

---

## CHAPITRE 2 – SPECTROSCOPIE RAMAN

### **Une technique spécifique et non destructive**

La découverte de l'effet Raman date des années 1920, mais ce type de spectroscopie n'a d'abord été qu'un objet de recherche fondamentale, à cause de difficultés expérimentales. La commercialisation de lasers comme sources excitatrices et la conception d'appareils munis de microscopes ont rendu cette technique plus maniable. La spectroscopie Raman est complémentaire de l'analyse infrarouge et conduit à une information moléculaire. Elle est non destructive et l'emploi d'un microscope permet une résolution analytique de l'ordre du micron<sup>3</sup>. Cette technique ne figure pas encore dans les manuels de criminalistique mais commence à intéresser divers laboratoires, notamment dans les domaines des drogues, des peintures et des fibres textiles.

---

---

## CHAPITRE 2 – SPECTROSCOPIE RAMAN

<b>2.1 Notions théoriques</b> .....	<b>31</b>
2.1.1 Effet Raman.....	31
2.1.2 Effet Raman de résonance.....	34
<b>2.2 Domaines d'application</b> .....	<b>36</b>
2.2.1 Généralités.....	36
2.2.2 Applications en criminalistique.....	37
<b>2.3 Raman et fibres textiles</b> .....	<b>40</b>
2.3.1 Fibres non teintées.....	40
2.3.2 Fibres teintées.....	41
2.3.3 Pouvoir discriminant.....	45
<b>2.4 Raman et chimométrie</b> .....	<b>48</b>
Bibliographie.....	51

---

## 2.1 NOTIONS THÉORIQUES

### 2.1.1 Effet Raman

Quand un rayonnement électromagnétique traverse un milieu transparent, une partie de la puissance radiante est diffusée dans toutes les directions par rapport à celle du rayonnement incident. La diffusion par des particules ou des agrégats de dimensions plus faibles que la longueur d'onde du rayonnement incident est appelée diffusion Rayleigh (Figure 2-1). En 1928, le physicien indien C.V. Raman [1] découvrit que la longueur d'onde d'une petite fraction de la lumière diffusée différait (en plus ou en moins) de celle émise par une source monochromatique (Figure 2-1) et, de plus, que la variation de la longueur d'onde dépendait de la structure des molécules responsables de cet effet. Il reçut le Prix Nobel en 1930 pour la découverte de l'effet Raman et son exploration systématique.

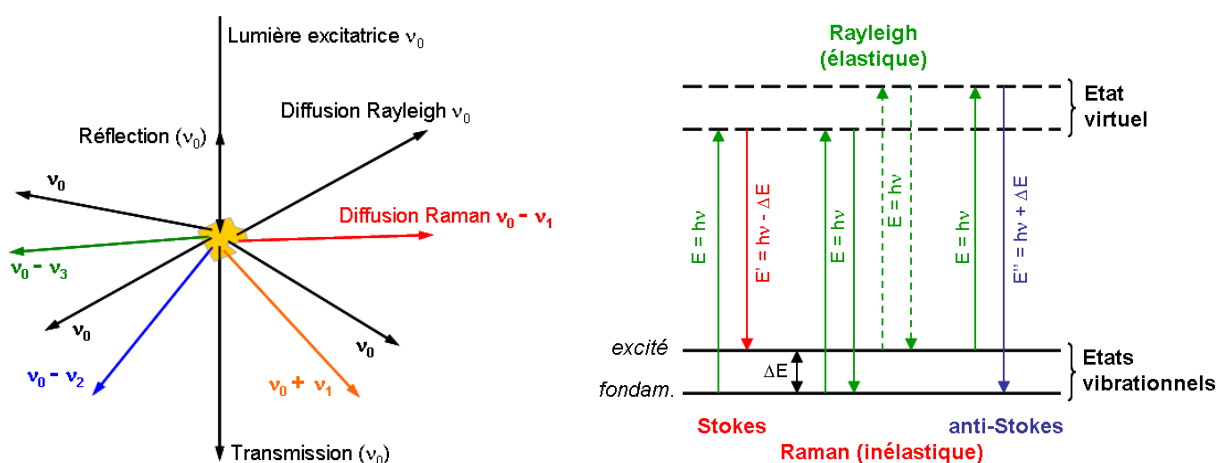


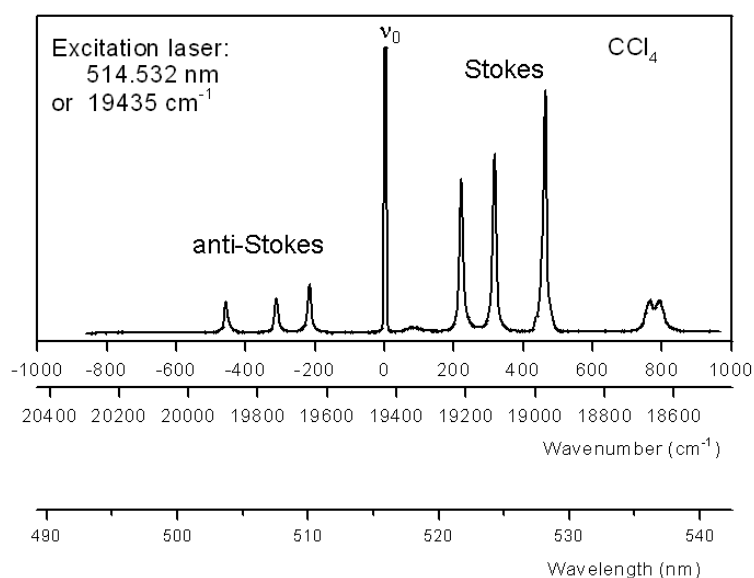
Figure 2-1 : illustration de la diffusion de la lumière et des échanges d'énergie en diffusion Raman [3]

La théorie de la diffusion Raman nous montre que le phénomène résulte du même type de transitions vibrationnelles et rotationnelles quantifiées que celles rencontrées en spectroscopie infrarouge. Les spectres de diffusion Raman et d'absorption infrarouge pour une molécule donnée présentent donc de grandes analogies : il y a cependant suffisamment de différences entre les types de vibrations actives en infrarouge et en Raman pour rendre les techniques complémentaires plutôt que compétitives. Par contre, il faut aussi remarquer que si le milieu étudié n'est pas parfaitement transparent, le rayonnement incident peut exciter un rayonnement de fluorescence qui est généralement beaucoup plus intense que l'effet Raman et qui constitue donc une difficulté majeure à l'utilisation de cette technique. Cette difficulté peut être levée, en grande partie, par l'utilisation de sources d'excitation dans le proche infrarouge ou, dans certains cas, dans l'ultra-violet.

Les spectres Raman sont donc obtenus en irradiant l'échantillon avec une puissante source de rayonnement visible ou infrarouge monochromatique. Ces sources sont à l'heure actuelle des lasers. Durant l'irradiation, le spectre des radiations diffusées est mesuré, au moyen d'un

spectrophotomètre à réseau ou à transformée de Fourier. Au mieux, l'intensité des raies Raman atteint 0,01 % de celle de la source excitatrice.

Le spectre Raman (Figure 2-2) est constitué de deux séries de raies distribuées symétriquement par rapport à la raie Rayleigh ou en d'autres mots, la raie d'émission du laser utilisé pour la mesure. Le déplacement ( $\nu_0 \pm \nu_{\text{Raman}}$ ), exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ , est identique pour les raies correspondantes des deux séries. En effet, ces dernières concernent, respectivement en négatif (Stokes) ou en positif (anti-Stokes) le même échange d'énergie  $\Delta E$  tel qu'illustré à la figure 2-1. Par contre, l'intensité des raies (Figure 2-2) situées du côté des plus faibles énergies (les raies Stokes) est plus élevée que pour l'autre série (les raies anti-Stokes), d'autant plus que l'on s'écarte de la raie excitatrice. Ce phénomène est expliqué par la loi de Boltzmann qui favorise la population des niveaux fondamentaux par rapport aux niveaux excités. En pratique, l'observation des raies Stokes sera privilégiée.



**Figure 2-2** : spectre Raman du  $\text{CCl}_4$  avec une source excitatrice émettant à 514 nm [3]

Les spectres Raman sont donc toujours exprimés en termes de déplacements :

$$\Delta\nu (\text{cm}^{-1}) = \nu_0 - \nu_{\text{Raman}} = h^{-1} \times \Delta E \text{ (où } h \text{ est la constante de Planck)}$$

c'est-à-dire en différence de nombres d'onde de la raie Raman ( $\nu_{\text{Raman}}$ ) par rapport à la raie laser excitatrice ( $\nu_0$ ) et donc implicitement en différence d'énergie entre les niveaux concernés par la transition vibrationnelle. Ils se situent donc dans une région spectrale imposée par le choix de la longueur d'onde de la raie excitatrice. Cette particularité permet notamment de contourner la fluorescence qui est un phénomène local en variant les lasers.

De ce qui précède, il résulte que les transitions responsables de l'effet Raman font appel à des transitions vibratoires des molécules, comme d'ailleurs les spectres d'absorption

infrarouge. Dès lors, pour une molécule donnée, les déplacements énergétiques observés dans une expérience de diffusion Raman devraient être identiques aux énergies des bandes d'absorption infrarouge de la même molécule, pour autant que les modes vibrationnels concernés soient actifs à la fois en Raman et en infrarouge.

La théorie de l'absorption infrarouge requiert que le mode de vibration concerné de la molécule corresponde à une modification du moment dipolaire de celle-ci. Ce n'est que dans ces circonstances qu'une radiation infrarouge de même fréquence peut être absorbée par la molécule et la porter dans un état vibrationnel excité.

Par contre, la diffusion fait intervenir une distorsion élastique momentanée de l'atmosphère électronique distribuée autour d'une liaison de la molécule concernée et place cette molécule dans un état virtuel. Il s'ensuit une réémission de radiation lorsque la liaison retourne dans son état initial (Figure 2-1). Lors de cette distorsion, la molécule est temporairement polarisée, c'est-à-dire qu'elle développe un dipôle induit qui disparaît lors de la relaxation (et de la réémission) : le processus de diffusion dépend de la polarisabilité de la liaison impliquée. Un déplacement Raman requiert donc que le mode vibrationnel concerné corresponde à un changement de polarisabilité.

La comparaison des activités infrarouge et Raman des molécules possédant un centre de symétrie, nous montre que les vibrations actives en infrarouge sont inactives en Raman, et vice versa. Il s'agit d'une règle appelée souvent « règle d'exclusion mutuelle » et dont le résultat illustre la complémentarité des spectres obtenus via les deux techniques.

Enfin, nous savons que dans les spectres d'absorption infrarouge, on observe souvent des bandes correspondant à des harmoniques et à des combinaisons de fréquences. En Raman, ces effets sont plus faibles, si bien que souvent les spectres sont plus simples.

Suivant la théorie de Placzek, l'intensité d'une raie Raman diffusée à angle droit de la direction d'excitation répond à la relation suivante :

$$I = K \times \frac{(\nu_0 + \nu_{Raman})^4}{\nu_{Raman}} \times \frac{N \times I_0}{1 - \exp(-h\nu/KT)} \times [45(\alpha'_s)^2 + 13(\alpha'_a)^2]$$

où  $N$  = nombre de molécules diffusantes,  $I_0$  = intensité de la raie excitatrice,  $\alpha'_s$  et  $\alpha'_a$  sont les dérivées des composantes symétriques et asymétriques de la polarisabilité.

Ceci veut dire que l'intensité d'une raie Raman est :

- d'autant plus intense que la longueur d'onde de la raie d'excitation est courte,
- proportionnelle à l'intensité de cette raie excitatrice,
- proportionnelle au nombre de molécules diffusantes, vues par le spectromètre,
- proportionnelle au carré de la variation de la polarisabilité produite lors de la vibration.

Toutes autres choses égales, les liaisons  $\sigma$ , peu polarisables, donnent des raies faibles, tandis que les liaisons  $\pi$  dans lesquelles les électrons peuvent se délocaliser très facilement, donneront lieu à des raies de forte intensité. En outre, l'intensité dépend de la direction d'observation (puisque la polarisabilité est une propriété directionnelle) et de la symétrie de la vibration examinée ( $\alpha'_s$  et  $\alpha'_a$ ). [2-3]

### 2.1.2 Effet Raman de résonance

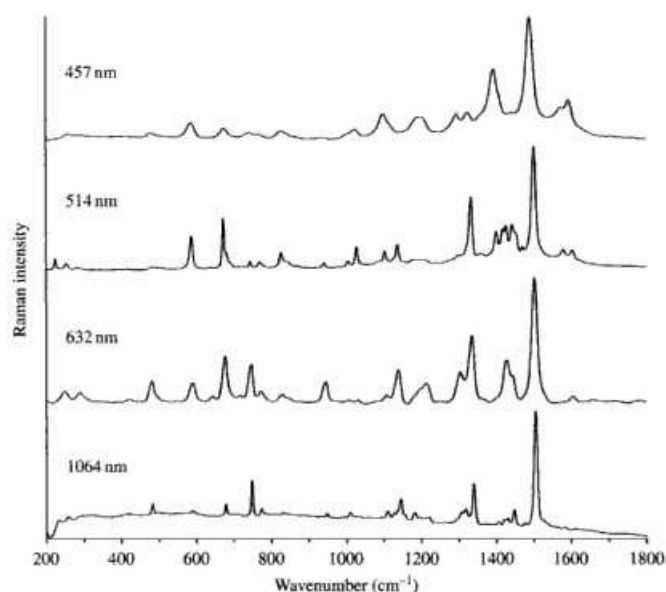
Dans certaines circonstances, l'effet Raman habituellement faible peut s'intensifier naturellement de manière importante. Ce phénomène se produit pour les molécules colorées lorsque la longueur d'onde de la radiation excitatrice est proche du maximum d'une intense bande d'absorption électronique. L'intensité initiale ( $10^{-6} \times I_0$ ) de la diffusion Raman en est alors multipliée de plusieurs ordres de grandeur, typiquement de  $10^3$  à  $10^4$ , voire  $10^6$  quand la fréquence du laser est proche de ce maximum.

Dans les conditions de résonance, le spectre Raman classique évolue vers un spectre où certains pics vont sélectivement gagner en importance, ceux pour lesquels les conditions d'absorption sont remplies. De plus, il arrive même que certains pics trop faibles ou correspondants à des modes de vibration non actifs puissent émerger dans le spectre de résonance à une longueur d'onde excitatrice donnée.

Une simple observation du spectre d'absorption de la molécule ne suffit pourtant pas à déduire la meilleure fréquence excitatrice pour obtenir un spectre de résonance pure. En effet, les larges bandes d'absorption sont une combinaison complexe de fines bandes d'absorptions relatives aux transitions des différents niveaux électroniques de la molécule. La prédiction de la résonance a été évaluée dans un modèle mathématique dont la complexité dépasse les besoins de ce travail. Malgré cela, il est intuitivement possible de comprendre que si la radiation excitatrice engendre des absorptions spécifiques, la polarisabilité du chromophore ou de certaines liaisons spécifiques liées à ces absorptions est accrue. Dès lors, les pics Raman correspondants sont spécifiquement intensifiés dans le spectre de résonance.

Cependant, la radiation excitatrice utilisée ne coïncide pas souvent avec le maximum d'absorption d'une transition électronique et un spectre de résonance pure n'est pas toujours observable. Des effets de résonance moins marqués sont tout de même présents dès que la radiation excitatrice se situe en-dessous du maximum de la transition électronique de la molécule, même de plusieurs centaines de nombres d'onde. On note un aspect décroissant de l'effet au fur et à mesure de l'éloignement et on parlera dans ce cas de pseudo-résonance. Le spectre Raman va lui aussi évoluer avec l'éloignement, pour se rapprocher de plus en plus du spectre non-résonant, dans lequel tous les pics s'expriment normalement.

Les désavantages liés au phénomène de résonance sont consécutifs à l'absorption de la radiation par la molécule irradiée. L'inconvénient majeur est la production de fluorescence, parfois intense. La photo-dégradation de l'échantillon peut également intervenir si la puissance de la radiation n'est pas correctement maîtrisée. Enfin, un phénomène d'auto-absorption du signal Raman généré par l'échantillon peut empêcher sa collection optimale. Ces désagréments peuvent être évités en travaillant à puissance modérée, en observant l'échantillon avant et après la mesure et en se focalisant de préférence à la surface de l'échantillon coloré. [4-5]



**Figure 2-3** : spectre Raman d'une phtalocyanine de Cu mesurée avec quatre sources excitatrices différentes [5]

A titre d'exemple, la figure 2-3 illustre l'évolution du spectre d'un pigment phtalocyanine de cuivre mesuré à l'aide de quatre sources excitatrices différentes. Aucun des quatre profils spectraux n'est rigoureusement identique en raison de résonances différentes avec chacune des sources. En effet, la phtalocyanine a la particularité de présenter deux zones d'absorption distinctes dans le domaine visible, une dans le bleu et une dans le rouge. Ceci entraîne des intensifications sélectives par la résonance d'états électroniques différents. Seul le pic situé à  $1530\text{ cm}^{-1}$  demeure invariant puisqu'il correspond à la respiration du noyau plan porphyrine. Toutefois, la position de ce pic sera influencée par la nature de l'ion métallique, et surtout sa grosseur qui va l'empêcher de s'aligner dans la configuration plane de la molécule. [5]

Enfin, il existe d'autres moyens d'intensifier l'effet Raman via l'adsorption à la surface d'un métal. Qu'il s'agisse d'un film métallique ou d'un colloïde métallique, la disponibilité en électrons est importante pour participer au processus – non encore totalement expliqué – d'intensification du signal Raman. L'adsorption sur le métal permet en outre un quenching de la fluorescence qui parasite le signal dans le cas des molécules colorées. On parle alors de « Surface-enhanced Raman scattering » (SERS), avec un facteur d'augmentation de  $10^6$  et de

« Surface-enhanced Resonance Raman scattering » (SERRS), avec un facteur pouvant atteindre  $10^{14}$ , lorsque le processus fait intervenir un chromophore. [5]

## 2.2 DOMAINES D'APPLICATION

### 2.2.1 Généralités

En ce début de 21<sup>ème</sup> siècle, la spectroscopie Raman a connu un essor fulgurant. Elle le doit notamment aux nombreux progrès techniques réalisés dans le domaine des lasers, des filtres de réjection de la diffusion Rayleigh et de la conception de micro-spectromètre de haute résolution. Les appareillages modernes offrent de nombreuses possibilités d'évolutivité ou d'automatisation, à des coûts relativement acceptables.

La technique conduit à une information moléculaire spécifique tout en gardant une très grande versatilité. Elle est en effet non destructive, ne nécessite pas ou peu de préparation des échantillons et peut s'appliquer à des solides, des liquides ou même des gaz. Différentes configurations d'appareillage permettent notamment de mesurer localement sur un micron<sup>2</sup>, de sonder quelques microlitres de liquide ou encore de détecter la présence de films minces à l'échelle submicronique. La confocalité des microscopes Raman autorise également de discriminer les différentes strates d'un matériau transparent et les options d'imagerie permettent d'analyser rapidement des surfaces plus larges en gardant une résolution locale de l'ordre d'une dizaine de microns. [6]

En chimie, la technique apporte des informations sur la structure et les propriétés des molécules, à partir de leurs transitions vibrationnelles. Toutefois, l'attribution de tous les pics Raman d'un spectre peut se révéler ardue pour des molécules complexes. Les théoriciens préfèrent opérer cette attribution par comparaison des spectres mesurés et calculés via les méthodes DFT (density functional theory). Par exemple, Klæboe et al. [7] ont ainsi étudié une molécule aux différents états de la matière et montré qu'elle coexiste, à l'état liquide, en deux conformères. Par contre, lors du passage à l'état solide, seul le conformère *trans* le plus stable est détectable dans le spectre Raman. Krins et al. [8] ont utilisé la spectroscopie Raman en complémentarité de la RMN du <sup>51</sup>V et de mesures d'impédance pour évaluer la relation entre les caractéristiques structurales de verres tellurovanadates dopés au Li<sub>2</sub>O et leur comportement électrique. L'incorporation progressive de Li<sub>2</sub>O conduit à une ouverture du réseau vitreux et à une baisse de la conductivité électronique en faveur de la conductivité ionique. Un matériau assurant un bon compromis entre ces deux conductivités peut s'avérer fort intéressant pour la cathode des batteries Li-ion. Cette dernière application montre que la spectroscopie Raman n'est pas seulement utile pour étudier les vibrations moléculaires mais également celles des réseaux cristallins.

La spectroscopie permet également l'identification de minéraux, de leurs différentes phases ou de leur degré d'hydratation. En art et archéologie, l'étude des pigments naturels ou



synthétiques fournit des informations cruciales à la préservation et à la restauration d'héritages culturels inestimables. D'autres applications sont également possibles en biologie, en médecine ou encore en pharmacie. [6]

## **2.2.2 Applications en criminalistique**

### **a) dans le domaine des traces biologiques**

Les prélèvements de microtraces révèlent parfois de minuscules particules de sang dont un profil génétique pourrait être exploité. Pour authentifier la présence de sang en évitant de consommer le matériel biologique par des tests spécifiques, la spectroscopie Raman [9] permet une identification rapide de la signature caractéristique de l'hémoglobine. De plus, l'application de techniques chimiométriques aux spectres Raman [10] met en évidence des différences subtiles qui pourraient aider à sérier le sang humain du sang canin ou félin.

Les spectres Raman de matériel biologique sont souvent très complexes, mais De Gelder et al. [11] ont fourni une étude systématique des principales biomolécules entrant dans la composition cellulaire telles les bases de l'ADN/ARN, les acides aminés, les sucres, les graisses et acides gras, dont tous les spectres sont différenciables. Plus concrètement, Virkler & Lednev ont utilisé la spectroscopie Raman pour discriminer avec succès le sperme humain du sperme canin, de fluide vaginal, de salive, de sueur et de sang. La technique est donc un outil universel efficace pour une estimation de la nature de la trace biologique, à confirmer par un test biologique spécifique. Une variabilité existe toutefois entre différents donneurs et par exemple, dans le cas du sperme humain, le spectre Raman peut être assimilé à une combinaison de trois composantes qui fluctuent indépendamment d'un donneur à l'autre. La présence des trois composantes atteste qu'il s'agit bien de sperme humain. [12-14]

En l'absence de traces de sperme dans un cas de viol, un préservatif a pu être utilisé. Wolfe & Exline [15] ont étudié les composantes des lubrifiants pour préservatifs, principalement le PDMS (polydiméthylsiloxane). Leurs signatures Raman sont spécifiques et varient avec la composition du lubrifiant. En pratique, la recherche de traces de lubrifiant a lieu sur un écouvillon vaginal en coton et doit être menée avant l'exploitation des traces biologiques. L'étude de Coyle & Anwar [16] a montré que seuls les pics Raman caractéristiques du PDMS sont observés dans la majorité des cas et qu'une minorité seulement de lubrifiants ont une composition originale autre qu'à base de PDMS.

La spectroscopie Raman permet aussi d'analyser différents types de spores [11], mais plus particulièrement celles causant l'anthrax [17], utilisées pour piéger de nombreux courriers aux Etats-Unis en octobre 2001.

### **b) dans le domaine des explosifs et substances à risques**

Cheng et al. [18] ont pu détecter des particules de l'ordre du micron composant l'explosif SEMTEX-H dans des empreintes digitales. Différents échantillons appartenant à la famille des explosifs SEMTEX ont été différenciés sur base de leur spectre Raman [19], de même que

certaines de la famille nitrotoluène. [20] Ces particules peuvent être facilement détectées sur divers surfaces, comme par exemple un ongle [21], même emprisonnées sous une couche de vernis, ou encore sur un textile sans être masquées par le signal du colorant. [22]

L'utilisation de sondes à fibre optique et la conception de spectromètres Raman portables a également permis de mesurer divers explosifs in situ ou dans des conteneurs en verre ou en plastique, en conservant une résolution spectrale acceptable. Ces études ont démontré que divers explosifs, agents d'armes chimiques, précurseurs ou solvants sont correctement identifiés en spectroscopie Raman sans rencontrer de faux positifs. [23-26]

### **c) dans le domaine des drogues**

Les drogues pures sont de bons diffuseurs Raman qui conduisent à un spectre riche en information et par conséquent à une identification rapide. [23] Il est aisé de discriminer des molécules parfois très proches, comme le démontre l'étude de Bell et al. [27] sur la MDMA (N-méthyl-3,4-méthylènedioxyamphétamine) et ses analogues proches, communément repris sous le terme « ecstasy ». D'autres études identifient avec succès différentes drogues, même avec un spectromètre portable ou à travers des plastiques d'emballage. [23, 28-29] Cependant, la présence d'additifs (agents de coupage, excipients) et surtout la fluorescence qu'ils engendrent peut parfois détériorer la qualité des spectres obtenus sur des échantillons réels. L'utilisation d'une source d'excitation dans l'infrarouge proche et de techniques chimiométriques peut aider à identifier le principe actif du stupéfiant. [29]

La spectroscopie Raman est également utile pour identifier des traces de drogues dans les empreintes digitales latentes, voire révélées au cyanoacrylate. La seule difficulté consistant à localiser les particules de drogue parmi les nombreuses autres particules présentes dans les empreintes digitales. [30-31] La présence de particules de drogue peut être mise en évidence sur des textiles et plus précisément sur des fibres textiles prélevées à l'aide de bandes autocollantes. Des pics Raman caractéristiques du stupéfiant coexisteront avec le signal de la fibre, de son colorant, de la bande collante ou encore du plastique d'emballage de la trace. [32]

La contrefaçon de médicaments est un domaine lié aux drogues en criminalistique. La spectroscopie Raman permet d'identifier le principe actif présent dans le cœur du médicament ainsi que les différents excipients utilisés pour diluer ou enrober ce principe actif. Ces informations Raman constituent une sorte de carte d'identité du médicament qu'il est possible de discriminer d'éventuelles contrefaçons. [33-34] A cet effet, de Veij et al. ont élaboré une base de données de 43 excipients communément rencontrés dans les médicaments, mais également dans les drogues. [35]

### **d) dans le domaine des substances colorées**

Les substances colorées sont un des domaines de prédilection de la spectroscopie Raman. En effet, ces molécules organiques sont généralement construites autour d'un chromophore

hautement conjugué et génèrent un signal Raman intense. Par ailleurs, la coloration est omniprésente dans notre société et intervient sous diverses formes dans le domaine criminalistique. La spectroscopie Raman est particulièrement utile lorsque la substance colorée est soit sous forme de pigment et que la chromatographie sur couche mince (TLC) n'est pas applicable, soit qu'elle est emprisonnée dans une matrice translucide.

Mazzella & Buzzini ont étudié un grand nombre d'encre bleues pour stylos à gel. Même si les différentes encres d'une même série d'un même fabricant sont indiscernables, il est possible de discriminer des mélanges d'encres de fabricants différents, surtout par l'emploi de plusieurs sources excitatrices. [36] Plusieurs colorants usuellement rencontrés dans l'encre des stylos à billes ont fait l'objet de mesures comparatives avec divers lasers. Les meilleurs résultats sont obtenus en FT-Raman, alors que l'utilisation d'un colloïde pour des mesures Raman SERS permet d'atténuer la fluorescence présente avec les lasers visibles. Enfin, une encre commerciale a été développée sur plaque TLC et analysée par la méthode SERS, comparativement aux références de colorants. [37] La combinaison des techniques infrarouge et Raman permet en outre d'obtenir une bien meilleure discrimination des encres et gels commerciaux pour stylos bleus et noirs : 95 % des encres peuvent être différenciées et 90 % dans le cas des gels. [38]

Les finalités de l'analyse d'encres sont la détection de falsifications de documents comme l'ajout ou la modification de caractères. La surimpression de lignes réalisées avec des stylos différents peut notamment être détectée par la confocalité de la technique Raman. [39]

Les encres pour l'impression à jet d'encre [40] ou encore pour le tatouage [41] sont assimilables aux résultats présentés ci-dessus pour les encres de stylos.

Les peintures sont un autre vaste domaine dans lequel la spectroscopie Raman peut aider à discriminer des traces de peinture d'un matériel de référence. La versatilité de la technique permet d'analyser sur diverses surfaces telles qu'un outil ayant servi à une effraction, qu'un vêtement porté par un tagueur, qu'un bijou, etc. Dans le domaine des accidents de roulage, les traces sont typiquement des fragments de peinture de voitures. Le technique Raman est bien adaptée à l'identification de pigments ou d'additifs minéraux. Elle peut notamment distinguer les formes rutilé et anatase du dioxyde de titane, détecter la présence ou l'absence de carbonate de calcium ou de sulfate de baryum. Néanmoins, il faut rester conscient que plusieurs fabricants peuvent utiliser le même pigment et que la spectroscopie Raman doit être utilisée en complémentarité de l'infrarouge pour la caractérisation des liants polymériques. [42-43]

La peinture en tant qu'objet d'art peut également être un objet d'expertise. Même si dans un but premier, l'identification des pigments ou colorants utilisés dans une œuvre d'art vise à aider les historiens de l'art à dater ou à restaurer l'objet [44-45], elle conduit parfois à mettre en évidence un anachronisme entre les pigments utilisés et la datation de l'œuvre, en d'autres termes une contrefaçon. Clark [46] est un précurseur dans l'étude des pigments

anciens, généralement des oxydes métalliques, dont il a constitué une librairie disponible sur internet. Les pigments organiques modernes ont fait l'objet d'une étude systématique par Schulte et al. [47] et sont assimilables aux molécules décrites au chapitre 1 de ce travail.

Enfin, une dernière application importante de l'utilisation de substances colorées est la teinture sur textiles. Une partie de ce chapitre va lui être spécifiquement consacrée ci-après.

## **2.3 RAMAN ET FIBRES TEXTILES**

L'analyse in situ de fibres teintes par spectroscopie Raman n'est pas largement répandue, elle se limite pratiquement au domaine criminalistique. Les informations obtenues dans le spectre sont pourtant caractéristiques et mènent à l'information moléculaire de l'échantillon analysé. Diverses sources bibliographiques traitent de l'utilisation de cette technique dans l'étude des fibres, des colorants et récemment des fibres teintes.

### **2.3.1 Fibres non teintes**

Les fibres textiles non teintes ont fait l'objet de plusieurs études générales. [48-51] Celles-ci démontrent que les différentes classes de fibres analysables en spectroscopie infrarouge le sont également en spectroscopie Raman. La mise en œuvre aisée de la technique Raman est parfois mise à mal par un phénomène parasite de fluorescence : celui-ci peut être contournée par l'emploi de plusieurs sources excitatrices ou en irradiant l'échantillon pendant plusieurs minutes avant la mesure (photobleaching). Leurs spectres Raman permettent de distinguer le coton et la rayonne, la laine et la soie, plusieurs types de polyesters, ainsi que plusieurs types de polyamides. Toutefois, les fibres naturelles comme le coton, la laine et la soie sont généralement de moins bons diffuseurs que les fibres synthétiques.

Les fibres de polyester peuvent contenir des particules de  $\text{TiO}_2$  comme agent de matage et le spectre Raman reflète non seulement le polymère constitutif mais révèle aussi en dessous de  $400 \text{ cm}^{-1}$  des pics caractéristiques du  $\text{TiO}_2$ . [48] Dans le cas des nylons, la spectroscopie Raman est plus pratique que l'infrarouge, puisqu'un seul pic vers  $940 \text{ cm}^{-1}$ , l'élongation C-CO, permet de distinguer rapidement le nylon 6 ( $932 \text{ cm}^{-1}$ ) du nylon 6.6 ( $953 \text{ cm}^{-1}$ ) et du nylon 6.12 ( $948 \text{ cm}^{-1}$ ). Parallèlement, la position du pic C=O varie également autour de  $1640 \text{ cm}^{-1}$ . [49-50] La distinction des sous-classes d'acryliques est difficile en Raman et la spectroscopie infrarouge demeure la technique de choix pour y parvenir. [51]

Keen et al. [50] ont étudié plusieurs échantillons de polyester (polyéthylène téréphtalate) et de polyamide 6. Au sein de chaque classe, le spectre Raman est parfaitement reproductible au sein d'une même fibre et peu variant entre les divers échantillons. Toutefois, l'utilisation de techniques chimiométriques a permis de discriminer les échantillons en fonction de leur fabricant, sur base de faibles différences présentes dans leur spectre Raman.

Le coton a été investigué en FT Raman et les différents pics du spectre ont été assignés aux vibrations des liaisons moléculaires de la cellulose. Le coton natif est, en tant que polymère naturel de cellulose, en partie amorphe et les pics du spectre sont moins étroits que pour une cellulose présentant des plus hauts degrés cristallinité. [52] Contrairement à la cellulose du papier qui peut présenter plusieurs additifs [53], les spectres de divers cotons sont donc généralement semblables. Un traitement chimiométrique des spectres semble séparer les cotons en fonction de leur origine, principalement sur base de leur propriétés structurales, physiques et mécaniques, parmi lesquelles la cristallinité, la finesse, la forme et les liaisons hydrogène. [54] Toutefois, des traitements aussi poussés paraissent peu pertinents sachant que les textiles de coton sont souvent des mélanges de diverses origines. La spectroscopie Raman est par ailleurs capable de distinguer le coton de l'acétate de cellulose, mais ne peut par contre pas différencier le di- du triacétate. [55]

Le conditionnement des fibres pour l'analyse Raman est souvent réduit à sa plus simple expression. En effet, la fibre est placée sur une lame en verre pour microscopie ou une lamelle métallique et ses deux extrémités sont maintenues à l'aide de papier collant. [48,50] Cependant, Miller & Bartick [51] ont étudié plus en détails le conditionnement de fibres synthétiques non teintées mesurées à 785 nm. En effet, l'utilisation du laser NIR 785 nm engendre une bande large de fluorescence du  $Fe^{3+}$  du verre qui déforme le spectre vers  $1400\text{ cm}^{-1}$ . Ce phénomène peut être évité avec une lamelle métallique ou en collant une simple feuille d'aluminium sous la fibre. En outre, l'analyse microscopique des fibres en criminalistique nécessite leur conditionnement dans une résine (Permount) entre une lame et un couvre-lame en verre. La mesure à travers ce montage demeure possible, mais le spectre Raman obtenu est affecté par des pics intenses de la résine et la fluorescence du verre. Seule une soustraction spectrale des composantes résine et fluorescence permet d'obtenir le spectre propre à la fibre, entaché tout de même de quelques artefacts issus de la soustraction. Des conditionnements spécifiques peuvent aussi être manufacturés [56], mais leur rigidité ne peut plus rivaliser avec la versatilité des microspectromètres Raman actuels.

### **2.3.2 Fibres teintées**

La teinture de fibres textiles fait clairement intervenir des colorants et des pigments. Ces substances, et plus particulièrement leur chromophore, sont d'excellents diffuseurs Raman puisqu'ils engendrent souvent un effet de résonance. Toutefois, leur forte absorption peut être la cause d'une intense fluorescence ou d'une photo-dégradation avec les sources lasers émettant dans le visible. [5]

L'étude systématique de colorants et pigments a montré que la spectroscopie FT-Raman (laser 1064 nm) se prête bien à l'étude des poudres [57], mais qu'il est aussi possible de travailler avec des lasers visibles à 514, 633 et 785 nm. [58] Le laser 785 nm permet d'obtenir un spectre dans 90 % des cas et pour les échantillons restant, l'information peut être obtenue via un des deux autres lasers. Les lasers émettant à 514 et 633 nm permettent

d'acquérir des spectres valables, mais sont souvent tributaires du fond continu de fluorescence pouvant altérer la qualité du signal Raman.

La classe azo a, par exemple, été largement étudiée, notamment dans le domaine des pigments pour peintures modernes. [59] Les spectres infrarouges des colorants azo sont souvent trop riches en informations, alors que les spectres Raman de résonance de ces colorants à 514 nm sont dominés par les intenses pics des liaisons azo et des groupes aromatiques. La spectroscopie Raman permet notamment d'étudier la tautomérie azo/hydrazone (cf. Chapitre 1.3) de certains colorants azo pour lesquels les deux formes azo ( $N=N$ , pic à  $1370\text{ cm}^{-1}$  et pic aromatique intense à  $1450\text{ cm}^{-1}$ ) et hydrazone ( $C=O$ , pic à  $1605\text{ cm}^{-1}$  et  $C=N$ , pic intense à  $1380\text{ cm}^{-1}$ ) peuvent être facilement distinguées. [5,60] Même si le spectre de résonance est intense, un fond continu de fluorescence plus ou moins important peut être observé et l'utilisation de la technique SERRS conduit à des spectres plus intense encore et par conséquent, à de meilleures limites de détection. [61] En outre, Everall [62] a choisi d'étudier les spectres hors résonance (laser 1064 nm) de colorants azo. Il a noté que les pics intenses du spectre demeurent la signature du chromophore (pseudo-résonance) et que, si les pics attribuables aux auxochromes sont bien présents, leurs intensités sont exceptionnellement faibles, et que leur détection sera compromise à de très faibles concentrations en colorant.

Les colorants ou pigments peuvent également être facilement étudiés en teinture sur fibres textiles par spectroscopie Raman. Leur teneur – généralement inférieure à 5 % en poids – autorise leur détection en raison des phénomènes de résonance évoqués précédemment. Cette teneur constitue même un avantage puisqu'elle dilue le colorant dans une matrice et atténue les risques de photo-dégradation. [5]

Les spectroscopies infrarouge et Raman sont souvent dites complémentaires et ont été appliquées comparativement à l'analyse de fibres teintées. [63-64] Le spectre infrarouge reflète majoritairement l'information de la fibre et les pics relatifs au colorant/pigment sont très faibles. A l'opposé, un signal plus intense du colorant/pigment est obtenu en spectroscopie Raman, à côté des pics moyens (polyester), faibles (acrylique) voire inexistantes (cellulose) de la fibre, en fonction du type de polymère la constituant. Lorsque les différents pics de la fibre sont soustraits, le spectre coïncide avec celui du colorant pur.

Kokot et al. [65] ont étudié un même colorant Cibacron C : plusieurs formes chimiques de son groupe réactif triazine ont conduit à différentes procédures de teinture sur coton. Dès lors, les divers échantillons obtenus ne diffèrent fondamentalement que par l'interaction du colorant avec la fibre de coton. Leurs spectres Raman sont à nouveau très similaires puisqu'ils reflètent essentiellement le chromophore de la molécule de colorant. Toutefois, des techniques chimiométriques de traitement des spectres (analyse en composantes principales, régression PLS) semblent permettre de discriminer les différentes formes du colorant, principalement les formes fixée ou non fixée à la fibre de coton.

Divers textiles teints à l'aide du colorant indigo ont été analysés par spectroscopie Raman à 514 nm. [66] L'analyse in situ sur les fibres textiles a apporté des informations supplémentaires par rapport à l'étude du colorant pur en poudre. En effet, des changements de la planéité de la molécule d'indigo peuvent intervenir suite au procédé de teinture employé par le fabricant. Certaines vibrations précédemment inactives en Raman sont alors activées et les pics correspondants s'intensifient (notamment 1299 et 1610  $\text{cm}^{-1}$ ). Vandenaabeele & Moens [67] ont étudié différentes formes d'indigo naturel et synthétique et leurs résultats permettent de distinguer les formes naturelles et synthétiques sur base de leurs spectres Raman, à l'aide de traitements chimiométriques. Une autre étude du colorant indigo et de ses analogues 6,6'-dihalogénés [68] a montré que ces composés pouvaient être discriminés au moyen de leur spectre Raman à 633 nm. La substitution du cycle benzène par un halogène et le type d'halogène influence la position des bandes de vibration dans la gamme de nombres d'onde de 560 à 1640  $\text{cm}^{-1}$  et une seule bande, vers 1620-1640  $\text{cm}^{-1}$  selon le dérivé halogéné, suffit même à distinguer les cinq hétérocycles. La bande C=O à 1700  $\text{cm}^{-1}$  ne varie pas en position mais bien en intensité dans les spectres des différents analogues, toutefois seul l'indigo la montre sous forme d'un doublet intense. Les colorants étant purs, ce doublet indique vraisemblablement des associations dipolaires des groupes C=O entre eux ou avec les liaisons  $\beta$ -glycosidiques polaires de la cellulose dans le cas du coton teint.

Deux études collaboratives [69-70] ont étudié les potentialités de la spectroscopie Raman pour l'analyse des colorants et fibres textiles teintes. Thomas et al. [69] ont analysé trois colorants purs et teints en mélange sur fibres de coton, tandis que Massonnet et al. [70] en ont fait de même sur des fibres acryliques et de laine. Plusieurs appareillages Raman faisant partie d'un réseau d'instituts européen de criminalistique (Raman subgroup de l'European Fibre Group, European Network of Forensic Science Institutes) ont permis de confronter les résultats et d'avoir accès à un grand nombre de sources excitatrices (488, 514, 532, 633, 685, 785, 830 et 1064 nm).

Les deux études démontrent que le spectre Raman des colorants n'est pas équivalent à toutes les longueurs d'onde. Les meilleurs spectres sont en majorité obtenus avec les lasers NIR (785, 830 et 1064 nm), alors que les lasers visibles sont sujets à la fluorescence. Aucun signal Raman n'émerge de la fluorescence avec le laser 633 nm pour 60 % des échantillons. Par contre, le laser 488 nm conduit à un bon signal Raman dans plus de 60 % des cas. De plus, les colorants montrent un signal Raman intensifié en étudiant des particules de plus petite taille, voire en solubilisant le colorant et en le séchant en une fine couche. [69-70]

Dans l'étude des fibres, la fluorescence est initialement importante pour l'échantillon de coton non teint à 514 nm mais diminue en changeant la longueur d'onde du laser vers le NIR. Le spectre Raman des fibres teintes est quant à lui presque toujours dominé par le signal du colorant entre 200 et 2000  $\text{cm}^{-1}$ . En effet, aucun pic caractéristique du coton ou de la laine n'est observé avec tous les lasers, seuls quelques faibles pics de l'acrylique sont observés avec les lasers NIR (785 et 830 nm). La qualité des spectres est bien meilleure avec

les lasers NIR dans l'étude sur coton [69], essentiellement à cause de la fluorescence de cet échantillon de coton avec les lasers visibles et cela même si un effet de résonance était attendu avec ces lasers. A l'opposé [70], la fluorescence se situe du côté des lasers NIR pour la laine et seuls les lasers 488 et 532 nm permettent d'obtenir un spectre exploitable du colorant. Ces deux mêmes lasers conduisent aux meilleurs résultats avec les fibres acryliques et de bons résultats sont également obtenus avec les lasers 514 nm et NIR. Enfin, les spectres à 632 et 685 nm sont souvent dominés par la fluorescence et l'appareillage FT-Raman à 1064 nm, dépourvu de microscope, se prête peu à l'analyse des fibres, d'autant que son spectre est dominé par le signal Raman du polymère acrylique. [70]

Par ailleurs, le changement de laser pour un même échantillon implique une variation des intensités relatives du signal Raman, mais également des rapports d'intensités des pics au sein du spectre. [69-70]

Concernant la résolution des mélanges de colorants, les deux études [69-70] démontrent que le spectre Raman est dominé par les pics d'un seul colorant et cela à toutes les longueurs d'onde excitatrices. Bien que ne connaissant pas les rapports de concentrations des trois colorants dans les mélanges, l'observation des spectres MSP permet de déduire que le colorant dominant en Raman est aussi la composante dominante du spectre d'absorption UV-visible. Dès lors, des mélanges avec un même colorant dominant conduisent à des spectres Raman fortement semblables. [69-70] Toutefois, des pics très peu intenses des colorants minoritaires ont pu être détectés dans le spectre du colorant dominant pour un des mélanges sur fibre acrylique à 785 nm. [70]

Le conditionnement des fibres peut interférer avec la mesure Raman. Les mesures in situ, sur lame de verre, collant double face ou support d'aluminium conduisent aux mêmes résultats. L'utilisation d'une résine de montage (XAM<sup>TM</sup>) introduit des pics supplémentaires dans le spectre Raman de la fibre et l'ajout d'un couvre-lame en verre pose des problèmes avec le laser 785 nm, comme mentionné précédemment pour les fibres non teintées. [70]

La résolution des mélanges reste un but important à atteindre en spectroscopie Raman. A cet effet, Salpin et al. [71] ont conçu un logiciel basé sur l'analyse de composantes. Cette méthode permet de résoudre quantitativement des mélanges de trois composantes (45:45:10) et a été appliquée avec succès dans l'étude de mélanges sur fibres de laine à partir des spectres Raman des colorants purs. Bien qu'encourageantes, ces expérimentations sont encore éloignées des rapports de concentrations des trichromies utilisées en teinture.

Pour terminer, l'utilisation de la méthode SERRS permet théoriquement d'amplifier la qualité des spectres Raman, spécialement lorsque la fluorescence est importante ou que les quantités à analyser sont minimales. Cette méthode est généralement mise en œuvre sur des solutions et nécessite une extraction du colorant [72] voire une digestion enzymatique [73] lorsque le colorant est chimiquement lié à la fibre. Les colorants peuvent alors être analysés en présence de colloïde d'argent, soit en solution [73], soit sur un support de gel de silice



[72] : les résultats sur gel de silice sont les plus impressionnants du point de vue intensification du signal. En présence de mélanges de colorants, il est également possible d'éluer sur une plaque TLC, toujours en présence du colloïde d'argent, et de mesurer le spectre SER sur chaque spot. En outre, la méthode SERRS peut aussi être appliquée in situ sur une fibre teinte en déposant une goutte de colloïde. Les résultats sont variés : soit le spectre est bien meilleur qu'avec l'extraction [72], soit la fluorescence a effectivement disparu mais l'intensification n'est pas vraiment évidente [73], ou aucune amélioration n'est visible. [70] La préparation des échantillons dure de quelques heures (in situ) à plus de 24h (digestion enzymatique) et nécessite une solide expérience dans le domaine. [72]

En résumé, les informations glanées dans ces publications scientifiques sont prometteuses. Elles démontrent, pour un nombre encore limité d'échantillons, l'utilité de la technique Raman dans l'analyse in situ de fibres teintées. Le choix du laser et la fluorescence régissent la qualité du spectre obtenu et semblent varier pour chaque série d'échantillons. Des analyses préliminaires s'imposent donc, afin de vérifier les résultats publiés par les différentes sources. De plus, en vue de constituer une base de données spectrales, un compromis dans le choix du laser est nécessaire, car les phénomènes de résonance semblent affecter les rapports d'intensités relatives des différentes bandes en fonction de la longueur d'onde excitatrice choisie.

### **2.3.3 Pouvoir discriminant**

La spectroscopie Raman vient d'être largement évoquée dans l'analyse des fibres textiles teintées et non teintées. Même si sa complémentarité à la spectroscopie infrarouge a été évoquée brièvement, la technique a été présentée comme outil isolé de caractérisation. Il est également important de la comparer aux autres techniques constituant la séquence analytique des fibres textiles en criminalistique.

Deux études récentes [74-75] ont justement évalué l'apport de la spectroscopie Raman en complémentarité aux autres techniques utilisées pour l'expertise de fibres (Table II-1).

Thomas [74] a étudié 11 échantillons de fibres de coton gris/noir et bleu teintées avec un mélange de trois colorants réactifs (références) et 100 échantillons de fibres de coton noir et bleu collectées sur des sièges de cinéma (street samples) et déjà étudiées en MSP UV-Vis. [76] Elle a donc choisi de comparer la discrimination de fibres de coton gris/noir et bleu par les techniques MSP UV-Vis et Raman. Le choix des sources excitatrices en spectroscopie Raman s'est basé sur son étude préliminaire des échantillons de référence. [69]

Buzzini [75] a étudié 60 colorants purs en poudre appartenant à diverses classes chimiques et 180 échantillons de fibres : 20 acryliques, 20 cotons et 20 laines, de couleurs noire, bleue et rouge, constituant des vêtements collectés dans son entourage (street samples). Ce choix est motivé par les études de populations existant dans la littérature [77], et exclut en particulier la sélection de coton bleu de type denim. Les fibres ont été analysées en

spectroscopie Raman avec tous les lasers à sa disposition et les pouvoirs discriminants ont été comparés à ceux des techniques conventionnelles comme la microscopie, la MSP UV-Vis et la chromatographie sur couche mince (TLC).

**Table II-1** : comparaison des études Raman menées par Thomas [74] et Buzzini [75]

	Thomas [74]	Buzzini [75]
Echantillons	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 11 cotons gris/noir et bleus teints avec des mélanges de colorants réactifs connus (références)</li> <li>- 100 cotons gris/noir et bleus (street samples)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 60 cotons noir, bleu, rouge</li> <li>- 60 laines noire, bleue, rouge</li> <li>- 60 acryliques noire, bleue, rouge (street samples)</li> <li>- 60 colorants en poudre (références)</li> </ul>
Conditionnement	<ul style="list-style-type: none"> <li>- colorant : dilué H<sub>2</sub>O puis séché en film mince sur support Al</li> <li>- fibre : in situ sur collant double face</li> <li>- fibre montée en résine XAM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- fibre : in situ étirée sur support Al</li> </ul>
Raman	<ul style="list-style-type: none"> <li>- lasers 633 et 785 nm</li> <li>- objectif : 50×</li> <li>- correction ligne de base par régression polynôme ordre 2 ou 4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- lasers 514, 633, 785 et 830 nm</li> <li>- objectif : 100×</li> <li>- correction ligne de base</li> <li>- lissage</li> </ul>
Autres techniques	<ul style="list-style-type: none"> <li>- MSP-Vis 400-700 nm (références)</li> <li>- MSP UV-Vis 300-700 nm (street samples)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- microscopie</li> <li>- MSP UV-Vis 250-700 nm</li> <li>- TLC (touffe de fibres)</li> </ul>
Comparaison	Pouvoir discriminant (examen visuel des spectres)	
Chimiométrie	PCA + (L)DA	/

Les spectres Raman des échantillons de coton noir et bleu sont généralement dominés par le signal Raman du colorant majoritaire. En effet, le colorant noir ou bleu a dû être appliqué en haute concentration par rapport aux autres colorants minoritaires. Dans le cas des échantillons de coton gris, la plus faible concentration du colorant noir ou bleu autorise l'apparition dans le spectre Raman de pics caractéristiques d'un des colorants minoritaires. [74] La fluorescence est prépondérante avec le laser 633 nm pour les acryliques (toutes couleurs confondues) et les cotons rouges, mais ce laser est tout de même informatif avec les laines et les cotons bleus et noirs. On observe une bonne complémentarité des lasers 514 et 785 nm pour discriminer l'ensemble des échantillons, avec une prédilection du laser 514 nm pour les bleus et du laser 785 nm pour les rouges. Dans le cas des acryliques, l'utilisation des lasers NIR introduit dans le spectre du colorant des pics attribuables au polymère, et parfois au dioxyde de titane utilisé comme agent de matage. [75]

Le pouvoir discriminant (Discrimination Power, DP) [78] d'une technique ou de plusieurs techniques combinées consiste à comparer deux à deux tous les échantillons de la population envisagée et de déterminer si la technique (ou les techniques combinées) permet de les discriminer.

Au bilan, la valeur du DP se calcule facilement à l'aide de l'équation suivante :

$$DP = \frac{(\text{nombre de paires discriminées})}{(\text{nombre de paires possibles})}$$

Le pouvoir discriminant de la spectroscopie Raman dans l'étude des fibres de coton gris/noir et bleu (Table II-2) est inférieur à celui de la MSP-Vis et UV-Vis, mais la combinaison des deux techniques apporte une plus-value indéniable au pouvoir discriminant. L'auteur encourage donc à inclure la spectroscopie Raman dans la séquence analytique, directement après la microspectrophotométrie visible. [74]

**Table II-2** : pouvoirs discriminants obtenus par Thomas [74]

	Raman 633 nm	Raman 785 nm	MSP	MSP + Raman 785 nm
Références	0,85	0,87	0,93	0,98
Street samples	/	0,80	0,83	0,96

La séquence analytique des fibres textiles est à juste titre basée sur la microscopie et la MSP, qui offrent les meilleurs pouvoirs discriminants (Table II-3). Cependant, ces deux techniques ont une faiblesse pour l'analyse des cotons rouges, là précisément où la TLC ne peut leur venir en aide, mais où la spectroscopie Raman peut aider à discriminer. De manière générale, on constate que la technique Raman est, via au moins un de ses lasers, équivalente ou meilleure à la TLC.

**Table II-3** : pouvoirs discriminants obtenus par Buzzini pour les différentes techniques d'analyse des fibres acryliques, de coton et de laine de couleurs bleue, noire et rouge [75]

	Raman				Microscopie	MSP	TLC
	514	633	785	830			
Acr. bleu	0,69	-	0,78	0,84	0,98	0,98	0,86
Acr. noir	0,52	-	0,69	0,73	0,88	0,80	0,84
Acr. rouge	0,53	-	0,69	0,73	0,96	0,92	0,75
Cot. bleu	0,70	0,60	0,65	0,65	0,94	0,93	0,56
Cot. noir	0,69	0,58	0,58	0,50	0,82	0,86	0,66
Cot. rouge	-	-	0,49	0,52	0,38	0,58	0,10
WO bleue	0,72	0,71	0,44	0,58	0,96	0,98	0,89
WO noire	0,82	0,82	0,80	0,80	0,62	0,91	0,94
WO rouge	0,27	0,20	0,94	0,93	0,86	0,98	0,83

L'intensité des zones grisées marque l'augmentation du DP > 0,60 puis > à 0,80

La comparaison des deux études montre que les DP pour les cotons bleu et noir sont assez voisins en MSP, mais différent en Raman à 785 nm. Cette différence peut s'expliquer par le nombre d'échantillons étudiés. En effet, les cotons bleu et noir ont en bonne partie les

profils Raman des colorants Reactive Black 5 et Sulphur Black 1, et constituent deux groupes forts peuplés. Ceci laisse statistiquement peu de variabilité dans un groupe de 20 échantillons par opposition à un groupe de 100 échantillons et explique par la même occasion le plus faible DP observé par Buzzini au regard de celui de Thomas.

Enfin, l'utilisation de techniques chimiométriques apporte un critère plus objectif que la comparaison visuelle des spectres et permet en outre d'augmenter considérablement le pouvoir discriminant de la spectroscopie Raman. Ce dernier évolue de 0,873 (comparaison visuelle) à 0,982 (comparaison visuelle suivie de PCA + DA) et devient équivalent à la combinaison des techniques MSP-Vis et Raman. [74]

## 2.4 RAMAN ET CHIMIOMÉTRIE

L'interprétation des spectres est depuis longtemps automatisée par l'utilisation de bases de données spectrales. L'identification sans équivoque d'un composé par son spectre Raman nécessite de posséder la référence correspondante dans la base de données et par conséquent, de disposer d'un très grand nombre de données référencées. Pour contourner les lacunes d'identification, des techniques de classement peuvent être employées pour attribuer un spectre inconnu à une ou plusieurs classes chimiques. Elles sont basées sur des critères de décision obtenus par traitements mathématiques et font partie des techniques d'analyse statistique multivariée (ou chimiométriques). [79]

En effet, un spectre peut être considéré comme un ensemble d'objets dans un espace à multiples dimensions. Chaque nombre d'onde du spectre constitue un des axes de cet espace et les intensités fournissent les coordonnées dans l'espace. Les techniques chimiométriques ont pour rôle de mettre en avant l'information chimique capable de grouper ou de distinguer des échantillons, notamment à travers la classe chimique de leur molécule. [79] Les spectre Raman sont un bon exemple de données multivariées puisqu'ils possèdent, en plus d'un grand nombre de données, d'autres caractéristiques pouvant diminuer les capacités de prédiction :

- la colinéarité des données dans un même spectre,
- le bruit spectral,
- la fluorescence,
- la variabilité des intensités entre spectres. [80]

L'analyse en composantes principales (PCA) est une technique non supervisée de réorganisation de l'information contenue dans une série de variables, elle devient particulièrement utile en présence d'un grand nombre de données comme en spectroscopie. Cette méthode se base sur la majorité de la variabilité entre les données pour définir un nouveau jeu de variables non corrélées appelées composantes principales (PC). L'usage de la PCA est avant tout de réduire la dimensionnalité des données (typiquement 1000 à 2000 points pour un spectre Raman) à moins de 20 PC dans lesquelles est concentré un très haut

pourcentage de l'information Raman spécifique. [81] En présence d'échantillons purs, le modèle PCA permet de grouper ou de différencier les échantillons (clustering) grâce aux différences spectrales mises en lumière par la PCA. [82] Ces résultats peuvent paraître attrayants [83] de prime abord mais rien dans le modèle PCA n'autorise à se fier à ce classement des échantillons. [82] Plusieurs exemples montrent que la PCA seule ne permet pas toujours de différencier des espèces moléculaires ou des mélanges de diverses origines, alors qu'appliquer une technique supervisée sur les résultats de la PCA résout ce problème en fournissant un degré de confiance sur le classement obtenu. [82,84]

L'analyse discriminante (DA) est une technique supervisée appropriée pour classer des échantillons sur base des résultats fournis par la PCA. La LDA (Linear Discriminant Analysis) a été appliquée avec succès sur des spectres Raman pour différencier des échantillons d'indigo naturel et synthétique [67], des échantillons d'ivoires [85] ou des échantillons de fibres de coton teintées. [74] L'analyse discriminante peut aussi s'appliquer sur les résultats d'une PLS (Partial Least Square) et permettre une légère amélioration du classement comme dans l'exemple de tissus adipeux. [86] Une étude comparative [87] des techniques LDA, PLS-DA et SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy) sur des spectres Raman de fluides corporels montre que les trois techniques sont équivalentes. L'analyse SIMCA se concentre sur la modélisation de chaque classe en travaillant sur des modèles PCA séparés plutôt que de trouver l'élément de classement optimal. Elle réalise une discrimination rapide entre les classes étudiées et une prédiction d'appartenance pour de nouveaux échantillons. Les techniques LDA et PLS-DA recherchent les éléments pour une discrimination optimale au sein d'un modèle global sur l'ensemble des classes. La PLS-DA tend même à montrer de possibles sous-clusters au sein de certaines classes. [87]

Les différentes études mentionnées font généralement référence à des prétraitements des spectres Raman afin d'améliorer les résultats obtenus en chimométrie. Une étude de Heraud [88] s'est focalisée sur les effets de ces prétraitements sur les résultats PLS et SIMCA. Les prétraitements étudiés sont la correction de ligne de base (Baseline Correction), la correction de la diffusion (Multiplicative Scatter Correction ou Standard Normal Variate), la dérivée première et seconde de Savitsky-Golay (First and Second Derivative). Les spectres de faible rapport signal sur bruit (pic dominant inférieur à 5000 counts) sont exclus des calculs. Les meilleurs résultats SIMCA sont obtenus sur les données brutes et une dérivée (première ou seconde) conduit aux meilleurs résultats en PLS. [88] Toutefois, il semble toujours pertinent de corriger les différences spectrales non spécifiques comme la fluorescence (par une correction de ligne de base) et la variabilité des intensités Raman (standardisation) afin de concentrer l'étude de la variabilité sur l'information chimique spécifique. [89-90] Il faut distinguer la standardisation de l'intensité arbitraire Raman du concept de normalisation qui peut parfois sous-entendre une soustraction de la moyenne, une division par l'écart-type ou encore une standardisation pouvant influencer le rapport d'intensité des pics. Ce type de prétraitement ne devient judicieux que lorsque l'information Raman des spectres est maîtrisée. [90]

La plupart des études mentionnées ont concerné des populations de spectres très voisins. En effet, les classes d'échantillons se caractérisaient souvent par un profil Raman similaire avec de faibles différences spectrales (pics minoritaires, changements de rapports d'intensités, etc.) provenant des différentes origines des échantillons ou par des profils Raman très différents dont les spectres à l'intérieur de chaque classe sont quasiment des répliques. La seule étude qui concerne des classes chimiques différentes d'échantillons dont les spectres à l'intérieur de chaque classe correspondent à des molécules différentes est celle de Vandenberghe [89], qui attribue un échantillon inconnu par calcul de la distance Euclidienne au modèle PCA global.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] C.V. Raman & K.S. Krishnan, A new type of secondary radiation, *Nature* **1928**, 121(3048), 501-502.
- [2] D.A. Long, *Raman Spectroscopy*, McGraw-Hill : Great Britain, 1977.
- [3] B. Gilbert, *Spectrométrie Raman*, Notes de cours, Université de Liège, 2005.
- [4] T.J. Dines, *Resonance Raman Theory*.  
<http://www.personal.dundee.ac.uk/~tjdines/Raman/RRTHEORY.HTM> Consulté en juin 2006.
- [5] E. Smith & G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, Chapters 4-6, J. Wiley & Sons, Ltd. : Chichester, 2005.
- [6] M. Schmitt & J. Popp, Raman spectroscopy at the beginning of the 21st century, *Journal of Raman Spectroscopy* **2006**, 37(1-3), 20-28.
- [7] P. Klaeboe, G.A. Guirgis, W. Witkowski, A. Horn & C.J. Nielsen, Vibrational spectroscopic studies, conformations and quantum chemical calculations of 3,3,3-trifluoropropyl-silane and 3,3,3-trifluoropropylsilane-*d*<sub>3</sub>, *Journal of Raman Spectroscopy* **2006**, 37(1-3), 29-51.
- [8] N. Krins, A. Rulmont, J. Grandjean, B. Gilbert, L. Lepot, R. Cloots & B. Vertruyen, Structural and electrical properties of tellurovanadate glasses containing Li<sub>2</sub>O, *Solid State Ionics* **2006**, 177(35-36), 3147-50.
- [9] K. De Wael, L. Lepot, F. Gason & B. Gilbert, In search of blood - Detection of minute particles using spectroscopic methods, *Forensic Science International* **2008**, 180(1), 37-42.
- [10] K. Virkler & I.K. Lednev, Blood species identification for forensic purposes using Raman spectroscopy combined with advanced statistical analysis, *Analytical Chemistry* **2009**, 81(18), 7773-77.
- [11] J. De Gelder, K. De Gussem, P. Vandenaabeele & L. Moens, Reference database of Raman spectra of biological molecules, *Journal of Raman Spectroscopy* **2007**, 38(9), 1133-47.
- [12] K. Virkler & I.K. Lednev, Raman spectroscopy offers great potential for the nondestructive confirmatory identification of body fluids, *Forensic Science International* **2008**, 181(1-3), 1-5.
- [13] K. Virkler & I.K. Lednev, Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene, *Forensic Science International* **2009**, 188(1-3), 1-17.
- [14] K. Virkler & I.K. Lednev, Raman spectroscopic signature of semen and its potential application to forensic body fluid identification, *Forensic Science International* **2009**, 193(1-3), 56-62.
- [15] J. Wolfe & D.L. Exline, Characterization of condom lubricant components using Raman spectroscopy and Raman chemical imaging, *Journal of Forensic Sciences* **2003**, 48(5), 1-10.
- [16] T. Coyle & N. Anwar, A novel approach to condom lubricant analysis: In-situ analysis of swabs by FT-Raman spectroscopy and its effects on DNA analysis, *Science & Justice* **2009**, 49(1), 32-40.
- [17] S. Farquharson, L. Grigely, V. Khitrov, W. Smith, J.F. Sperry & G. Fenerty, Detecting *Bacillus cereus* spores on a mail sorting system using Raman spectroscopy (pages 82-86), *Journal of Raman Spectroscopy* **2004**, 35(1), 82-86.
- [18] C. Cheng, T.E. Kirkbride, R.J. Lacey, D.N. Batchelder & T.G. Sheldon, In situ detection and identification of trace explosives by Raman microscopy, *Journal of Forensic Sciences* **1995**, 40(1), 31-37.
- [19] J. Akhavan, Analysis of high-explosive samples by Fourier transform Raman spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part A* **1991**, 47(9-10), 1247-50.
- [20] H.S. Sands, I.P. Hayward, T.E. Kirkbride, R. Bennett, R.J. Lacey & D.N. Batchelder, UV-excited resonance Raman spectroscopy of narcotics and explosives, *Journal of Forensic Sciences* **1998**, 43(3), 509-513.
- [21] E.M.A. Ali, H.G.M. Edwards, M.D. Hargreaves & I.J. Scowen, Detection of explosives on human nail using confocal Raman microscopy, *Journal of Raman Spectroscopy* **2009**, 40(2), 144-149.
- [22] E.M.A. Ali, H.G.M. Edwards & I.J. Scowen, Raman spectroscopy and security applications: the detection of explosives and precursors on clothing, *Journal of Raman Spectroscopy* **2009**, 40(12), 2009-2014.
- [23] P. Buzzini & G. Massonet, *Revue internationale de criminologie et de Police technique et scientifique* **2005**, LVIII(3), 363-379.

- [24] I.R. Lewis, N.W. Daniel, N.C. Chaffin, P.R. Griffiths & M.W. Tungol, Raman spectroscopic studies of explosive materials: towards a fieldable explosives detector, *Spectrochimica Acta Part A* **1995**, 51(12), 1985-2000.
- [25] N. Gupta & R. Dahmani, AOTF Raman spectrometer for remote detection of explosives, *Spectrochimica Acta Part A* **2000**, 56(8), 1453-56.
- [26] S.D. Harvey, M.E. Vucelick, R.N. Lee & B.W. Wright, Blind field test evaluation of Raman spectroscopy as a forensic tool, *Forensic Science International* **2002**, 125(1), 12-21.
- [27] S.E.J. Bell, D. Thornburn Burns, A.C. Dennis & J.S. Speers, Rapid analysis of ecstasy and related phenethylamines in seized tablets by Raman spectroscopy, *The Analyst* **2000**, 125(3), 541-544.
- [28] M.D. Hargreaves, K. Page, T. Munshi, R. Tomsett, G. Lynch & H.G.M. Edwards, Analysis of seized drugs using portable Raman spectroscopy in an airport environment – a proof of principle study, *Journal of Raman Spectroscopy* **2008**, 39(7), 873-880.
- [29] M.D. Hargreaves, A.D. Burnett, T. Munshi, J.E. Cunningham, E.H. Linfield, A.G. Davies & H.G.M. Edwards, Comparison of near infrared laser excitation wavelengths and its influence on the interrogation of seized drugs-of-abuse by Raman spectroscopy, *Journal of Raman Spectroscopy* **2009**, 40(12), 1974-1983.
- [30] J.S. Day, H.G.M. Edwards, S.A. Dobrowski & A.M. Voice, The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman spectroscopy I : latent fingerprints, *Spectrochimica Acta Part A* **2004**, 60(3), 563-568.
- [31] J.S. Day, H.G.M. Edwards, S.A. Dobrowski & A.M. Voice, The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman spectroscopy II : cyanoacrylate-fumed fingerprints, *Spectrochimica Acta Part A* **2004**, 60(8-9), 1725-1730.
- [32] M.J. West & M.J. Went, The spectroscopic detection of drugs of abuse on textile fibres after recovery with adhesive lifters, *Forensic Science International* **2009**, 189(1-3), 100-103.
- [33] M.R. Witkowski, The use of Raman spectroscopy in the detection of counterfeit and adulterated pharmaceutical products, *American Pharmaceutical Review* **2005**, Jan/Feb.
- [34] M. de Veij, P. Vandenabeele & L. Moens, Detection of counterfeit erectile dysfunction drugs with Raman spectroscopy, *Spectroscopy Europe* **2008**, 20(3), 7-10.
- [35] M. de Veij, P. Vandenabeele, T. De Beer, J.P. Remon & L. Moens, Reference database of Raman spectra of pharmaceutical excipients, *Journal of Raman Spectroscopy* **2009**, 40(3), 297-307.
- [36] W.D. Mazzella & P. Buzzini, Raman spectroscopy of blue gel pen inks, *Forensic Science International* **2005**, 152(2-3), 241-247.
- [37] I. Geiman, M. Leona & J.R. Lombardi, Application of Raman Spectroscopy and Surface-Enhanced Raman Scattering to the Analysis of Synthetic Dyes Found in Ballpoint Pen Inks, *Journal of Forensic Sciences* **2009**, 54(4), 947-952.
- [38] J. Zieba-Palus & M. Kunicki, Application of the micro-FTIR spectroscopy, Raman spectroscopy and XRF method examination of inks, *Forensic Science International* **2006**, 158(2-3), 164-172.
- [39] M. Claybourn & M. Ansell, Using Raman spectroscopy to solve crime : inks, questioned documents and fraud, *Science & Justice* **2000**, 40(4), 261-271.
- [40] W.D. Mazzella, A. Mathieu & P. Buzzini, Micro-Raman spectroscopy of color inkjet printed documents, *Journal of the American Society of Questioned Document Examiners* **2006**, 9(1), 1-8.
- [41] K.W.C. Poon, I.R. Dadour & A.J. McKinley, In situ chemical analysis of modern organic tattooing inks and pigments by micro-Raman spectroscopy, *Journal of Raman Spectroscopy* **2008**, 39(9), 1227-1237.
- [42] P. Buzzini, G. Massonnet & F. Monard Sermier, The micro Raman analysis of paint evidence in criminalistics : case studies, *Journal of Raman Spectroscopy* **2006**, 37(9), 922-931.
- [43] J. De Gelder, P. Vandenabeele, F. Govaert & L. Moens, Forensic analysis of automotive paints by Raman spectroscopy, *Journal of Raman Spectroscopy* **2005**, 36(11), 1059-67.
- [44] P. Vandenabeele, H.G.M. Edwards & L. Moens, A decade of Raman spectroscopy in Art and Archaeology, *Chemical Reviews* **2007**, 107(3), 675-686.
- [45] L. Lepot, S. Denoël & B. Gilbert, The technique of the mural paintings of the Tournai Cathedral, *Journal of Raman Spectroscopy* **2006**, 37(10), 1098-1103.
- [46] R.J.H. Clark, *Raman Spectroscopic Library*.  
<http://www.chem.ucl.ac.uk/resources/raman> Consulté en juin 2005.



- [47] F. Schulte, K.-W. Brzezinka, K. Lutzenberger, H. Stege & U. Panne, Raman spectroscopy of synthetic organic pigments used in 20th century works of art, *Journal of Raman Spectroscopy* **2008**, 39(10), 1455-1463.
- [48] P.L. Lang, J.E. Katon, J.F. O'Keefe & D.W. Schiering, The identification of fibers by infrared and Raman microspectroscopy, *Microchemical Journal* **1986**, 34(3), 319-331.
- [49] L.-L. Cho, Identification of textile fiber by Raman microspectroscopy, *Forensic Science Journal* **2007**, 6(1), 55-62.
- [50] I.P. Keen, G.W. White & P.M. Fredericks, Characterization of fibers by Raman microprobe spectroscopy, *Journal of Forensic Sciences* **1998**, 43(1), 82-89.
- [51] J.V. Miller & E.G. Bartick, Forensic analysis of single fibers by Raman spectroscopy, *Applied Spectroscopy* **2001**, 55(12), 1729-1732.
- [52] H.G.M. Edwards, W. Farwell & A.C. Williams, FT-Raman spectrum of cotton : a polymeric biomolecular analysis, *Spectrochimica Acta Part A* **1994**, 50(4), 807-811.
- [53] A.H. Kupstov, Applications of Fourier transform Raman spectroscopy in forensic science, *Journal of Forensic Sciences* **1994**, 39(2), 305-318.
- [54] Y. Liu, S. Kokot & T.J. Sambhi, Vibrational spectroscopic investigation of Australian cotton cellulose fibres – Part 1 A Fourier transform Raman study, *The Analyst* **1998**, 123(4), 633-636.
- [55] C. Paris & C. Coupry, Fourier transform Raman spectroscopic study of the first cellulose-based artificial materials in heritage, *Journal of Raman Spectroscopy* **2005**, 36(1), 77-82.
- [56] J.S. Church, A.S. Davie, D.W. James, W.-H. Leong & D.J. Tucker, New cell for the Fourier transform Raman analysis of fiber and textile samples, *Applied Spectroscopy* **1994**, 48(7), 813-817.
- [57] J.R. Durig, W.M. Zunic, T.G. Costner & G.A. Guirgis, Fourier transform Raman spectroscopy of brightly colored commercially available dyestuffs and pigments, *Journal of Raman Spectroscopy* **1993**, 24(5), 281-285.
- [58] N.C. Scherrer, S. Zumbuehl, F. Delavy, A. Fritsch & R. Kuehnen, Synthetic organic pigments of the 20th and 21st century relevant to artist's paints : Raman spectra reference collection, *Spectrochimica Acta Part A* **2009**, 73(3), 505-524.
- [59] P. Vandenebee, L. Moens, H.G.M. Edwards & R. Dams, Raman spectroscopic database of azo pigments and application to modern art studies, *Journal of Raman Spectroscopy* **2000**, 31(6), 509-517.
- [60] A.J. Barnes, M.A. Majid, M.A. Stuckey, P. Gregory & C.V. Stead, The resonance Raman spectra of Orange II and para Red : molecular structure and vibrational assignment, *Spectrochimica Acta Part A* **1985**, 41(4), 629-635.
- [61] C.H. Munro, W.E. Smith & P.C. White, Qualitative and semi-quantitative trace analysis of acidic monoazo dyes by surface enhanced resonance Raman scattering, *The Analyst* **1995**, 120(4), 993-1003.
- [62] N. Everall, An investigation of the potential of near-IR Raman spectroscopy for recording non-resonance Raman spectra of azo dyes, *Spectrochimica Acta Part A* **1993**, 49(5-6), 727-730.
- [63] D. Bourgeois & S.P. Church, Studies of dyestuffs in fibres by Fourier transform Raman spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part A* **1990**, 46(2), 295-301.
- [64] G. Jochem & R.J. Lehnert, On the potential of Raman microscopy for the forensic analysis of coloured textile fibres, *Science & Justice* **2002**, 42(4), 215-221.
- [65] S. Kokot, N.A. Tuan & L. Rintoul, Discrimination of reactive dyes on cotton fabric by Raman spectroscopy and chemometrics, *Applied Spectroscopy* **1997**, 51(3), 387-395.
- [66] C. Coupry, G. Sagon & P. Gorguet-Ballesteros, Raman spectroscopic investigation of blue contemporary textiles, *Journal of Raman Spectroscopy* **1997**, 28(2-3), 85-89.
- [67] P. Vandenebee & L. Moens, Micro-Raman spectroscopy of natural and synthetic indigo samples, *The Analyst* **2003**, 128(2), 187-193.
- [68] T. Karapanayiotis, S.E. Jorge Vilar, R.D. Bowen & H.G.M. Edwards, Raman spectroscopic and structural studies of indigo and its four 6,6'-dihalogeno analogues, *The Analyst* **2004**, 129(7), 613-618.
- [69] J. Thomas, P. Buzzini, G. Massonnet, B. Reedy & C. Roux, Raman spectroscopy and the forensic analysis of black/grey and blue cotton fibres – Part 1. Investigation of the effects of varying laser wavelength, *Forensic Science International* **2005**, 152(7), 189-197.

- [70] G. Massonnet, P. Buzzini, G. Jochem, M. Stauber, T. Coyle, C. Roux, J. Thomas, H. Leijenhorst, Z. Van Zanten, K. Wiggins, C. Russell, S. Chabli & A. Rosengarten, Evaluation of Raman spectroscopy for the analysis of colored fibers : A collaborative study, *Journal of Forensic Sciences* **2005**, 50(5), 1-11.
- [71] F. Salpin, F. Trivier, S. Lecomte & C. Coupry, A new quantitative method : non-destructive study by Raman spectroscopy of dyes fixed on wool fibres, *Journal of Raman Spectroscopy* **2006**, 37(12), 1403-1410.
- [72] C.L. Brosseau, A. Gambardella, F. Casadio, C.M. Grzywacz, J. Wouters & R.P. Van Duyne, Ad-hoc surface-enhanced Raman spectroscopy methodologies for the detection of artist dyestuffs : Thin layer chromatography-surface enhanced Raman spectroscopy and in situ on the fiber analysis, *Analytical Chemistry* **2009**, 81(8), 3056-3062.
- [73] P.C. White, C.H. Munro & W.E. Smith, In situ surface enhanced resonance Raman scattering analysis of a reactive dye covalently bound to cotton, *The Analyst* **1996**, 121(6), 835-838.
- [74] J. Thomas, *Raman Spectroscopy for the Forensic Examination of Reactively Dyed Cotton*, PhD Thesis in Science, University of Technology Sydney, 2006.
- [75] P. Buzzini, *L'application de la spectroscopie Raman en criminalistique pour l'analyse du colorant des fibres textiles en acrylique, coton et laine*, Thèse de doctorat en sciences forensiques, Université de Lausanne, 2007.
- [76] S. Langdon, *The Evidential Value of Textile Fibres in Criminal Investigations*, University of Technology Sydney, 2003.
- [77] M.T. Webb-Salter & K. Wiggins, *Aids to Interpretation*, in J. Robertson & M. Grieve, *Forensic Examination of Fibres*, 2<sup>nd</sup> ed., Taylor & Francis, Ed. : London, 1999.
- [78] K. Smalldon & A. Moffat, The calculation of discriminating power for a series of correlated attributes, *Journal of the Forensic Science Society* **1973**, 13(4), 291-295.
- [79] W.O. George & D. Steele, *Computing Applications in Molecular Spectroscopy*, Chapter 6, The Royal Society of Chemistry : Cambridge, 1995.
- [80] T. Howley, M.G. Madden, M.-L. O'Connell & A.G. Ryder, *The effect of principal component analysis on machine learning accuracy with high dimensional spectral data*.  
[http://www.it.nuigalway.ie/m\\_madden/profile/pubs/kbs-2006b.pdf](http://www.it.nuigalway.ie/m_madden/profile/pubs/kbs-2006b.pdf) Consulté en août 2010.
- [81] A.M.C. Davies & T. Fearn, Back to basics: the principles of principal component analysis, *Spectroscopy Europe* **2004**, 16(6), 20-23.
- [82] A.M.C. Davies & T. Fearn, Back to basics: when you need more than principal component analysis, *Spectroscopy Europe* **2005**, 17(4), 37-39.
- [83] K.Y. Noonan, L.A. Tonge, O.S. Fenton, D.B. Damiano & K.A. Frederick, Rapid classification of simulated street drug mixtures using Raman spectroscopy and principal component analysis, *Applied Spectroscopy* **2009**, 63(7), 742-747.
- [84] M. Hedegaard & S. Hassing, Application of Raman dispersion spectroscopy in 3-way multivariate data analysis, *Journal of Raman Spectroscopy* **2008**, 39(4), 478-489.
- [85] R.H. Brody, H.G.M Edwards & A.M. Pollard, Chemometric methods applied to the differentiation of Fourier-transform Raman spectra of ivories, *Analytica Chimica Acta* **2001**, 427(2), 223-232.
- [86] J.R. Beattie, S.E.J. Bell, C. Borggaard, A.M. Fearon & B.W. Moss, Classification of adipose tissue species using Raman spectroscopy, *Lipids* **2007**, 42(7), 679-685.
- [87] V. Sikirzhyski, K. Virkler & I.K. Lednev, Discriminant analysis of Raman spectra for body fluid identification for forensic purposes, *Sensors* **2010**, 10(4), 2869-84.
- [88] P. Heraud, B.R. Wood, J. Beardall & D. McNaughton, Effects of pre-processing of Raman spectra on in vivo classification of nutrient status of microalgal cells, *Journal of Chemometrics* **2006**, 20(5), 193-197.
- [89] P. Vandenabeele, A. Hardy, H.G.M. Edwards & L. Moens, Evaluation of a principal components-based searching algorithm for Raman spectroscopic identification of organic pigments in 20th century artwork, *Applied Spectroscopy* **2001**, 55(5), 525-533.
- [90] J.R. Beattie, J.V. Glenn, M.E. Boulton, A.W. Stitt & J.J. McGarvey, Effect of signal intensity normalization on the multivariate analysis of spectral data in complex 'real-world' datasets, *Journal of Raman Spectroscopy* **2009**, 40(4), 429-435.