ligne de base par l'utilisation de l'algorithme airPLS⁸.
- (4) Intégration selon les bandes spécifiques correspondant à la lignine, ($1250\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$, $1560\text{-}1650\text{cm}^{-1}$), à la cellulose ($1080\text{-}1135\text{cm}^{-1}$, $1360\text{-}1395\text{cm}^{-1}$) et génération des cartographies associées.
- (5) Partitionnement de données par k-mean clustering⁹. Cet algorithme permet de classer chacun des 14400 spectres composant une carte en k cluster en fonction de leur similarité. Le nombre k est choisi égal à 3 dans le cas du bois normal et opposé (CML, S2 et RESIN) et 5 dans le cas du bois de tension (CML, S2, G, G effondrée et RESIN). Le spectre moyen de chacun des clusters est ensuite calculé et permet de réduire considérablement les temps de calcul, en ne travaillant que sur 3 ou 5 spectres plutôt que 14400.
- (6) Finalement, les spectres moyens des clusters sont déconvolués par une combinaison de fonctions de Lorentz à l'aide de l'algorithme PeakFit afin de déterminer les positions de chaque pic.

Pour chaque échantillon (T, O, N), 3 cartes sont effectuées et pour chacune des couches les positions des pics sont relevées.

Résultats et discussion

Comme mentionné, l'étude de la position spectrale des pics et la détection de décalage significatif entre différents échantillons ou différentes couches, peut résulter de présence de contraintes internes. Nous nous intéressons ici à trois pics particulièrement intenses : 1092 cm^{-1} et 1123 cm^{-1} pour la cellulose et 1600 cm^{-1} pour la lignine. Pour rappel, c'est pour le pic à 1092 cm^{-1} que le décalage le plus important a déjà été détecté lors d'essais de traction sur des fibres de bois⁵⁻⁷.

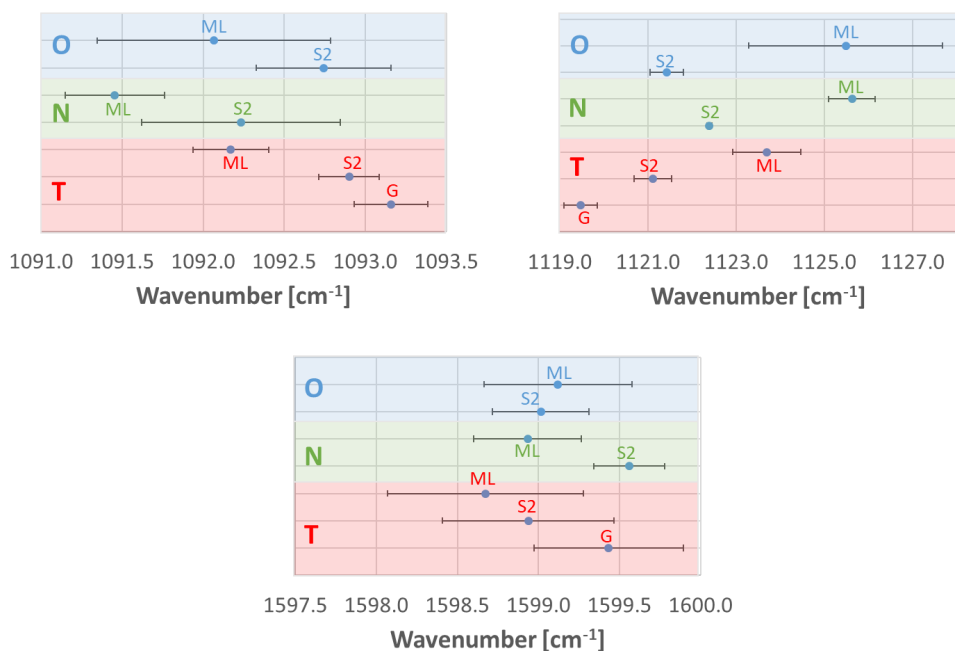


Fig. 1 : relevé de la position des pics pour les différentes couches pariétales au sein d'échantillons de bois de tension (T), normal (N) et opposé (O).

La figure 1 présente la position moyenne et l'écart type des 3 mesures effectuées pour chaque couche pariétale de chaque échantillon.

Le pic à 1092cm⁻¹ présente un décalage significatif vers des longueurs d'ondes supérieures pour les couches secondaires par rapport aux lamelles mitoyennes (ML) et à fortiori de la couche G. Cette observation, mise en relation avec les études effectuées sur des échantillons soumis à des essais de traction semble révéler que la couche G serait en compression après la coupe.

Cependant, dans notre étude, le décalage le plus important est mesuré pour le pic à 1123 cm⁻¹, et dans la direction opposée au pic à 1092 cm⁻¹. Il est difficile d'expliquer alors comment deux pics correspondants à la cellulose cristalline peuvent exhiber un comportement aussi opposé. Notons tout de même que le décalage de 6 cm⁻¹ entre la couche G du bois de tension et la couche ML du bois opposé correspond à une contrainte colossale de 2 GPa en considérant le taux mesuré par Gierlinger et al⁵.

Enfin, aucune différence significative n'est observé pour le pic de lignine à 1600 cm⁻¹.

Ces résultats nous ont amené à nous questionner sur la validité de telles mesures, et les sources éventuelles de perturbation. En premier lieu, le rôle de la variation de la composition chimique sur la position des pics reste à élucider.

L'objectif suivant est donc de déconvoluer l'effet de la composition chimique de la présence de contraintes sur la position spectrale des pics. Pour cela, nous avons combiné numériquement un spectre de cellulose pure avec un spectre de lignine pure (obtenues après traitement chimique d'échantillon de bois normal) dans des proportions différentes. Nous avons ainsi évalué la variation de la position des pics d'intérêts en fonction de la concentration en cellulose et en lignine.

La figure 2 montre que la composition chimique a bien un effet sur la position des pics. Pour chaque pic, un terme correctif sous la forme d'une fonction polynomiale est introduit pour corriger la position des pics relevée précédemment pour les échantillons de bois normal, de tension et opposé.

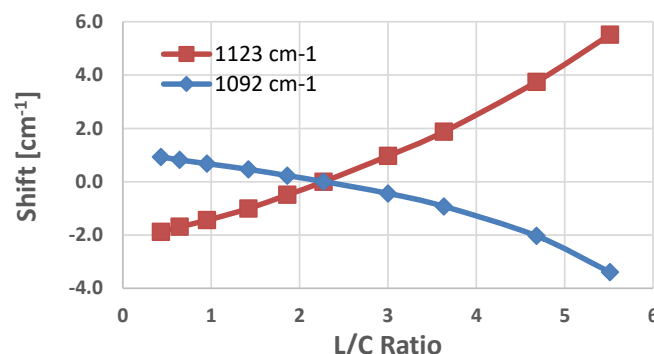


Fig. 2 : Terme correctif de la composition chimique pour les pics à 1092cm-1 et 1123cm-1

En particulier, le terme correctif est de signe opposé pour les pics à 1092 cm⁻¹ et 1123 cm⁻¹. Finalement, les décalages précédemment observés sont compensés par ce terme correctif. Ce résultat montre l'importance de la prise en compte de la composition chimique lors de la comparaison de région différente pour la recherche de contraintes internes.

Remerciements

Ce travail a été financé par la fondation A*MIDEX, projet N°: A-M-AAP-EI-17-10-170224-18.04-CHARRIER-E et le programme PICS 2019 du CNRS. Nous remercions Andrei Kabashin du LP3 à Marseille pour nous avoir donné accès à sa plateforme de micro-RAMAN.

Références

1. Alméras, T. & Clair, B. Critical review on the mechanisms of maturation stress generation in trees. *J. R. Soc. Interface* **13**, 20160550 (2016).
2. Gril, J. *et al.*. Tree growth stress and related problems. *J. Wood Sci.* **63**, 411–432 (2017).
3. Yoshida, M. & Okuyama, T. Techniques for measuring growth stress on the xylem surface using strain and dial gauges. *Holzforschung* **56**, 461–467 (2002).
4. Mellerowicz, E. J. & Gorshkova, T. A. Tensional stress generation in gelatinous fibres: A review and possible mechanism based on cell-wall structure and composition. *J. Exp. Bot.* **63**, 551–565 (2012).
5. Gierlinger, N. & Schwanninger, M. Chemical imaging of poplar wood cell walls by confocal Raman microscopy. *Plant Physiol.* **140**, 1246–1254 (2006).
6. Eichhorn, S. J., Sirichaisit, J. & Young, R. J. Deformation mechanisms in cellulose fibres, paper and wood. *J. Mater. Sci.* **36**, 3129–3135 (2001).
7. Guo, F. & Altaner, C. M. Measuring Molecular Strain in Rewetted and Never-Dried Eucalypt Wood with Raman Spectroscopy. *Biomacromolecules* **20**, 3191–3199 (2019).
8. Zhang, X. *et al.* Method for Removing Spectral Contaminants to Improve Analysis of Raman Imaging Data. *Sci. Rep.* **7**, 1–10 (2017).
9. Zhang, X. *et al.* Method for automatically identifying spectra of different wood cell wall layers in Raman imaging data set. *Anal. Chem.* **87**, 1344–1350 (2015).
10. Agarwal, U. P. An overview of Raman spectroscopy as applied to lignocellulosic materials. *Adv. Lignocellul. Charact.* 201–225 (1999).
11. Cabrolier, P. Caractérisation des propriétés structurales et mécaniques des composantes pariétales du bois à l'échelle du tissu. (Agro Paris Tech, 2012).