



**HAL**  
open science

# Imagerie et spectroscopie de nanoparticules d'or en microscopie optique plein champ

Emilie Motel Absil

► **To cite this version:**

Emilie Motel Absil. Imagerie et spectroscopie de nanoparticules d'or en microscopie optique plein champ. Optique [physics.optics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2009. Français. NNT : . pastel-00558468

**HAL Id: pastel-00558468**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00558468>**

Submitted on 21 Jan 2011

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE  
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

Spécialité

**Physique – Instrumentation Optique**

Ecole doctorale 391 : S.M.A.E.

Présentée par

**Mme Emilie Motel Absil**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE – Paris VI**

Sujet de la thèse :

**IMAGERIE ET SPECTROSCOPIE DE NANOPARTICULES D'OR EN MICROSCOPIE OPTIQUE PLEIN CHAMP**

soutenue le 28 janvier 2009

devant le jury composé de :

Mme. Danièle Fournier	Directrice de thèse
M. Benoît C. Forget	Rapporteur
M. Pascal Picart	Rapporteur
M. Fabrice Vallée	Examineur
Mme. Agnès Maître	Examinatrice
M. Gilles Tessier	Examineur



---

# Table des matières

---

<b>Remerciements</b>	<b>v</b>
<b>Résumé</b>	<b>vii</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>ix</b>
<b>I Diffusion et absorption de la lumière par de petites particules métalliques</b>	<b>1</b>
I.1 Notions élémentaires pour aborder un problème de diffusion et d'absorption de la lumière par de petites particules . . . . .	3
I.1.1 Approche qualitative des phénomènes de diffusion et d'absorption	3
I.1.2 Approche intuitive du rapport intensité de lumière diffusée sur intensité de lumière incidente . . . . .	5
I.1.3 Conclusion . . . . .	6
I.2 Permittivité diélectrique d'un matériau métallique et résonance de plasmons de surface . . . . .	7
I.2.1 Permittivité diélectrique d'un matériau . . . . .	7
I.2.1.1 Modèle de Lorentz : cas d'un matériau quelconque . .	7
I.2.1.2 Modèle de Drude : cas des métaux . . . . .	8
I.2.1.3 permittivité des métaux nobles . . . . .	10
I.2.2 Résonance de plasmons de surface localisés . . . . .	12
I.2.3 Conclusion . . . . .	13
I.3 Diffusion et absorption de la lumière par une particule quelconque . .	13
I.3.1 Introduction aux notions d'extinction, d'absorption et de diffusion	14
I.3.2 Notions de puissances d'extinction, d'absorption et de diffusion	14
I.3.3 Caractérisation du champ électromagnétique incident . . . . .	16
I.3.4 Expressions des puissances d'extinction, d'absorption et de diffusion en fonction du champ électromagnétique associé . . . . .	17
I.3.5 Notions de sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion . . . . .	19
I.3.6 Cas d'une polarisation quelconque . . . . .	19
I.3.7 Conclusion . . . . .	20

I.4	Diffusion et absorption par une particule sphérique . . . . .	20
I.4.1	Théorie de Mie . . . . .	20
I.4.2	Théorie de Rayleigh . . . . .	22
I.4.3	Théorie de Mie en régime dipolaire : Approximation électrostatique . . . . .	23
I.4.4	Conclusion . . . . .	25
I.5	Influence de la permittivité et de la dimension de la particule sur les sections efficaces . . . . .	25
I.5.1	Influence des permittivités du milieu et de la particule dans les sections efficaces . . . . .	26
I.5.2	Cas de particules dont le rayon tend vers zéro : Réduction du libre parcours moyen . . . . .	27
I.5.3	Conclusion . . . . .	28
I.6	Conclusion . . . . .	28
<b>II</b>	<b>Microscopie synchrone multiplexée</b>	<b>31</b>
II.1	La microscopie optique : principe, limites et état de l'art . . . . .	32
II.1.1	Description succincte du principe de fonctionnement . . . . .	32
II.1.2	Notions de grandissement . . . . .	35
II.1.2.1	Grandissement transversal . . . . .	35
II.1.2.2	Grandissement axial . . . . .	36
II.1.3	Limite de diffraction et conséquences pour la résolution . . . . .	37
II.1.3.1	Réponse transversale : tache d'Airy . . . . .	37
II.1.3.2	Résolution transversale . . . . .	39
II.1.3.3	Réponse axiale . . . . .	41
II.1.3.4	Résolution axiale . . . . .	42
II.1.4	Conclusion sur la microscopie . . . . .	44
II.2	La détection synchrone multiplexée . . . . .	45
II.2.1	La détection synchrone monocanal . . . . .	45
II.2.2	Extension au capteur CCD . . . . .	49
II.2.2.1	Principe de la détection synchrone multiplexée . . . . .	49
II.2.2.2	Capteur CCD et bruits associés . . . . .	52
II.2.3	Atténuation des différentes sources de bruits grâce à la détection synchrone multiplexée . . . . .	56
<b>III</b>	<b>Imagerie et Spectroscopie de nanoparticules d'or avec modulation spatiale de l'échantillon</b>	<b>59</b>
III.1	Imagerie plein champ de nanoparticules d'or . . . . .	62
III.1.1	Imagerie en illumination incohérente . . . . .	63
III.1.1.1	Echantillon à substrat opaque : Illumination incohérente en fond noir . . . . .	63
III.1.1.2	Echantillon à substrat transparent : Illumination incohérente guidée dans le substrat . . . . .	68
III.1.2	Imagerie en illumination cohérente laser . . . . .	76

---

---

III.1.2.1	De l'intérêt de l'imagerie cohérente par rapport à l'imagerie incohérente . . . . .	76
III.1.2.2	Dispositif expérimental . . . . .	77
III.1.2.3	Comparaison des puissances des signaux en fonction de la source utilisée en illumination guidée . . . . .	78
III.1.2.4	Limite de sensibilité du dispositif : Images de particules de 10 nm de diamètre . . . . .	79
III.1.2.5	Loi de variation de puissance du signal mesuré en fonction du diamètre de la particule . . . . .	80
III.1.3	Conclusion sur l'imagerie . . . . .	82
III.2	Spectroscopie de nanoparticules individuelles . . . . .	84
III.2.1	Dispositif expérimental . . . . .	84
III.2.2	Spectres expérimentaux et comparaison avec les sections efficaces simulées . . . . .	85
III.2.2.1	Etalonnage en longueur d'onde du dispositif expérimental . . . . .	86
III.2.2.2	Spectre de la lampe à arc xénon . . . . .	86
III.2.2.3	Spectres de nanoparticules d'or individuelles . . . . .	86
III.2.3	Conclusion sur la spectroscopie . . . . .	89
III.3	Conclusion . . . . .	89
<b>IV</b>	<b>Holographie numérique hétérodyne : principes</b>	<b>93</b>
IV.1	Holographie analogique . . . . .	94
IV.1.1	Enregistrement d'un hologramme . . . . .	95
IV.1.2	Reconstruction holographique . . . . .	96
IV.1.3	Holographie hors axe . . . . .	97
IV.1.4	Conclusion sur l'holographie analogique . . . . .	101
IV.2	Holographie numérique . . . . .	101
IV.2.1	Effet de la discrétisation du support d'enregistrement . . . . .	102
IV.2.2	Principe d'enregistrement et de lecture de l'hologramme . . . . .	104
IV.2.3	Suppression des ordres de diffraction parasites . . . . .	106
IV.2.3.1	Holographie numérique hors axe et filtrage spatial . . . . .	106
IV.2.3.2	Décalage de phase de la référence, Détection hétérodyne	108
IV.2.3.3	Bruit des deux techniques et conclusion . . . . .	113
IV.2.4	Conclusion sur l'holographie numérique . . . . .	114
IV.3	Conclusion . . . . .	114
<b>V</b>	<b>Imagerie 3D de nanoparticules d'or par holographie numérique</b>	<b>117</b>
V.1	Imagerie 3D de nanoparticules en holographie numérique hétérodyne hors axe . . . . .	118
V.1.1	Schéma et principe de l'instrument . . . . .	119
V.1.1.1	Ajustement en puissance des ondes signal et de référence	120
V.1.1.2	Holographie . . . . .	120

---

V.1.1.3	Configuration hors axe et filtrage spatial dans l'espace de Fourier . . . . .	121
V.1.1.4	Modulation de la figure d'interférence et détection synchrone multiplexée . . . . .	121
V.1.1.5	Utilité de la défocalisation de l'onde signal . . . . .	121
V.1.2	Etude de la reconstruction d'une image . . . . .	122
V.1.2.1	Analyse de l'image dans l'espace de Fourier . . . . .	123
V.1.2.2	Filtrage spatial et <i>zero padding</i> . . . . .	125
V.1.3	Etude du diagramme de diffusion en volume d'une particule de 200 nm . . . . .	127
V.1.4	Performances du dispositif . . . . .	129
V.1.4.1	De l'intérêt de la modulation de la figure d'interférence	130
V.1.4.2	De l'intérêt du filtrage spatial . . . . .	131
V.1.4.3	Comparaison d'images de microscopie classique et d'holographie . . . . .	133
V.1.4.4	Images de particules de diamètre respectif 200, 100 et 50 nm . . . . .	135
V.1.5	Conclusion sur l'holographie hétérodyne hors axe . . . . .	135
V.2	Imagerie holographique photothermique 3D de nano-particules . . . . .	137
V.2.1	Effet photothermique . . . . .	138
V.2.2	Dispositif expérimental d'holographie numérique photothermique	140
V.2.3	Imagerie 3D de nanoparticules d'or de 50 nm . . . . .	142
V.2.3.1	Imagerie 3D plein champ . . . . .	142
V.2.3.2	Analyse du signal photothermique . . . . .	145
V.2.3.3	Conclusion . . . . .	151
V.2.4	Performances du dispositif . . . . .	151
V.2.5	Conclusion sur l'holographie photothermique . . . . .	153
V.3	Conclusion . . . . .	153
<b>Conclusion et perspectives</b>		<b>155</b>
<b>Annexe 1 : Fabrication des échantillons de nanoparticules d'or isolées disposées en film mince</b>		<b>159</b>
.1	Nettoyage des lames de verre . . . . .	159
.2	Nanoparticules d'or industrielles . . . . .	160
.3	Matrice d'alcool polyvinyle (PVA) . . . . .	160
.4	Spin-coating et conservation des échantillons . . . . .	160
<b>Annexe 2 : Documentation caméra Ropper Cascade 512F</b>		<b>163</b>

---

# Remerciements

---

Le travail de thèse de doctorat présenté dans ce mémoire a été effectué au sein du Laboratoire d'Optique Physique de l'Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielles entre 2005 et 2008. J'adresse mes remerciements au ministère de l'éducation nationale et le Centre National de la Recherche Scientifique pour m'avoir financé durant ces trois années. Je remercie également Danièle Fournier et Jérôme Lesueur, directeurs du laboratoire, et Sophie Demonchaux, secrétaire de direction, pour m'avoir respectivement accepté et accueilli chaleureusement au sein du laboratoire.

Je tiens à remercier très sincèrement Gilles Tessier pour ses qualités humaines et ses compétences scientifiques dont il m'a fait profiter au quotidien. Je remercie à nouveau Danièle Fournier, en tant que directrice de thèse, pour son approche scientifique expérimentée et ses conseils avisés.

Je remercie messieurs : les rapporteurs

Je remercie aussi mes autres collaborateurs : Michel Gross du Laboratoire Kastler Brossel de l'Ecole Normale Supérieure et Michael Atlan, électron libre, qui m'ont inculqué les bases de l'holographie numérique hétérodyne, tant du point de vue théorique qu'expérimental. Sébastien Janel et Rabah Boukherroub de l'Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologie pour les échantillons de plots d'or sur silicium faits sur mesure.

Je souhaite également remercier chaleureusement tous les membres du laboratoire avec qui j'ai pu interagir, tant sur le plan professionnel que sur le plan humain. Grâce à vous tous, ces trois années se sont déroulées dans un climat agréable et convivial. A Sophie et Paul-Arthur, un grand merci !

J'éprouve une infinie reconnaissance envers mon mari et mes enfants qui ont supporté mes états de doute et de fatigue et qui ont su trouver les mots et les gestes pour me redonner confiance. Enfin, je remercie mes parents, mes frères et soeur et amis proches qui ont partagé mes joies et mes peines.



---

# Résumé

---

Au cours de ce travail de thèse, nous avons développé une nouvelle thématique de recherche au sein du laboratoire d'Optique Physique consistant en la détection et la caractérisation de nanoparticules métalliques en microscopie optique plein champ. Dès les années 2000, l'étude optique des nanoparticules en métaux nobles a pris son essor dans la communauté scientifique internationale. En étudiant les instruments déjà développés (imagerie à balayage par modulation spatiale de l'échantillon) et en les combinant aux acquis techniques du laboratoire (détection synchrone multiplexée), nous avons développé un premier instrument d'imagerie de nano-objets en or en microscopie optique plein champ.

Pour ce premier instrument, la position de l'échantillon est modulée dans le plan perpendiculaire à l'axe optique par un modulateur piézo-électrique alimenté sinusoïdalement et la lumière diffusée par les nano-objets est détectée par une caméra CCD synchronisée avec la fréquence de modulation. Le signal ainsi détecté est démodulé pour obtenir des images en amplitude. Suivant que le substrat de l'échantillon est opaque (nano-plots d'or sur silicium obtenus par lithographie électronique) ou transparent (nano-particules d'or en solution dans de l'alcool polyvinyle (PVA) étalée par spin coating sur une lame de verre), les nano-objets sont respectivement éclairés en illumination fond noir ou guidée. Deux types de sources sont implémentées : une source incohérente pour la caractérisation spectrale des nanoparticules et un laser à  $\lambda = 532$  nm, dans la bande de résonance plasmon de l'or, pour optimiser la détection en terme de puissance diffusée et de sélectivité.

Afin de détecter les nanoparticules d'or en trois dimensions, nous avons développé un deuxième instrument basé sur le principe de l'holographie numérique hétérodyne et intégré dans un microscope commercial. Dans ce dispositif, le faisceau émis par une source cohérente est scindé en deux pour former un faisceau de référence, ou oscillateur local, et un faisceau sonde, diffusé par l'échantillon. Ces deux faisceaux secondaires voient leur fréquence optique décalée d'une fréquence  $\Delta f$  l'une par rapport à l'autre et interfèrent dans le plan de la caméra pour former un hologramme battant à la fréquence  $\Delta f$ . Le signal ainsi modulé est acquis puis démodulé via le pro-

cessus de détection synchrone multiplexée, qui permet, dans le cas de l'holographie hétérodyne, de supprimer les ordres de diffraction parasites 0 et -1 de l'hologramme pour ne conserver que l'ordre +1 contenant l'information pertinente. Le plan image est reconstruit en effectuant la transformée de Fourier inverse de l'hologramme filtré spatialement puis propagé numériquement dans l'espace de Fourier. Ainsi, à partir d'une acquisition, il est possible d'obtenir le diagramme de diffusion en trois dimensions d'un objet nanométrique et de localiser en trois dimensions plusieurs objets.

Dans une première version du dispositif, l'illumination cohérente est située dans la bande de résonance plasmon de l'or afin d'optimiser la puissance lumineuse diffusée par les particules. Dans une seconde version, nous utilisons un effet photothermique. L'illumination holographique est alors décalée vers le rouge ( $\lambda = 785 \text{ nm}$ ) et les particules, absorbant la lumière provenant d'un second laser à  $\lambda = 532 \text{ nm}$  modulé à  $F$  et de forte puissance, chauffent et créent dans leur voisinage immédiat une sphère d'indice modulée en raison de la variation de température. La puissance diffusée, augmentée grâce aux dimensions micrométriques de la sphère d'indice, est modulée et donc détectée via le processus de détection synchrone multiplexée en décalant les fréquences optiques des faisceaux sonde et référence d'une fréquence  $\Delta f + F$ .

En parallèle à la mise en place des instruments expérimentaux, des simulations numériques de la diffusion et l'absorption de la lumière basées sur les théories de Mie et Rayleigh ont été développées en y implémentant les caractéristiques spécifiques des échantillons et des dispositifs expérimentaux en termes d'illumination (angle d'incidence, caractéristique spectrale) et de détection de la lumière (angle de collection, rendement quantique de la caméra en fonction de la longueur d'onde). Ces simulations nous ont permis d'évaluer théoriquement les puissances diffusées et absorbées et de les comparer aux résultats expérimentaux en fonction de divers paramètres expérimentaux.

---

# Introduction générale

---

La microscopie électronique et la microscopie optique en champ proche, en raison de leur fort pouvoir de résolution, sont couramment utilisées pour imager et caractériser des objets de dimensions nanométriques [1]. Cependant, ces deux techniques sont astreignantes expérimentalement. Ainsi, la microscopie électronique nécessite d'opérer dans un environnement sous vide poussé et la microscopie en champ proche, dont la réalisation et la manipulation sont complexes, ne permet pas d'imager d'objets en mouvement. En raison de son utilisation simple et des faibles contraintes environnementales, la microscopie optique en champ lointain offre une bonne alternative pour la détection et la caractérisation de nano-objets (ou marqueurs optiques) dans la mesure où il est possible de caractériser l'objet via ses propriétés optiques et de détecter sa présence même si l'image n'est pas résolue.

Les marqueurs optiques les plus courants sont les marqueurs fluorescents car leur fluorescence décalée vers les faibles longueurs d'onde peut être extraite très efficacement du fond diffusant [2]. Cependant, leur principal inconvénient est le photoblanchiment, c.à.d. les processus photochimiques irréversibles transformant des fluorophores excités en objets non fluorescents.

Des nanocristaux semiconducteurs, ou *quantum dots*, ont été proposés comme marqueurs optiques [3, 4]. Bien qu'ils résistent plus longtemps au blanchiment que les marqueurs fluorescents, leur intensité lumineuse est susceptible de "clignoter" [5].

Les particules métalliques de dimensions nanométriques ne clignotent pas ni ne photoblanchissent. Ainsi, elles présentent des propriétés intéressantes comme marqueurs optiques lorsqu'on exploite leur propriété de diffusion et d'absorption.

La théorie générale sur la diffusion et l'absorption de la lumière par une petite particule sphérique a été développée G. Mie au début du  $XX^e$  siècle [6, 7]. La section efficace de diffusion d'une particule de rayon  $a$ , petit devant la longueur d'onde  $\lambda$  de la lumière (ou plus exactement tel que  $2\pi a \ll \lambda$ ), varie comme  $a^6$ , alors que sa section efficace d'absorption varie en  $a^3$  seulement.

Par ailleurs, les particules nanométriques en métaux nobles présentent des propriétés physiques différentes de leur équivalent massif. En effet, ce sont des systèmes com-

plexes denses en électrons libres et de susceptibilité élevée. La réduction de la taille et le confinement quantique des électrons et des phonons donnent naissance à de nouveaux effets, potentiellement ajustables avec la taille et la forme de la particule, tels que l'interaction forte du mode plasmon collectif avec les ondes optiques.

En raison de ces effets, les nanoparticules métalliques sont intensivement étudiées en physique fondamentale et utilisées comme sondes de propriétés locales ou comme marqueurs biologiques. Elles sont ainsi utilisées dans de nombreux domaines technologiques comme les dispositifs sub-longueur d'onde [8,9], l'optique non linéaire [10–12], le stockage de données optique [13], la spectroscopie [14] et la catalyse [15] à exaltation de surface et le marquage biologique [16,17].

Traditionnellement, les études d'absorption et de diffusion optique par des nanoparticules métalliques ont été réalisées sur de grands ensembles [18–20] ce qui induit un moyennage des données sur les distributions de taille, de forme et de défauts structuraux (inévitables même avec les meilleures techniques de synthèse), ainsi que sur de possibles effets d'interactions entre particules. En travaillant sur des échantillons suffisamment dilués, il est possible d'étudier des particules de manière individuelle en microscopie optique en champ lointain, évitant ainsi tout effet de moyennage sur les distributions.

Dans ce sens, différents instruments de détection et/ou de caractérisation de nanoparticules de métaux nobles ont été développées ces dernières années. La manière la plus simple d'imager optiquement des nanoparticules métalliques est de détecter la lumière qu'elles diffusent [21], soit vers l'avant, soit vers l'arrière ou encore latéralement par rapport au faisceau incident. Cette dernière méthode d'illumination, dite de type fond noir, est la plus fréquemment utilisée car la lumière d'excitation n'atteint pas le détecteur. Cela permet d'utiliser toute la dynamique du détecteur pour mesurer le faible signal de diffusion provenant des nanoparticules qui apparaissent alors sur un fond noir. Pour obtenir ce type d'illumination, il est possible d'utiliser un dispositif fond noir inséré dans un microscope [22,23] ou d'illuminer les nanoparticules en réflexion totale interne (RTI) [24–26]. Dans le cas du dispositif en fond noir, l'angle de la lumière incidente est supérieur à l'angle d'acceptance de l'objectif d'imagerie et la lumière d'excitation n'est ainsi pas collectée. Pour la réflexion totale interne, le champ incident est totalement réfléchi à l'interface où sont déposées les nanoparticules. Le champ évanescence créé à cette interface est converti en champ propagatif pouvant atteindre le détecteur uniquement si un objet diffusant, comme une nanoparticule, est présent à l'interface.

Il est possible d'optimiser la détection de nanoparticules en les illuminant à leur longueur d'onde de résonance plasmon. La sélectivité envers les nanoparticules est ainsi fortement accrue et il est possible de détecter des particules aussi petites que quelques dizaines de nanomètres [16,22,24].

Dans le cas d'une illumination incohérente, le spectre de la lumière diffusée, intéressant en raison de la résonance de plasmons de surface, peut être mesuré à l'aide d'un spectromètre ou d'un spectromètre imageur. Sachant grâce à la théorie de Mie que la résonance plasmon dépend de la taille de la particule et de l'indice de réfraction

du milieu environnant, il est possible de distinguer différentes tailles de particules en étudiant la couleur de la lumière diffusée [23, 24, 27, 28] ou bien d'utiliser les nanoparticules comme sondes locales de leur milieu environnant [17, 25]. L'environnement local peut également être modifié par la présence d'une seconde particule, induisant des interactions en champ proche entre particules métalliques [26, 29–31]. Des revues complètes des applications biophysiques des résonances plasmon ont été effectuées par Haes *et al.* [32] et par Schultz [33].

Le principal inconvénient des méthodes basées sur la diffusion est que l'intensité diffusée décroît très rapidement avec la taille de la particule. Le champ diffusé étant proportionnel au volume de la particule, l'intensité décroît en  $a^6$  et, malgré le fort contraste d'indice optique entre le métal et son environnement, la diffusion d'une particule individuelle de diamètre inférieur à 30 nm ne peut pas être distinguée de celle d'autres diffuseurs parasites souvent nombreux.

Ainsi, la plupart des méthodes proposées récemment pour étudier des nanoparticules individuelles reposent sur une détection du champ (et non de l'intensité) diffusé par la particule, qui décroît seulement comme  $a^3$ , par le biais de techniques interférométriques. Le champ diffusé interfère alors avec un champ de référence de même longueur d'onde et de forte intensité.

En pratique, cette interférence peut être assurée de différentes manières. L'onde de référence peut être l'onde incidente elle-même en transmission [34] ou en réflexion [27, 35, 36], ou l'onde auxiliaire d'un dispositif de type contraste interférentiel différentiel (DIC) [37] ou de type de Michelson [38]. L'onde diffusée peut être produite par la nanoparticule elle-même ou peut résulter d'une modification locale d'indice de réfraction liée à la présence de la particule. Ainsi, une inhomogénéité peut être induite par la chaleur que dégage une particule sous l'effet de l'absorption d'un faisceau d'excitation indépendant du dispositif interférométrique. Ce type d'inhomogénéité est classiquement détectée en imagerie photothermique hétérodyne [36, 37, 39] ou via un dispositif pompe-sonde [40]. Notons que les mesures d'extinction [31, 34] sont parfaitement équivalentes aux mesures interférométriques dans la mesure où l'absorption résulte de l'interférence entre l'onde incidente et l'onde diffusée vers l'avant, comme expliqué par le théorème optique [7, 41, 42].

Il existe différentes manières de détecter de petites variations d'intensité. La plus courante est de moduler le signal à détecter, par exemple en modulant la position de l'échantillon [28, 34, 43] ou en modulant l'intensité du faisceau absorbé en photothermie [36, 37, 40].

La plupart des techniques sensibles basées sur une modulation du signal utilisent un détecteur unique (photodiode) associé à une détection synchrone. L'image est formée par balayage de la surface de l'échantillon. Ces détecteurs à très grande dynamique autorisent une forte puissance incidente sur l'échantillon. Cependant, avec ce type d'imagerie, le bruit temporel de la lumière incidente est converti en bruit spatial dans l'image au cours du balayage [44]. Par ailleurs, le processus de balayage nécessite un temps relativement long, à peine inférieur au temps d'acquisition des premières techniques d'imagerie vidéo par intégration de la lumière sur plusieurs centaines de

secondes [45].

Dans ce contexte, nous souhaitons développer des instruments permettant l'imagerie et la spectroscopie de nanoparticules d'or individuelles avec une matrice de détecteurs afin de moyennner les variations d'intensité de la source au cours de l'acquisition rapide. Pour optimiser la sensibilité de ces instruments, ils reposent tous sur une modulation de l'intensité du signal détectée par la caméra et sont couplés à un mécanisme de détection synchrone multiplexée permettant d'extraire le signal modulé sur l'ensemble des pixels de la caméra simultanément. La modulation du signal se fait soit par une modulation de la position de l'échantillon [34], soit par un décalage en fréquence optique entre les deux bras d'un interféromètre [46] ou encore par modulation en amplitude d'un faisceau de chauffe comme pour la méthode photothermique [39]. Avec les techniques que nous avons développées, nous abordons les trois modes de détection que sont les mesures de l'intensité ( $a^6$ ) et du champ ( $a^3$ ) diffusé par la particule, ainsi que la mesure de la diffusion thermo-induite par la présence d'une particule chauffée par absorption de lumière, les échantillons étant toujours illuminés dans une configuration de type fond noir.

Dans le premier chapitre, nous exposons les principes physiques régissant la diffusion et l'absorption de la lumière par de petites particules métalliques en vue de définir les sections efficaces en fonction des paramètres caractéristiques que sont le diamètre de la particule, la longueur d'onde et la permittivité diélectrique de la particule et de son milieu environnant. Dans le deuxième chapitre, nous introduisons les notions élémentaires de microscopie ainsi que le principe de la détection synchrone multiplexée qui nous seront utiles par la suite pour la description des instruments. Dans le troisième chapitre nous présentons le premier instrument développé permettant l'imagerie plein champ et la spectroscopie de nanoparticules d'or en utilisant une modulation spatiale de l'échantillon couplée à une détection synchrone multiplexée. Pour cet instrument de microscopie optique, les nanoparticules d'or sont illuminées de manière incohérente ou cohérente (dans la bande de résonance plasmon de l'or) dans une configuration fond noir ou en illumination guidée dans le substrat. Comme le second instrument d'imagerie développé est basé sur l'holographie, dans le quatrième chapitre, nous exposons les principes élémentaires de l'holographie classique et numérique. Enfin dans le dernier chapitre, nous présentons le second instrument développé au cours de cette thèse qui permet l'imagerie de nanoparticules d'or en trois dimensions à l'aide d'un dispositif d'holographie numérique hétérodyne intégré à un microscope commercial et utilisé d'abord de manière standard, puis couplé à un effet photothermique modulé, lié à l'absorption de la lumière par les particules d'or.

---

# Chapitre I

## Diffusion et absorption de la lumière par de petites particules métalliques

---

### Sommaire

---

I.1	Notions élémentaires pour aborder un problème de diffusion et d'absorption de la lumière par de petites particules . . . . .	3
I.1.1	Approche qualitative des phénomènes de diffusion et d'absorption . . . . .	3
I.1.2	Approche intuitive du rapport intensité de lumière diffusée sur intensité de lumière incidente . . . . .	5
I.1.3	Conclusion . . . . .	6
I.2	Permittivité diélectrique d'un matériau métallique et résonance de plasmons de surface . . . . .	7
I.2.1	Permittivité diélectrique d'un matériau . . . . .	7
I.2.2	Résonance de plasmons de surface localisés . . . . .	12
I.2.3	Conclusion . . . . .	13
I.3	Diffusion et absorption de la lumière par une particule quelconque	13
I.3.1	Introduction aux notions d'extinction, d'absorption et de diffusion . . . . .	14
I.3.2	Notions de puissances d'extinction, d'absorption et de diffusion	14
I.3.3	Caractérisation du champ électromagnétique incident . . . . .	16
I.3.4	Expressions des puissances d'extinction, d'absorption et de diffusion en fonction du champ électromagnétique associé . . . . .	17
I.3.5	Notions de sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion . . . . .	19
I.3.6	Cas d'une polarisation quelconque . . . . .	19
I.3.7	Conclusion . . . . .	20

I.4	Diffusion et absorption par une particule sphérique . . . . .	20
I.4.1	Théorie de Mie . . . . .	20
I.4.2	Théorie de Rayleigh . . . . .	22
I.4.3	Théorie de Mie en régime dipolaire : Approximation électrostatique . . . . .	23
I.4.4	Conclusion . . . . .	25
I.5	Influence de la permittivité et de la dimension de la particule sur les sections efficaces . . . . .	25
I.5.1	Influence des permittivités du milieu et de la particule dans les sections efficaces . . . . .	26
I.5.2	Cas de particules dont le rayon tend vers zéro : Réduction du libre parcours moyen . . . . .	27
I.5.3	Conclusion . . . . .	28
I.6	Conclusion . . . . .	28

---

Ces dernières années, les métaux en général, et plus particulièrement les métaux nobles, sont devenus l'objet d'attentions croissantes de la communauté scientifique qui avait pris l'habitude de leur préférer les semi-conducteurs, aux propriétés plus riches et surtout plus facilement contrôlables. Cependant, avec l'avènement des nanosciences et avec les difficultés que posent le contrôle des propriétés physiques des semi-conducteurs à très petites échelles, celles des métaux sont redevenues des sujets centraux. Les recherches les plus récentes tournent autour de leur interaction avec la lumière [9, 30, 47]. Avec la diminution de la taille des objets métalliques manipulés, les propriétés optiques [48] mais aussi mécaniques et thermiques [49] de ces petits objets posent des problèmes nouveaux que les connaissances actuelles de la physique de l'état solide ne permettent pas toujours de résoudre.

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement à la diffusion et l'absorption par des particules individuelles. Nous présenterons les notions physiques de base permettant d'aborder le problème de la diffusion et de l'absorption de la lumière ; d'abord, par une approche qualitative en comprenant comment la matière réagit à un champ incident oscillant, et ensuite, en reprenant l'approche de Rayleigh qui a permis d'établir de manière intuitive le rapport lumière diffusée sur lumière incidente. Puis nous expliquerons le phénomène de plasmon de surface et son influence sur la diffusion et l'absorption de la lumière une petite particule métallique. Ensuite, nous aborderons la diffusion et l'absorption de la lumière par une particule de forme arbitraire de manière plus formelle et calculatoire. Nous déterminerons les champs électromagnétiques dans la particule et dans son milieu hôte et nous en déduirons les puissances et les sections efficaces d'absorption et de diffusion. Par la suite, nous nous intéresserons tout particulièrement au cas de la particule sphérique en introduisant la théorie de Mie et en présentant succinctement les résultats de la théorie de Rayleigh. Enfin

nous évaluerons l'influence de la taille de la particule sur la résonance des plasmons de surface et donc sur les sections efficaces d'extinction et de diffusion.

## I.1 Notions élémentaires pour aborder un problème de diffusion et d'absorption de la lumière par de petites particules

Dans cette section, nous présentons de manière qualitative le comportement de la matière soumise à une onde électromagnétique, puis, nous reprenons la démarche intuitive de Rayleigh qui lui a permis de déterminer la proportion de lumière diffusée par rapport à la lumière incidente [50].

### I.1.1 Approche qualitative des phénomènes de diffusion et d'absorption

La diffusion des ondes électromagnétiques par tout système et la physique associée est liée à l'hétérogénéité du système aussi bien à l'échelle moléculaire qu'à l'échelle d'un ensemble de molécules.

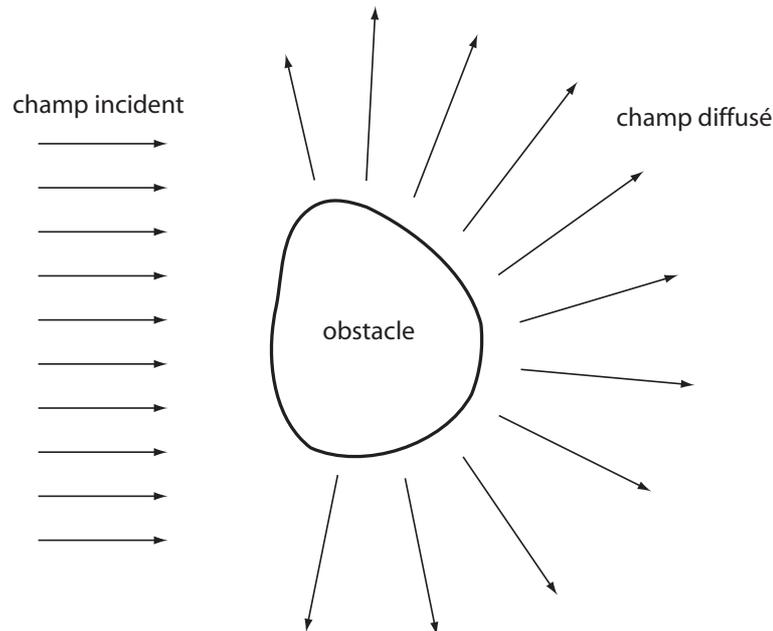


FIG. I.1 – Diffusion d'un champ électromagnétique par un "obstacle" [50].

La matière est composée de charges électriques discrètes : les électrons et les protons. Si un obstacle, aussi bien un dipôle qu'un atome ou une molécule, qu'une particule

solide ou liquide, est éclairée par une onde électromagnétique (Fig.I.1), les charges électriques de l'obstacle sont mises en mouvement oscillant par le champ électrique de l'onde incidente. Les dipôles électriques formés par les charges électriques en mouvement rayonnent de l'énergie électromagnétique dans toutes les directions : c'est ce rayonnement secondaire que l'on appelle rayonnement diffusé par l'obstacle. Le processus de diffusion se décompose donc en deux temps : l'excitation de la particule suivie de l'émission d'un rayonnement secondaire.

En plus de la réémission d'énergie électromagnétique, les charges élémentaires excitées peuvent convertir une partie de l'énergie électromagnétique incidente en d'autres formes d'énergie (énergie thermique par ex.) : ce processus est appelé par définition absorption.

À présent, si on considère une particule quelconque, que l'on divise en petites régions (Fig.I.2), un champ appliqué oscillant (par ex., une onde électromagnétique incidente) induit un moment dipolaire dans chaque région. Ces dipôles oscillent à la fréquence du champ appliqué et diffusent donc un rayonnement secondaire dans toutes les directions. Dans une direction donnée (c.à.d. un point  $P$  distant), on obtient un champ diffusé total par superposition des ondelettes diffusées en prenant en compte leurs différences de phase, la diffusion par les dipôles étant cohérente. En général, ces relations de phase changent suivant la direction de diffusion.

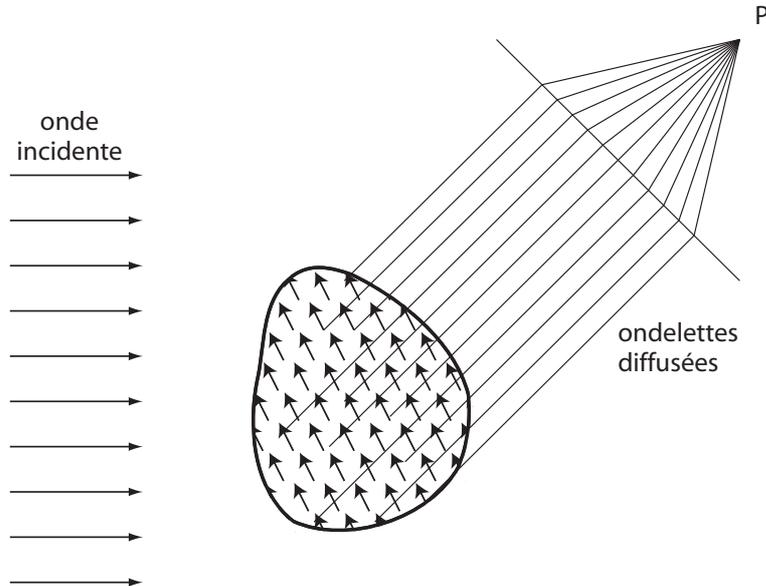


FIG. I.2 – Superposition des ondelettes diffusées par les dipôles oscillants élémentaires [50].

Si la particule est petite devant la longueur d'onde, toutes les ondelettes secondaires sont approximativement en phase ; pour une telle particule, il y a peu de variations de la diffusion suivant la direction. Par contre, quand la taille de la particule augmente,

le nombre de relations de phase possibles entre les ondelettes augmente. C'est pourquoi, plus la particule est grande, plus il y a de variations rapides et amples dans le diagramme de diffusion. Les variations de forme du diagramme de diffusion en fonction de la taille de la particule sont représentées Fig.I.3 La forme de la particule joue également un rôle : si on déforme la particule de la Fig.I.2, les relations de phase entre les ondelettes seront différentes et, par conséquent, le diagramme de diffusion le sera aussi.

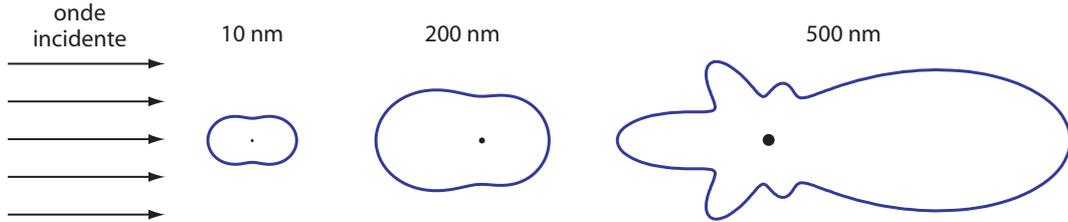


FIG. I.3 – Diagramme de diffusion en lumière blanche de particules sphériques de 10, 200 et 500 nm de diamètre. Les amplitudes ne sont pas proportionnelles d'un diagramme à l'autre.

Les relations de phase entre les ondelettes diffusées dépendent donc de facteurs géométriques tels que la direction de diffusion, la taille et la forme de la particule. De plus, l'amplitude et la phase du moment dipolaire induit à une fréquence donnée dépendent de la nature chimique de la particule. C'est pourquoi, pour bien comprendre la diffusion et l'absorption par de petites particules, nous détaillons le comportement de la matière massive vis à vis d'un champ électromagnétique oscillant dans la Sec.I.2. Mais d'abord, nous présentons l'approche de Rayleigh sur la diffusion qui permet d'introduire les paramètres physiques mis en jeu.

### I.1.2 Approche intuitive du rapport intensité de lumière diffusée sur intensité de lumière incidente

Le raisonnement de base de la théorie que Rayleigh a développé en 1871 était extrêmement simple. Il est donc intéressant de le reproduire ici pour montrer la quantité d'informations obtenues à partir d'un raisonnement simple [51].

"Nous voulons déterminer comment l'intensité de la lumière diffusée varie sur l'ensemble du spectre en supposant que les particules éclairées sont beaucoup plus petites que la longueur d'onde, même que celle de la lumière violette. Tout le problème repose sur le traitement analytique ; mais avant cela, il est intéressant de montrer comment le résultat principal peut être anticipé en ne considérant que les dimensions des différents paramètres considérés.

Le but est de comparer les intensités des rayonnements incident et diffusé ; dans la mesure où ceux-ci sont clairement proportionnels. Le nombre  $Q$

exprimant le rapport des deux amplitudes est une fonction des paramètres suivants :  $V$ , le volume de la particule observée ;  $\lambda$ , la longueur d'onde ;  $r$ , la distance à la particule ;  $c$ , la vitesse de propagation de la lumière ;  $D$  et  $D'$ , les densités d'origine et altérée [le paramètre de densité, qui était encore à la mode à l'époque de Rayleigh, correspond à la permittivité diélectrique]. Les trois premiers paramètres ne dépendent que de la dimension ( $L$ ), le quatrième de l'espace et du temps ( $L$  et  $T$ ), alors que le cinquième et le sixième introduisent une notion de masse ( $M$ ). Il n'y a pas d'autres éléments à ce problème, à l'exception de simples nombres et angles, qui ne dépendent pas des dimensions fondamentales que sont la longueur, le temps et la masse. Puisque le rapport  $Q$ , dont on cherche l'expression, n'a pas de dimension en masse, il s'ensuit immédiatement que  $D$  et  $D'$  n'apparaissent que sous la forme d'un rapport, ce qui n'est qu'un nombre et peut donc être mis de côté. Il nous reste à déterminer comment  $Q$  varie en fonction de  $V$ ,  $r$ ,  $\lambda$  et  $c$ .

Or, de ces paramètres,  $c$  est le seul à dépendre du temps ; et c'est pourquoi, comme  $Q$  n'a pas la dimension du temps,  $c$  ne peut pas apparaître dans son expression. Il ne nous reste alors que  $V$ ,  $r$  et  $\lambda$  ; et de ce que nous savons sur la dynamique de la question, nous pouvons être sûr que  $Q$  varie directement comme  $V$  et inversement à  $r$ , et doit donc être proportionnel à  $\frac{V}{r\lambda^2}$ ,  $V$  étant de triple dimension de longueur. D'un bout à l'autre du spectre,  $\lambda$  est le seul paramètre qui varie et nous obtenons l'importante loi :

*Quand la lumière est diffusée par des particules qui sont très petites devant chacune des longueurs d'onde, le rapport des amplitudes de la vibration lumineuse diffusée sur la vibration lumineuse incidente varie inversement au carré de la longueur d'onde, et le rapport des intensités de ces lumières comme l'inverse de la longueur d'onde à la puissance quatre ( $1/\lambda^4$ ).*"

### I.1.3 Conclusion

Etant donnée la nature des phénomènes mis en jeu dans les mécanismes de diffusion et d'absorption de la lumière par de petite particules, les quantités de lumière diffusée et absorbée sont très faibles par rapport à la quantité de lumière incidente. Ainsi, pour une particule sphérique de 100 nm de diamètre illuminée dans le visible, seulement trois millièmes de milliardième de la puissance incidente sont diffusés et six millièmes de milliardième sont absorbés, le reste de la puissance incidente étant transmise sans déviation angulaire.

## I.2 Permittivité diélectrique d'un matériau métallique et résonance de plasmons de surface

L'interaction de la lumière avec la matière est intrinsèquement liée à la notion d'indice optique complexe  $N$  ou de permittivité diélectrique  $\epsilon = N^2$ . Avant d'étudier cette interaction en terme de diffusion et d'absorption, nous étudions en détail l'expression de la permittivité diélectrique d'un matériau déterminée par le modèle de Lorentz. Ensuite, nous affinons cette expression grâce au modèle de Drude afin de traiter le cas particulier des matériaux métalliques. Puis, nous présenterons le cas particulier des métaux nobles puisque les nano-objets que nous voulons étudier sont constitués d'or. Enfin, nous présentons le phénomène de résonance de plasmons de surface se produisant dans les métaux.

### I.2.1 Permittivité diélectrique d'un matériau

Nous allons d'abord déterminer la permittivité d'un matériau massif quelconque à l'aide du modèle de Lorentz puis nous définirons la permittivité d'un matériau métallique massif grâce au modèle de Drude. Enfin, nous aborderons le cas particulier des métaux nobles.

#### I.2.1.1 Modèle de Lorentz : cas d'un matériau quelconque

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle, H. A. Lorentz a développé une théorie classique des propriétés optiques des matériaux dans laquelle les électrons et les ions qui constituent la matière sont considérés comme de simples oscillateurs harmonique (c.à.d. des ressorts) soumis à la force de mise en mouvement associée au champ électromagnétique appliqué.

Pour suivre le raisonnement de Lorentz, nous considérons un ensemble d'oscillateurs harmoniques identiques, indépendants et isotropes comme modèle de la matière polarisable (Fig.I.4). Soit un oscillateur harmonique de masse  $m$  et de charge  $e$ , soumis à une force de rappel  $K\vec{x}$ , où  $K$  est la constante de rappel et  $\vec{x}$  est la variation de position par rapport à l'équilibre, une force d'amortissement  $b\dot{\vec{x}}$ , où  $b$  est la constante d'amortissement, et une force de mise en mouvement produite par le champ électrique local que nous considérerons comme égal au champ appliqué  $\vec{E}$ , sans perte d'information dans la détermination des constantes optiques (les forces magnétiques peuvent en générale être négligée devant les forces électriques). L'équation de mouvement d'un tel oscillateur s'écrit alors :

$$m\ddot{\vec{x}} + b\dot{\vec{x}} + K\vec{x} = e\vec{E} \quad (\text{I.1})$$

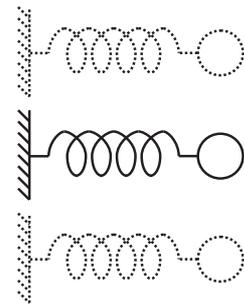


FIG. I.4 – Modèle de la matière de Lorentz.

Si le champ électrique appliqué est harmonique à la pulsation  $\omega$ , c.à.d. en  $\exp(-j\omega t)$ , la solution de l'équation Eq.I.1 est composée d'une partie transitoire, et d'une partie permanente oscillant à la même fréquence que le champ électrique appliqué. Pour déterminer l'expression de la permittivité diélectrique du matériau, nous ne nous intéressons qu'à la solution en régime permanent :

$$\vec{x} = \frac{(e/m)\vec{E}}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\gamma\omega} \quad (\text{I.2})$$

où  $\omega_0^2 = K/m$  est la pulsation de résonance de l'oscillateur harmonique. D'un point de vue phénoménologique, le coefficient d'amortissement  $\gamma = b/m$  rend compte des processus de collision subis par les électrons.

Le moment dipolaire résultant de l'oscillation harmonique des électrons induite par l'application d'un champ électrique harmonique est  $\vec{p} = e\vec{x}$  pour un oscillateur. Si  $\aleph$  est le nombre d'oscillateurs par unité de volume, connaissant l'Eq.I.2, la polarisation, ou moment dipolaire par unité de volume, est  $\vec{P} = \aleph\vec{p} = \aleph e\vec{x}$  et vaut :

$$\vec{P} = \frac{\omega_{plasma}^2}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\gamma\omega} \epsilon_0 \vec{E} \quad (\text{I.3})$$

où la fréquence plasma est  $\omega_{plasma}^2 = \aleph e^2 / m\epsilon_0$ , avec  $\epsilon_0$  la permittivité diélectrique du vide.

Sachant que l'induction électrique s'écrit  $\vec{D} = \epsilon_0 \vec{E} + \vec{P} = \epsilon_0 \epsilon \vec{E}$ , avec  $\epsilon$  la permittivité diélectrique du matériau, on en déduit que la polarisation peut s'écrire  $\vec{P} = \epsilon_0(\epsilon - 1)\vec{E}$ . Ainsi, il s'ensuit que la permittivité diélectrique d'un matériau modélisé par un système d'oscillateurs harmoniques simples indépendants est :

$$\epsilon_p = 1 + \frac{\omega_{plasma}^2}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\gamma\omega} \quad (\text{I.4})$$

avec pour parties réelle et imaginaire :

$$\begin{aligned} \epsilon_p' &= 1 + \frac{\omega_{plasma}^2(\omega_0^2 - \omega^2)}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \gamma^2\omega^2} \\ \epsilon_p'' &= \frac{\omega_{plasma}^2\gamma\omega}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \gamma^2\omega^2} \end{aligned} \quad (\text{I.5})$$

### I.2.1.2 Modèle de Drude : cas des métaux

Les isolant et les conducteurs électriques présentent des propriétés optiques très différentes qui peuvent être expliquées grâce à la différence de leur permittivité diélectrique [50]. En raison du grand nombre d'électrons dans un solide et suivant le modèle des électrons quasi-libres [52], il y a quasiment un continuum d'états énergétiques accessibles pour les électrons. Dans ce modèle, les électrons sont peu perturbés par

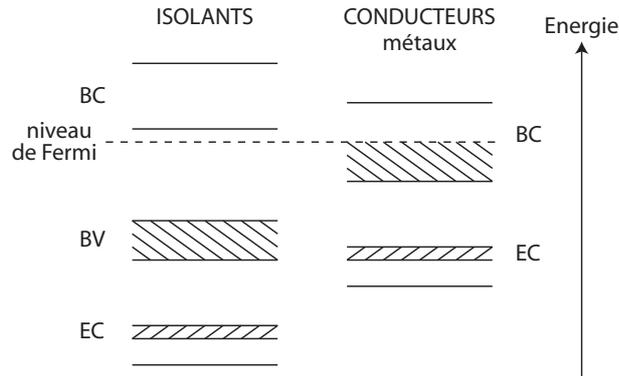


FIG. I.5 – Bandes d'énergie électronique pour les isolants et les conducteurs. Les bandes pleines sont hachurées. (BC : Bande de Conduction ; BV : Bande de Valence ; EC : Electrons de Coeur)

le potentiel généré par le réseau cristallin périodique constitué d'ions positifs et les niveaux d'énergie accessibles sont regroupés en bandes. Cela est représenté schématiquement Fig.I.5 par des diagrammes en bande plate.

S'il y a un gap d'énergie interdite entre une bande pleine et une bande vide, le matériau est isolant. Au contraire, si une bande d'états électronique n'est que partiellement remplie, ou si une bande pleine et une bande vide se recouvrent, le matériau est conducteur : grâce à l'application d'un champ électrique, les électrons de plus haute énergie, ou électrons libres (proches du niveau de Fermi), peuvent être excités dans un états d'énergie adjacent inoccupé, ce qui résulte en un courant électrique.

Ainsi, dans le cas des conducteurs, la présence d'états énergétiques inoccupés dans la même bande d'énergie autorise le mécanisme d'absorption intrabande pour l'absorption de photons de basse énergie. Par contre, l'absorption dans les isolant, dite absorption interbande, n'est possible que pour les photons d'énergie supérieure au gap entre les bandes de valence et de conduction. Cette différence entre les conducteurs et les isolants induit des différences substantielles de comportement optique : Les isolant tendent à être transparents et peu réfléchissants pour les photons d'énergie inférieure au gap, alors que les métaux ont tendance à être fortement absorbants et réfléchissants aux longueurs d'onde visible et infra-rouge.

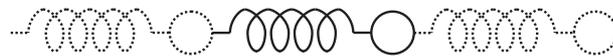


FIG. I.6 – Modèle de la matière de Drude.

Pour les métaux, la réponse optique d'un ensemble d'électrons libres peut être obtenue à partir du modèle de l'oscillateur harmonique de Lorentz en "accrochant" les ressorts entre eux (Fig.I.6), c.à.d. en considérant une constante de rappel  $K$  nulle dans l'équation du mouvement de l'oscillateur harmonique (Eq.I.1). Ainsi, il s'ensuit

que  $\omega_0 = 0$  et que la permittivité diélectrique des électrons libres est :

$$\epsilon_p = 1 - \frac{\omega_{plasma}^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \quad (I.6)$$

avec pour parties réelle et imaginaire

$$\begin{aligned} \epsilon_p' &= 1 - \frac{\omega_{plasma}^2}{\omega^2 + \gamma^2} \\ \epsilon_p'' &= \frac{\omega_{plasma}^2 \gamma}{\omega(\omega^2 + \gamma^2)} \end{aligned} \quad (I.7)$$

L'Eq.I.7 correspond à la permittivité diélectrique d'un matériau métallique massif définie suivant le modèle de Drude, définissant les propriétés optique d'un électron libre dans un métal. Les parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'aluminium ont été simulées avec le modèle de Drude et sont comparées à des données expérimentales [53] interpolées Fig.I.7.

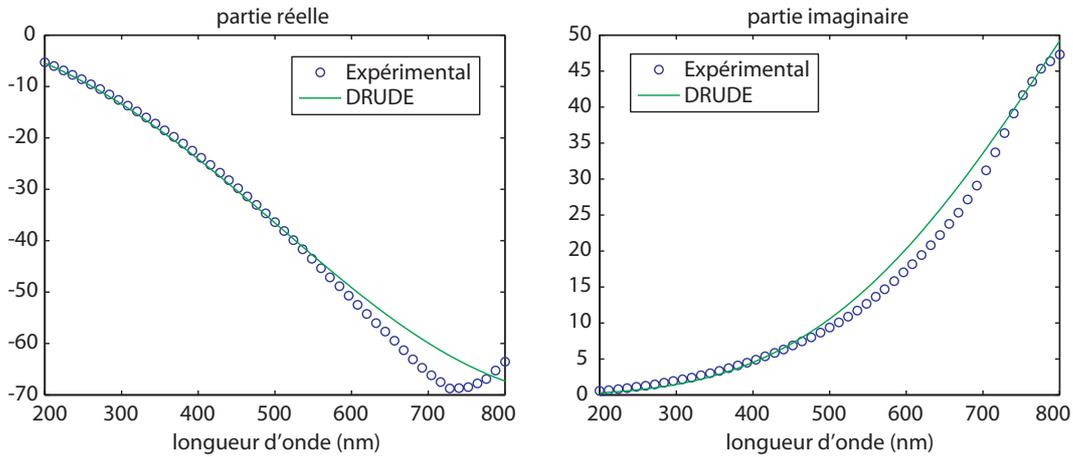


FIG. I.7 – Données expérimentales interpolées et données simulées par le modèle de Drude pour les parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'aluminium.

### I.2.1.3 permittivité des métaux nobles

La permittivité diélectrique des métaux nobles (or, cuivre, argent) présentant des caractéristiques particulières a fait l'objet de nombreuses investigations expérimentales [54]. Contrairement à la réponse optique des métaux alcalins à une excitation électromagnétique dans le visible, celle des métaux nobles ne peut pas être décrite par le seul comportement des électrons de conduction quasi-libres (bande  $sp$ ). En effet, il est nécessaire de prendre en compte l'influence des électrons liés des bandes  $d$  [54] (voir Fig.I.8).

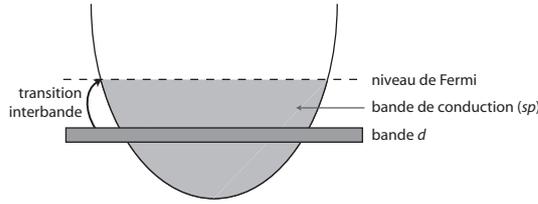


FIG. I.8 – Disposition des bandes d'énergie dans les métaux nobles.

Par conséquent, la fonction diélectrique totale  $\epsilon_{p\text{tot}}$  des métaux nobles peut être décrite comme la somme de deux contributions, l'une due aux transitions électroniques dans la bande de conduction (transitions intrabandes)  $\epsilon_p$ , décrite dans la section précédente par le modèle de Drude, et l'autre provenant des transitions des bandes  $d$  vers la bande de conduction (transitions interbandes) [55] :

$$\epsilon_{p\text{tot}} = \epsilon_p + \epsilon_p^{ib} \quad (\text{I.8})$$

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous ne détaillons le terme de la permittivité diélectrique correspondant aux transitions interbandes dans la mesure où il a été parfaitement démontré dans les références [56–58]. Néanmoins, nous présentons la contribution des transitions interbandes pour la permittivité de l'or Fig.I.8.

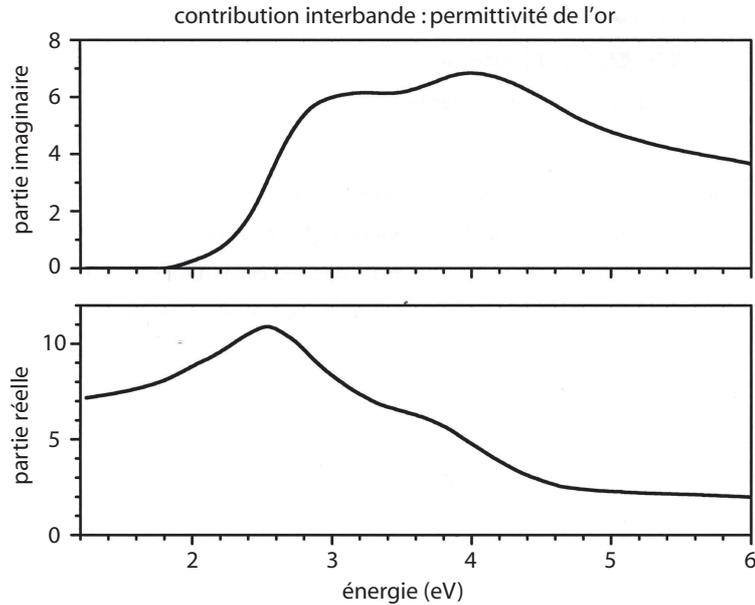


FIG. I.9 – Parties réelles et imaginaire de la contribution des transition interbandes de permittivité la permittivité de l'or [59].

Dans la prochaine section, nous allons voir que, lorsque la taille de la particule réduit, de nouveaux phénomènes comme la résonance de plasmons de surface localisés apparaissent en raison du confinement des électrons.

### I.2.2 Résonance de plasmons de surface localisés

En plus des phénomènes de diffusions et d'absorption classiques dépendants de la permittivité du matériau, vient s'ajouter la résonance de plasmons de surface qui modifie la diffusion et l'absorption de la lumière par de petites particules métalliques pour certaines fréquence du champ électromagnétique excitateur. Un plasmon est un quantum d'oscillation plasma [52, 60]. Le plasmon est une quasi-particule provenant de la quantification d'une oscillation plasma comme les photons et les phonons sont des quantifications de la lumière et d'une onde acoustique, respectivement. Il peut également être couplé à un photon pour créer une troisième particule appelée plasmon-polariton.

L'excitation de plasmons de surface par la lumière est connue sous le nom de "résonance de plasmon de surface" (Surface Plasmon Resonance, SPR) pour les surfaces planes ou "résonance de plasmon de surface localisée" (Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR) pour les structures de dimensions nanométriques [61]. Les plasmons de surface, aussi connus sous le nom de plasmons-polaritons de surface, sont des ondes électromagnétiques confinées à la surface qui se propagent dans la direction parallèle à l'interface métal-diélectrique (ou métal/vide).

Concrètement, quand une petite particule métallique est irradiée par de la lumière, tous les électrons voient un même champ électrique incident homogène qui induit une oscillation cohérente des électrons de conduction [52]. Ceci est représenté schématiquement Fig.I.10. Quand le nuage d'électron se déplace par rapport au noyau, une force de rétro-action apparaît en raison de l'attraction de Coulomb entre les électrons et le noyau qui résulte en une oscillation du nuage d'électron de part et d'autre du noyau [62]. Le couplage avec l'onde électromagnétique est résonant lorsque la fréquence de l'onde s'accorde à la fréquence propre des oscillations du gaz d'électrons autour de la carcasse ionique positive.

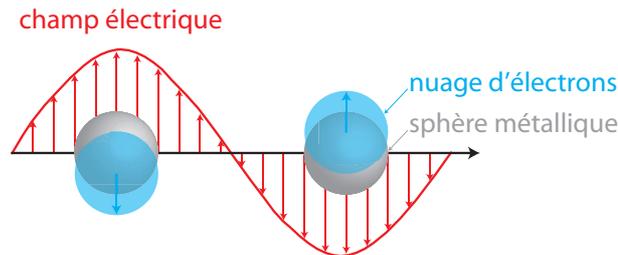


FIG. I.10 – Schéma d'une oscillation de plasmon pour une sphère, montrant le déplacement du nuage d'électrons de conduction par rapport aux noyaux [62].

A la résonance, la forte polarisation dans le métal induit un champ électromagnétique local, à l'intérieur et au voisinage de la particule, dont l'amplitude peut dépasser celle du champ appliqué. Ainsi, Le phénomène de résonance accroît la puissance de lumière diffusée et absorbée par une petite particule métallique dans une gamme de longueur

d'onde déterminée par la permittivité de la particule et celle de son milieu environnant (voir Fig.I.11). Pour une particule d'or de 10 nm de diamètre plongée dans du verre, la section efficace de diffusion est localement accrue d'un facteur quatre en raison de la résonance des plasmons de surface. Dans nos expériences, nous exploiterons ce phénomène pour maximiser la quantité de signal à détecter.

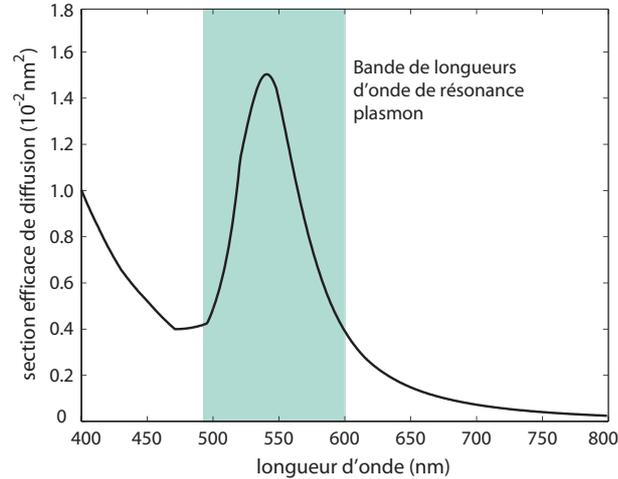


FIG. I.11 – Pic de résonance plasmon pour la diffusion d'une particule sphérique d'or de 10 nm dans du verre.

### I.2.3 Conclusion

Dans cette section, à l'aide du modèle de Lorentz et du modèle de Drude, nous avons défini la permittivité diélectrique d'un matériau métallique. Nous avons également introduit la notion de transitions interbandes dans les métaux nobles tel que l'or qui compose les particules que nous étudierons expérimentalement. Ensuite, nous avons introduit la notion de résonance de plasmons de surface qui se produit dans le cas du confinement des électrons dans de petites particules. La permittivité diélectrique caractérisant la réponse optique d'un matériau nous pouvons, à présent, aborder les phénomènes de diffusion, d'absorption et d'extinction de la lumière par une particule.

## I.3 Diffusion et absorption de la lumière par une particule quelconque

À présent, nous avons un bon aperçu des mécanismes de base mis en jeu dans la diffusion et l'absorption de la lumière par de petites particules.

Dans cette section, nous présentons les notions d'extinction, de diffusion et d'absorption. En vue de définir analytiquement les différentes sections efficaces d'une

particule, nous introduisons les notions physiques qui y sont mathématiquement associées comme les puissances diffusée/absorbée/éteinte définies à partir des champs électromagnétiques dans la particule et son milieu environnant.

Avant de commencer, nous voudrions attirer l'attention sur les deux points suivants :

- Tous les développements théoriques qui vont suivre sont monochromatiques, c.à.d. ne concernent qu'une longueur d'onde  $\lambda$  donnée.
- Tous les champs électromagnétiques que nous considérons sont harmoniques dans le temps et nous leur associons une évolution temporelle en  $\exp(-i\omega t)$ , où  $i^2 = -1$  et  $\omega$  et  $t$  représentent respectivement la pulsation et le temps. Cette convention impose une partie imaginaire positive à l'indice optique complexe  $N = n + i\chi$ , où  $n$  et  $\chi$  désignent respectivement les parties réelles et imaginaires.

### I.3.1 Introduction aux notions d'extinction, d'absorption et de diffusion

Supposons que une ou plusieurs particules interagissent avec une onde électromagnétique. La quantité d'énergie électromagnétique transmise est plus faible lorsque les particules sont sur le trajet de l'onde que lorsque elles n'y sont pas. La présence des particules implique une extinction du rayon incident. L'extinction correspondant à la disparition d'un photon de sa trajectoire initiale soit par absorption, soit par déviation (ici synonyme de diffusion), entraîne une diminution de l'amplitude du champ transmis dans la direction de la lumière incidente.

$$\text{Extinction} = \text{Absorption} + \text{Diffusion} \quad (\text{I.9})$$

Quand une particule est éclairée par un rayon lumineux de fréquence et de polarisation donnée, la distribution angulaire et la quantité de lumière diffusée par la particule, ainsi que la quantité de lumière absorbée, dépendent de la nature de la particule et plus précisément de sa forme, sa taille et de la matière qui la compose ainsi que de son environnement. L'intensité du champ diffusé par une particule quelconque est proportionnelle à l'amplitude du champ incident.

### I.3.2 Notions de puissances d'extinction, d'absorption et de diffusion

Dans cette section, nous nous proposons de déterminer les puissances de diffusion, d'absorption et d'extinction en vue de calculer dans ce chapitre les sections efficaces associées.

Considérons une particule individuelle de forme quelconque dans un milieu non absorbant et éclairée par une onde plane monochromatique se propageant suivant  $\vec{u}$ .

Supposons que les champs électromagnétiques incident  $\{\vec{E}_{inc}(\vec{r}, t); \vec{H}_{inc}(\vec{r}, t)\}$  et diffusé  $\{\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t); \vec{H}_{diff}(\vec{r}, t)\}$  soient connus et se superposent dans le milieu "m" environnant la particule en un champ  $\{\vec{E}_m(\vec{r}, t); \vec{H}_m(\vec{r}, t)\}$ , les notations  $\vec{E}$  et  $\vec{H}$  désignant respectivement le champ électrique et l'induction magnétique :

$$\{\vec{E}_m(\vec{r}, t) = \vec{E}_{inc}(\vec{r}, t) + \vec{E}_{diff}(\vec{r}, t); \vec{H}_m(\vec{r}, t) = \vec{H}_{inc}(\vec{r}, t) + \vec{H}_{diff}(\vec{r}, t)\} \quad (I.10)$$

A tout champ électromagnétique  $\{\vec{E}(\vec{r}, t); \vec{H}(\vec{r}, t)\}$  peut être associée une puissance qui se calcule via le vecteur de Poynting  $\vec{S}(\vec{r}, t)$  associé à ce champ :

$$\vec{S}(\vec{r}, t) = \vec{E}(\vec{r}, t) \wedge \vec{H}(\vec{r}, t) \quad (I.11)$$

Le vecteur  $\vec{S}$  (en  $W.m^{-2}$ ), ainsi défini, spécifie l'amplitude et la direction du flux d'énergie électromagnétique en tout point et à chaque instant. Comme nous faisons l'hypothèse de champ électromagnétique évoluant sinusoidalement avec le temps (c.à.d. en  $\exp(-i\omega t)$ ), le vecteur de Poynting associé évolue lui aussi de manière sinusoidale autour de sa valeur moyenne  $\langle \vec{S}(\vec{r}, t) \rangle$  :

$$\langle \vec{S}(\vec{r}, t) \rangle = \frac{1}{2} \Re \{ \vec{E}(\vec{r}, t) \wedge \vec{H}^*(\vec{r}, t) \} \quad (I.12)$$

la notation  $\Re$  signifiant la partie réelle. Ainsi, le vecteur de Poynting moyenné dans le temps, équivalent à la puissance lumineuse, est la seule quantité que la plupart des instruments de mesure est capable d'évaluer.

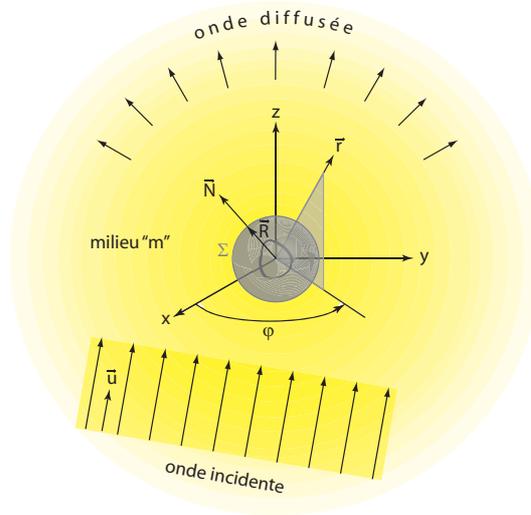


FIG. I.12 – Schéma représentatif de la particule et des différents paramètres intervenant dans la détermination des sections efficaces.

Si on construit une sphère fictive  $\Sigma$  de rayon suffisamment grand pour qu'elle contienne entièrement la particule (Fig.I.12), alors nous pouvons définir la puissance électromagnétique absorbée  $P_{abs}$  par la particule en traversant cette sphère vers son intérieur,

qui correspond à l'opposé du flux du vecteur de Poynting dans le milieu "m"  $\langle \vec{S}_m \rangle$  à travers  $\Sigma$  :

$$P_{abs} = - \int_{\Sigma} \langle \vec{S}_m \rangle \cdot \vec{N} d\Sigma \quad (\text{I.13})$$

où le vecteur position  $\vec{R}$  est un point quelconque de la sphère, et le vecteur  $\vec{N}$  est le vecteur unitaire normal à la sphère en  $\vec{R}$  et orienté vers l'extérieur.

Ainsi, comme nous l'avons vu Sec.I.3.1, la puissance d'extinction, correspondant à la puissance lumineuse non transmise dans le sens de propagation de l'onde incidente, s'écrit :

$$P_{ext} = P_{diff} + P_{abs} \quad (\text{I.14})$$

les puissances  $P_{ext}$ ,  $P_{diff}$  et  $P_{abs}$  ayant pour expressions :

$$\begin{aligned} P_{ext} &= \frac{1}{2} \int_{\Sigma} \Re \{ \vec{E}_{inc}(\vec{r}, t) \wedge \vec{H}_{diff}^*(\vec{r}, t) + \vec{E}_{diff}(\vec{r}, t) \wedge \vec{H}_{inc}^*(\vec{r}, t) \} \cdot \vec{N} d\Sigma \\ P_{diff} &= - \int_{\Sigma} \langle \vec{S}_{diff}(\vec{R}) \rangle \cdot \vec{N} d\Sigma = \frac{1}{2} \int_{\Sigma} \Re \{ \vec{E}_{diff}(\vec{r}, t) \wedge \vec{H}_{diff}^*(\vec{r}, t) \} \cdot \vec{N} d\Sigma \\ P_{abs} &= - \int_{\Sigma} \langle \vec{S}_{abs}(\vec{R}) \rangle \cdot \vec{N} d\Sigma = P_{ext} - P_{diff} \end{aligned} \quad (\text{I.15})$$

Comme on le voit dans l'expression de  $P_{ext}$ , l'extinction par la particule résulte de l'interférence entre l'onde incidente et l'onde diffusée. Cela est démontré de manière détaillée dans le théorème optique [7, 41, 50].

### I.3.3 Caractérisation du champ électromagnétique incident

En vue de déterminer les champs électromagnétiques dans la particule et dans son milieu environnant, nous caractérisons d'abord le champ électromagnétique incident.

Pour simplifier le calcul, nous considérons un champ électrique incident polarisé suivant un vecteur unitaire  $\vec{e}$  orthogonal à la direction de propagation  $\vec{u}$ . Le champ électromagnétique incident  $\{ \vec{E}_{inc}(\vec{r}, t); \vec{H}_{inc}(\vec{r}, t) \}$ , de pulsation  $\omega$  et de vecteur d'onde de norme  $k_m = 2\pi/\lambda_m = \omega/c_m$ , s'écrit alors :

$$\begin{cases} \vec{\nabla} \wedge \vec{E}_{inc} = -\frac{\partial \vec{B}_{inc}}{\partial t} \\ \vec{H}_{inc} = \frac{\vec{B}_{inc}}{\mu_m} \end{cases} \rightarrow \begin{aligned} \vec{E}_{inc}(\vec{r}, t) &= E_0 \vec{e} \exp(i(k_m \vec{u} \cdot \vec{r} - \omega t)) \\ \vec{H}_{inc}(\vec{r}, t) &= \frac{k_m}{\mu_m \omega} (\vec{u} \wedge \vec{E}_{inc}(\vec{r}, t)) \end{aligned} \quad (\text{I.16})$$

Dans les Eq.I.16 :

- L'indice "m" fait référence aux propriétés physiques du milieu environnant la particule :  $\mu_m$  est sa perméabilité magnétique,  $\lambda_m = \lambda_0/n_m$  et  $c_m = c_0/n_m$  sont respectivement la longueur d'onde et la célérité dans le milieu "m", où l'indice "0" fait référence au vide et  $n_m$  désigne l'indice de réfraction du milieu "m" à la longueur d'onde  $\lambda_0$ .

- La notation  $\vec{H}$  désigne le champ magnétique.
- La grandeur  $E_0$  est l'amplitude (en  $\text{V.m}^{-1}$ ) du champ électrique incident  $\vec{E}_{inc}$  et peut être considérée comme réelle sans aucune perte de généralité.

Des équations Eq.I.16, on peut déduire que la puissance surfacique du champ électromagnétique incident vaut :

$$\psi_{inc} = \left| \langle \vec{S}_{inc}(\vec{r}) \rangle \right| = \left| \frac{1}{2} \Re \{ \vec{E}_{inc}(\vec{r}, t) \wedge \vec{H}_{inc}^*(\vec{r}, t) \} \right| = \frac{k_m E_0^2}{2\mu_m \omega} \quad (\text{I.17})$$

### I.3.4 Expressions des puissances d'extinction, d'absorption et de diffusion en fonction du champ électromagnétique associé

Pour calculer les puissances de diffusion, d'absorption et d'extinction, et les sections efficaces associées, nous déterminons les différents champs électromagnétiques associés à ces trois phénomènes.

Dans une première étape de calcul, nous supposons que le champ diffusé par la particule dans le milieu "m"  $\{ \vec{E}_{diff}(\vec{r}, t); \vec{H}_{diff}(\vec{r}, t) \}$  est connu.

L'expression de la puissance  $P_{ext}$  en fonction des champs électromagnétiques incident et diffusé se trouve dans l'Eq.I.15. Il est possible de réécrire cette expression uniquement à partir des champs  $\vec{E}_{inc}(\vec{r}, t)$  et  $\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)$  en faisant appel au résultat mathématique du "théorème optique" qui permet de calculer la section efficace d'extinction dans toutes les directions à partir de l'amplitude du champ diffusé vers l'avant (voir [7] pour une démonstration complète). Ce résultat est donné sans démonstration dans [50], et comme les auteurs le soulignent, il est obtenu après une quantité considérable de manipulations algébriques. C'est pourquoi nous l'admettons ici sans démonstration. Selon ce résultat, l'expression Eq.I.15 de la puissance  $P_{ext}$  peut se mettre sous la forme :

$$P_{ext} = \frac{2\pi\epsilon_m c_m}{k_m^2} \Re \left\{ \left[ \left( \frac{\vec{E}_{inc}(\vec{r}, t)}{\exp(i(k_m \vec{u} \cdot \vec{r} - \omega t))} \right) \cdot \left( \frac{\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)}{\exp(i(k_m r - \omega t)) / (-ik_m r)} \right) \right]_{r \rightarrow +\infty, \theta=0} \right\} \quad (\text{I.18})$$

Cette nouvelle expression de  $P_{ext}$  nécessite quelques explications :

- Le terme entre crochets de l'Eq.I.18 doit être évalué pour  $r \rightarrow +\infty$  et  $\theta = 0$ . Les notations  $r$  et  $\theta$  désignent respectivement la norme du vecteur position  $\vec{r}$  et l'angle que fait celui-ci avec la direction de propagation de l'éclairement incident  $\vec{u}$  ( $0 \leq \theta \leq \pi$ ). Par conséquent, l'Eq.I.18 fait intervenir les propriétés du champ électrique diffusé en champ lointain ( $k_m r \gg 1$ ) dans la direction de diffusion "vers l'avant", c.à.d. sans déviation.
- Le terme  $\frac{\vec{E}_{inc}(\vec{r}, t)}{\exp(i(k_m \vec{u} \cdot \vec{r} - \omega t))}$ , apparaissant dans l'Eq.I.18, représente le champ incident dépourvu de sa dépendance spatio-temporelle. Dans une certaine mesure, il en est de même pour le terme  $\frac{\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)}{\exp(i(k_m r - \omega t)) / (-ik_m r)}$  lorsque le champ électrique diffusé  $\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)$  est considéré en champ lointain. En effet, en champ

lointain, ce champ est approximativement transverse (c.à.d.  $\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t) \cdot \vec{r} \approx 0$ ) et présente une forme asymptotique du type [63] :

$$\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t) \sim \frac{\exp(i(k_m r - \omega t))}{-ik_m r} \vec{A}_{diff}(\vec{n}) \quad (\text{I.19})$$

où  $\vec{n}$  est le vecteur unitaire de même direction et même sens que  $\vec{r}$  et le champ vectoriel  $\vec{A}_{diff}(\vec{n})$ , communément appelé champ d'amplitude vectorielle du champ électrique diffusé  $\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)$ , est fonction, non plus du vecteur position  $\vec{r}$ , mais seulement de sa direction et son sens  $\vec{n}$ . Le terme en champ lointain  $\frac{\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)}{\exp(i(k_m r - \omega t))/(-ik_m r)}$  de l'Eq.I.18 apparaît donc comme étant le champ électrique diffusé, dépourvu de ses dépendances en distance ( $r$ ) et en temps ( $t$ ) mais conservant sa dépendance en direction ( $\vec{n}$ ) puisqu'il n'est autre que le champ d'amplitude vectorielle  $\vec{A}_{diff}(\vec{n})$ .

Intéressons-nous à présent à la puissance  $P_{diff}$  diffusée par la particule dont l'expression figure dans l'Eq.I.15. Dans cette formule, on peut légitimement faire tendre le rayon  $R$  de la sphère fictive d'intégration  $\Sigma$  vers l'infini. L'expression Eq.I.19 du champ diffusé  $\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)$  en champ lointain est alors applicable ; quant au champ magnétique diffusé  $\vec{H}_{diff}(\vec{r}, t)$  en champ lointain, son expression découle de l'équation de Maxwell  $\vec{\nabla} \wedge \vec{E}_{diff} = i\omega\mu_m \vec{H}_{diff}$  et des spécificités du champ électromagnétique en champ lointain :

$$\begin{cases} \vec{\nabla} \wedge \vec{E}_{diff} = i\omega\mu_m \vec{H}_{diff} \\ \vec{\nabla} \wedge \vec{H}_{diff} = ik_m \vec{n} \wedge \vec{E}_{diff} \end{cases} \rightarrow \vec{H}_{diff} = \frac{k_m}{\omega\mu_m} \vec{n} \wedge \vec{E}_{diff} \quad (\text{I.20})$$

Le calcul du vecteur de Poynting  $\langle \vec{S}_{diff}(\vec{r}) \rangle$  est immédiat, sachant que  $\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t) \cdot \vec{n} = 0$  en champ lointain :

$$\langle \vec{S}_{diff}(\vec{r}) \rangle = \frac{k_m}{2\omega\mu_m} |\vec{E}_{diff}(\vec{r}, t)|^2 \cdot \vec{n} = \frac{1}{2\omega\mu_m k_m r^2} |\vec{A}_{diff}|^2 \cdot \vec{n} \quad (\text{I.21})$$

de sorte que la puissance  $P_{diff}$  s'exprime par :

$$P_{diff} = \frac{1}{2\omega\mu_m k_m R^2} \int_{\Sigma} |\vec{A}_{diff}(\vec{n})|^2 d\Sigma \quad (\text{I.22})$$

Cette intégrale de surface peut être transformée en une intégrale directionnelle sur  $4\pi$  stéradians. En effet,  $d\Sigma$  étant un élément de surface de la sphère fictive  $\Sigma$  de rayon  $R$ , la quantité  $d\Sigma/R^2$  n'est autre que l'angle solide élémentaire  $d\Omega$ . Ainsi, nous retiendrons l'expression de la puissance  $P_{diff}$  suivante :

$$P_{diff} = \frac{1}{2\omega\mu_m k_m} \int_{4\pi} |\vec{A}_{diff}(\vec{n})|^2 d\Omega \quad (\text{I.23})$$

Enfin, la puissance absorbée  $P_{abs}$  se déduit simplement en soustrayant la puissance diffusée  $P_{diff}$  (Eq.I.23) à la puissance d'extinction  $P_{ext}$  (Eq.I.18) comme nous l'avons vu Eq.I.14.

### I.3.5 Notions de sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion

Par définition, la section efficace est homogène à une surface et représente la surface effective de la particule interagissant avec la lumière incidente. Pour exprimer les sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion, nous définissons la puissance surfacique incidente comme la norme du vecteur de Poynting moyenné dans le temps :

$$\psi_{inc} = \left| \langle \vec{S}_{inc}(\vec{r}) \rangle \right| \quad (I.24)$$

Ainsi, les sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion s'expriment de la manière suivante :

$$\begin{aligned} C_{ext} &= \frac{P_{ext}}{\psi_{inc}} \\ C_{abs} &= \frac{P_{abs}}{\psi_{inc}} \\ C_{diff} &= \frac{P_{diff}}{\psi_{inc}} \end{aligned} \quad (I.25)$$

et, connaissant l'Eq.I.14, elles vérifient naturellement l'égalité :

$$C_{ext} = C_{diff} + C_{abs} \quad (I.26)$$

### I.3.6 Cas d'une polarisation quelconque

Pour simplifier les calculs, nous avons considéré jusqu'ici le cas d'une onde incidente polarisée suivant le vecteur unitaire complexe  $\vec{e}$ . Pour résoudre le cas d'une lumière incidente non polarisée, c.à.d. de polarisation  $\vec{e}$  fluctuant de manière aléatoire et équiprobable en terme de direction dans le plan vectoriel orthogonal à  $\vec{u}$ , il suffit de superposer les résultats obtenus pour une lumière polarisée suivant  $\vec{v}$  d'une part, et  $\vec{w}$  d'autre part. Cela correspond à calculer la moyenne algébrique des résultats pour les deux polarisations orthogonales  $\vec{v}$  et  $\vec{w}$  quel que soit le couple de vecteurs  $(\vec{v}, \vec{w})$  qui forme une base orthonormée avec  $\vec{u}$ . Ainsi, dans le cas d'une lumière incidente non polarisée, les sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion sont :

$$\begin{aligned} C_{ext}^{NP} &= \frac{1}{2} (C_{ext}^P(\vec{u}, \vec{v}) + C_{ext}^P(\vec{u}, \vec{w})) \\ C_{abs}^{NP} &= \frac{1}{2} (C_{abs}^P(\vec{u}, \vec{v}) + C_{abs}^P(\vec{u}, \vec{w})) \\ C_{diff}^{NP} &= \frac{1}{2} (C_{diff}^P(\vec{u}, \vec{v}) + C_{diff}^P(\vec{u}, \vec{w})) \end{aligned} \quad (I.27)$$

les notation "NP" et "P" indiquant respectivement le cas d'une onde électromagnétique incidente non polarisée et polarisée. Dans ce cas, on retrouve la même égalité liant les sections efficaces que pour la lumière polarisée (Eq.I.26) :

$$C_{ext}^{NP} = C_{diff}^{NP} + C_{abs}^{NP} \quad (I.28)$$

### I.3.7 Conclusion

Dans cette sous-section, nous avons exprimé les sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion d'une particule dans un milieu "m" éclairée par une onde plane monochromatique non polarisée en fonction des champs électromagnétiques incident, éteint et diffusé. Ces formules sont vraies pour une longueur d'onde donnée et peuvent s'appliquer à toute longueur d'onde du spectre.

## I.4 Diffusion et absorption par une particule sphérique

Dans la section précédente, nous avons introduit les expressions analytiques des champs électromagnétiques, des puissances et des sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion dans le cas d'une particule quelconque. Dans cette section, nous nous intéressons aux particules sphériques et nous présentons donc les théories de Mie et de Rayleigh.

### I.4.1 Théorie de Mie

L'appellation "théorie de Mie" fait référence à la solution analytique du problème électromagnétique visant à déterminer les champs électromagnétiques dans une particule sphérique et dans son milieu environnant. Cette théorie doit son nom au physicien allemand Gustav Mie qui publia ses calculs en 1908 [6] alors qu'il étudiait les propriétés d'absorption et de diffusion dans le visible de particules colloïdales d'or.

L'accès à la solution du problème électromagnétique de Mie passe par un parcours mathématique assez fastidieux et est correctement documenté dans les références [7, 50, 64].

Mie a étudié le cas d'une particule sphérique dans un milieu non absorbant et éclairée par une onde plane polarisée. La géométrie sphérique de la particule incite naturellement à exprimer les différents champs électromagnétiques en jeu en coordonnées sphériques et, en particulier, à déterminer le développement du champ diffusé en harmoniques sphériques vectorielles. A partir de l'expression analytique complète du champ diffusé, des équations des puissances éteinte (Eq.I.18) et diffusée (Eq.I.23) et de la puissance surfacique incidente (Eq.I.17), il est possible de déduire les expressions des sections efficaces en lumière polarisée dans un premier temps, puis pour une lumière de polarisation quelconque (voir Sec.I.3.6).

Ainsi, Gustav Mie a montré que les expressions des sections efficaces d'extinction, de

diffusion et d'absorption sont respectivement :

$$\begin{aligned}
 C_{ext}^{NP} &= \frac{\lambda_m^2}{2\pi} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \Re \{a_n + b_n\} \\
 C_{diff}^{NP} &= \frac{\lambda_m^2}{2\pi} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \\
 C_{abs}^{NP} &= C_{ext}^{NP} - C_{diff}^{NP}
 \end{aligned} \tag{I.29}$$

où  $n$  est un entier,  $\lambda_m$  est la longueur d'onde du rayonnement incident dans le milieu "m". Les deux séries  $(a_n)_{n \geq 1}$  et  $(b_n)_{n \geq 1}$ , couramment appelées séries de Mie, ont des expressions assez complexes qui se simplifient quelque peu quand la particule et son milieu environnant présentent des perméabilités magnétiques identiques ce qui sera le cas dans les échantillons que nous allons envisager. Les coefficients  $a_n$  et  $b_n$  ( $n \geq 1$ ) se calculent alors au moyen des relations suivantes :

$$\begin{aligned}
 a_n &= \frac{m\psi_n(mx)\psi'_n(x) - \psi_n(x)\psi'_n(mx)}{m\psi_n(mx)\xi'_n(x) - \xi_n(x)\psi'_n(mx)} \\
 b_n &= \frac{\psi_n(mx)\psi'_n(x) - m\psi_n(x)\psi'_n(mx)}{\psi_n(mx)\xi'_n(x) - m\xi_n(x)\psi'_n(mx)}
 \end{aligned} \tag{I.30}$$

dans lesquelles :

- les fonctions  $\psi_n(\rho)$  et  $\xi_n(\rho)$  sont les fonctions de Ricatti-Bessel définies respectivement par :

$$\psi_n(\rho) = \rho J_n(\rho) \quad \& \quad \xi_n(\rho) = \rho H_n(\rho) \tag{I.31}$$

les notations  $J_n$  et  $H_n$  faisant référence respectivement aux fonctions sphériques de Bessel et de Hankel d'ordre  $n$ .

- La grandeur  $x$ , définie par  $x = k_m a$ , est un paramètre sans dimension couramment appelé paramètre de taille rapporté au milieu environnant (milieu "m").  $x$  est réel car le milieu hôte est supposé non absorbant.
- La grandeur  $m$ , définie par  $m = \frac{N_p}{N_m} = \frac{k_p}{k_m}$ , est elle aussi un paramètre sans dimension et représente le contraste d'indice optique complexe entre la particule et le milieu "m". Le produit  $mx$  vaut  $k_p a$ ,  $k_p$  étant la norme du vecteur d'onde dans la particule et correspond au paramètre de taille rapporté à la particule. Cette quantité est complexe lorsque la particule est constituée d'un matériau absorbant le rayonnement électromagnétique.

A l'examen des expressions Eq.I.30, il apparaît que les deux séries de coefficients de diffusion  $a_n$  et  $b_n$  ne sont fonctions que des deux paramètres sans dimension introduits ci-dessus que sont le paramètre de taille  $x$  (réel) et le contraste d'indice optique complexe  $m$  (éventuellement complexe).

Dans ce paragraphe, nous avons défini de manière analytique complète les sections efficaces d'absorption de diffusion et d'extinction de Mie valables pour toutes tailles ( $x$ ) de particules sphériques présentant un contraste d'indice optique  $m$  avec le milieu environnant. Nous introduisons à présent la théorie de Rayleigh traitant uniquement des particules petites devant la longueur d'onde comme celles que nous utiliserons pour nos expériences.

### I.4.2 Théorie de Rayleigh

A la même époque que Mie (Allemagne, 1908), Rayleigh (Angleterre, 1915-1920) a développé une théorie compatible avec la théorie de Mie mais plus restrictive en ce sens qu'elle traite uniquement le cas des petites particules.

Dans cette section, nous présentons cette théorie comme un cas limite de la théorie générale de Mie lorsque  $x \ll 1$  et  $|m-1|x \ll 1$  [7, 50, 65]. Bien que les théories de Mie et Rayleigh soient indépendantes et que Rayleigh n'ait pas explicitement traité le cas des particules absorbantes, nous associons à la théorie de Rayleigh le cas de tous les types de petites particules.

Nous définissons ici les sections efficaces de diffusion et d'absorption de Rayleigh comme un cas limite de la théorie de Mie pour les petites particules. Lorsque  $x \ll 1$  et  $|m-1|x \ll 1$ , on a également  $|m|x \ll 1$  et on démontre que le coefficient de diffusion  $a_{n=1}$  a pour équivalent :

$$a_1 \simeq -\frac{2ix^3}{3} \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \quad (\text{I.32})$$

et que tous les autres coefficients de diffusion  $a_n$  ( $n \geq 2$ ) et  $b_n$  ( $n \geq 1$ ) sont infiniment petits devant  $a_1$ . Ainsi, pour une petite particule sphérique de rayon  $a$  les expressions Eq.I.29 des sections efficaces d'extinction et de diffusion se réduisent à :

$$\begin{aligned} C_{ext}^{NP} &= \frac{6\pi a^2}{x^2} \Re\{a_1\} = 4\pi a^2 x \Im\left\{\frac{m^2-1}{m^2+2}\right\} \\ C_{diff}^{NP} &= \frac{6\pi a^2}{x^2} |a_1|^2 = \frac{8}{3}\pi a^2 x^4 \left|\frac{m^2-1}{m^2+2}\right|^2 \end{aligned} \quad (\text{I.33})$$

de sorte que, si le contraste d'indice optique complexe  $m$  est tel que le groupement  $\Im\left(\frac{m^2-1}{m^2+2}\right)$  est "suffisamment différent de zéro" (la condition  $\Im\left(\frac{m^2-1}{m^2+2}\right) = 0$  étant vérifiée pour  $m \in \mathbb{R}$ ) alors l'efficacité de diffusion est très petite par rapport à celle d'extinction, elle-même devenant par conséquent à peu près égale à celle d'absorption :

$$C_{abs} \approx C_{ext} \quad (\text{I.34})$$

Ainsi, pour une petite particule, la section efficace de diffusion varie comme son volume au carré, c.à.d. comme son rayon à la puissance six ( $V^2 \propto a^2 x^4 \propto a^6$ ), et la section efficace d'absorption comme le volume, c.à.d. comme le rayon au cube ( $V \propto a^2 x \propto a^3$ ). Les sections efficaces de diffusion et d'absorption calculées par la théorie de Mie à deux longueurs d'onde différentes en fonction du diamètre de la particule pour une particule d'or plongée dans de l'eau sont représentée Fig.I.13.

Trois phénomènes sont remarquables sur cette figure :

- Les sections efficaces sont plus grande lorsque les particules sont illuminées dans la bande de longueurs d'onde de résonance plasmon (532 nm).
- Pour de petites particules ( $d < 100$  nm), le phénomène d'absorption variant en  $d^3$  domine le phénomène de diffusion variant en  $d^6$ .

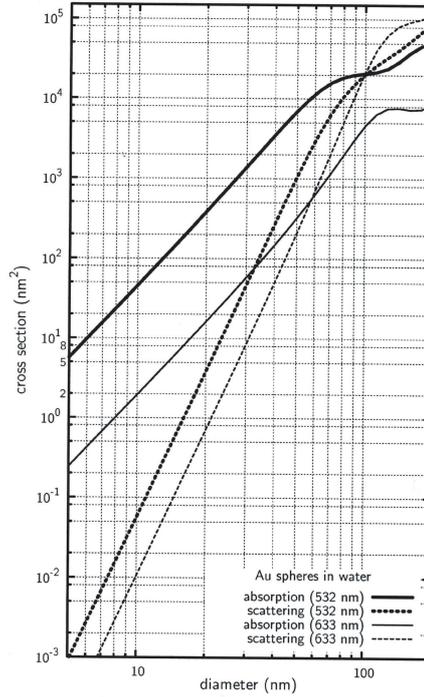


FIG. I.13 – Sections efficaces de diffusion et d'absorption calculées par la théorie de Mie [66].

- Les sections efficaces sont très petites donc la puissance de lumière diffusée ou absorbée l'est également. Ainsi, pour une particule de 100 nm illuminée à 532 nm, les sections efficaces sont de l'ordre de  $10^4 \text{ nm}^2$  ce qui signifie que la variation de puissance due à la présence de la particule est de l'ordre de  $10^{-10} \text{ W}$  pour une puissance surfacique incidente standard de  $1 \text{ W.cm}^{-2} = 10^{-14} \text{ W.nm}^{-2}$ . C'est cette faible variation de puissance que nous cherchons à détecter avec les instruments que nous avons développés.

#### I.4.3 Théorie de Mie en régime dipolaire : Approximation électrostatique

Il a été montré que, dans le cas de l'approximation électrostatique, une petite sphère placée dans un champ électrique uniforme statique  $\vec{E}_0$  se comporte comme un dipôle parfait de moment dipolaire proportionnel au champ appliqué [50] :

$$\vec{p} = \alpha(\omega)\vec{E}_0 \quad (\text{I.35})$$

où  $\alpha$  est la polarisabilité et traduit avec quelle "facilité" la sphère est polarisée :

$$\alpha(\omega) = 4\pi a^3 \frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + 2\epsilon_m} \quad (\text{I.36})$$

où  $\epsilon_p$  et  $\epsilon_m$  sont respectivement les permittivité diélectrique de la sphère et du milieu environnant.

Cette expression du moment dipolaire est restreinte à l'application d'un champ uniforme statique  $\vec{E}_0$ . Néanmoins, pour traiter le cas de la diffusion lorsque le champ appliqué est une onde plane  $\vec{E}_{inc}$  qui varie dans le temps et dans l'espace, dans nos calculs, nous considérons la sphère comme un dipôle idéal. Ainsi, dans l'expression du moment dipolaire Eq.I.35, le champ statique uniforme  $\vec{E}_0$  est remplacé par l'onde plane incidente  $\vec{E}_{inc}$  et les permittivités de la sphère et du milieu environnant dans l'expression de la polarisabilité Eq.I.36 dépendent désormais de la pulsation  $\omega$  de l'onde incidente.

Le potentiel vecteur rayonné en champ lointain s'écrit [50, 67, 68] :

$$\vec{A}_{diff}(\vec{r}) = \frac{\mu_0 \exp(ikr)}{4\pi r} (-i\omega\vec{p}) \quad (\text{I.37})$$

avec  $\mu_0$  la perméabilité magnétique du vide. Le champ électrique rayonné en champ lointain se déduit du potentiel vecteur grâce à l'équation :

$$\vec{E}_{diff} = i\omega\vec{A}_\perp \quad (\text{I.38})$$

avec  $\vec{A}_\perp = \vec{A}_{diff} - (\vec{A}_{diff} \cdot \vec{u}) \cdot \vec{u}$  la composante transverse de  $\vec{A}_{diff}$  par rapport à la direction d'observation  $\vec{u}$ .

La puissance rayonnée dans la direction  $\vec{u}$ , dans l'angle solide  $d\Omega$ , se déduit du vecteur de Poynting :

$$\begin{aligned} \frac{dP_{diff}}{d\Omega} &= \vec{S} \cdot \vec{u} r^2 \\ &= \frac{1}{2} \Re \{ E_{diff} \vec{H}_{diff}^* \} \cdot \vec{u} \cdot r^2 \\ &= \frac{\omega^2}{2c_m \mu_0} |\vec{A}_\perp|^2 r^2 \\ &= \frac{\mu_0 \omega^4}{32\pi^2 c_m} |\vec{p}|^2 \sin^2 \theta \end{aligned} \quad (\text{I.39})$$

La puissance totale s'obtient en intégrant sur tout l'espace angulaire, c.à.d.  $4\pi$  stéradians :

$$\begin{aligned} P_{diff} &= \int_{4\pi} \frac{dP_{diff}}{d\Omega} d\Omega \\ &= \frac{\mu_0 \omega^4}{32\pi^2 c_m} |\vec{p}|^2 \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^\pi \sin^3 \theta d\theta \\ &= \frac{\mu_0 \omega^4}{12\pi c_m} |\vec{p}|^2 \end{aligned} \quad (\text{I.40})$$

En introduisant l'expression du moment dipolaire  $\vec{p} = \alpha(\omega)\vec{E}_{inc}$ , et en rappelant que la puissance surfacique incidente est  $\psi_{inc} = \frac{\epsilon_0 c_m}{2|\vec{E}_{inc}|^2}$ , il s'ensuit que la section efficace

de diffusion est :

$$\begin{aligned}
 C_{diff} &= \frac{P_{diff}}{\psi_{inc}} \\
 &= \frac{\omega^4}{6\pi c_m^4} |\alpha(\omega)|^2 \\
 &= \frac{8}{3}\pi a^6 k_m^4 \left| \frac{\epsilon_p(\omega) - \epsilon_m(\omega)}{\epsilon_p(\omega) + 2\epsilon_m(\omega)} \right|^2 \\
 &= \frac{8}{3}\pi a^2 x^4 \left| \frac{\epsilon_p(\omega) - \epsilon_m(\omega)}{\epsilon_p(\omega) + 2\epsilon_m(\omega)} \right|^2
 \end{aligned} \tag{I.41}$$

Le phénomène d'absorption résultant de l'interférence entre les ondes incidente et diffusées, par analogie, la section efficace d'extinction peut s'écrire :

$$C_{abs} = 4\pi a^2 x \Im \left\{ \frac{\epsilon_p(\omega) - \epsilon_m(\omega)}{\epsilon_p(\omega) + 2\epsilon_m(\omega)} \right\} \tag{I.42}$$

Nous retrouvons ainsi Eq.I.41 une section efficace de diffusion de Mie en régime dipolaire, équivalente à celle de l'Eq.I.33, variant comme le diamètre de la particule à la puissance six ( $V^2 \propto a^2 x^4$ ) et en  $\lambda^{-4}$  (contenu dans le terme  $x^4$ ). Ceci est caractéristique de la diffusion par des particules de taille très inférieure à la longueur d'onde (diffusion de Rayleigh), comme nous l'avons vu au début de ce chapitre (Sec.I.1.2). La section efficace d'absorption (Eq.I.42) varie comme le diamètre de la particule au cube ( $V \propto a^2 x$ ) comme nous l'avons vu Eq.I.33

Pour les simulations numériques des sections efficaces, nous préférons utiliser les expressions des Eq.I.41 et Eq.I.42 qui font apparaître clairement les paramètres physiques de permittivités diélectriques du milieu et de la particules, dont nous avons connaissance.

#### I.4.4 Conclusion

La théorie de Mie nous donne accès aux expressions analytiques complètes des sections efficaces d'extinction d'absorption et de diffusion d'une particule sphérique. La théorie de Rayleigh est plus spécifique aux petites particules sphériques comme celles que nous allons étudier expérimentalement.

### I.5 Influence de la permittivité et de la dimension de la particule sur les sections efficaces

Dans cette section, nous montrons l'influence de la permittivité diélectrique du milieu et de la particule sur les sections efficaces de diffusion et d'absorption. Nous évaluons ensuite la variation de la permittivité diélectrique de la particule lorsque le diamètre de celle-ci diminue ainsi que son impact sur la réponse optique de la particule.

### I.5.1 Influence des permittivités du milieu et de la particule dans les sections efficaces

Dans ce manuscrit, nous considérons que la permittivité diélectrique du milieu reste constante sur tout le spectre. Par contre, nous tenons compte du fait que la permittivité diélectrique complexe de la particule varie non seulement en fonction de la longueur d'onde mais aussi en fonction de la taille de la particule. Plusieurs expériences ont permis la mesure de la permittivité diélectrique de différents matériaux massifs en fonction de la longueur d'onde [54, 69]. Cependant, la dépendance de la permittivité diélectrique en fonction des dimensions du matériau ne peut être évaluée expérimentalement pour toutes les tailles et formes de particules.

Les sections efficaces d'absorption et de diffusion de Mie en régime dipolaire (Eq.I.33) peuvent s'exprimer [50] en fonction des permittivités diélectriques de la particule et de son environnement :

$$\begin{aligned} C_{ext} &= 4\pi a^2 x \Im \left( \frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + 2\epsilon_m} \right) \\ C_{diff} &= \frac{8}{3} \pi a^2 x^4 \left| \frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + 2\epsilon_m} \right|^2 \end{aligned} \quad (\text{I.43})$$

et nous remarquons qu'elles sont maximum à la longueur d'onde de résonance plasmon pour :

$$\epsilon_p \approx -2\epsilon_m \quad (\text{I.44})$$

où  $\epsilon_m$  est la permittivité diélectrique du milieu environnant, supposé non absorbant, et  $\epsilon_p = \epsilon'_p + j\epsilon''_p$  la permittivité complexe de la particule. Pour qu'il y ait résonance des plasmons de surface, il est nécessaire que la partie imaginaire de la permittivité de la particule soit non nulle et faiblement dispersée en fonction de la longueur d'onde, comme c'est le cas pour les métaux nobles. Sachant cela, la relation Eq.I.44 se traduit par :

$$\begin{aligned} \epsilon'_p &\approx -2\epsilon_m \\ \epsilon''_p &\approx cte \end{aligned} \quad (\text{I.45})$$

La fréquence où les sections efficaces d'extinction et de diffusion sont maximales ( $\epsilon'_p \approx -2\epsilon_m$  et  $\epsilon''_p \approx cte$ ) est appelée la fréquence de Fröhlich  $\omega_F$  et varie en fonction des permittivités diélectriques du milieu et de la particule. Comme nous considérons que la permittivité du milieu est constante sur tout le spectre, la fréquence où l'on voit apparaître un pic de résonance dans les sections efficaces (Fröhlich) dépend de la longueur d'onde du rayonnement électromagnétique, par le biais de la permittivité diélectrique complexe de la particule pour un milieu donné. Les sections efficaces d'absorption et de diffusion d'une particule d'or de 100 nm de diamètre baignant dans l'air ( $n_{air} = 1$ ) ou dans le verre ( $n_{verre} = 1,5$ ) sont représentées Fig.I.14. En fonction du milieu, la longueur d'onde de résonance se décale puisque l'égalité  $\epsilon_p(\lambda) = -2\epsilon_m$  est minimum pour des valeurs différentes de  $\lambda$ . Ainsi, pour une même particule, la longueur d'onde de résonance est inférieure d'une centaine de nanomètres quand le

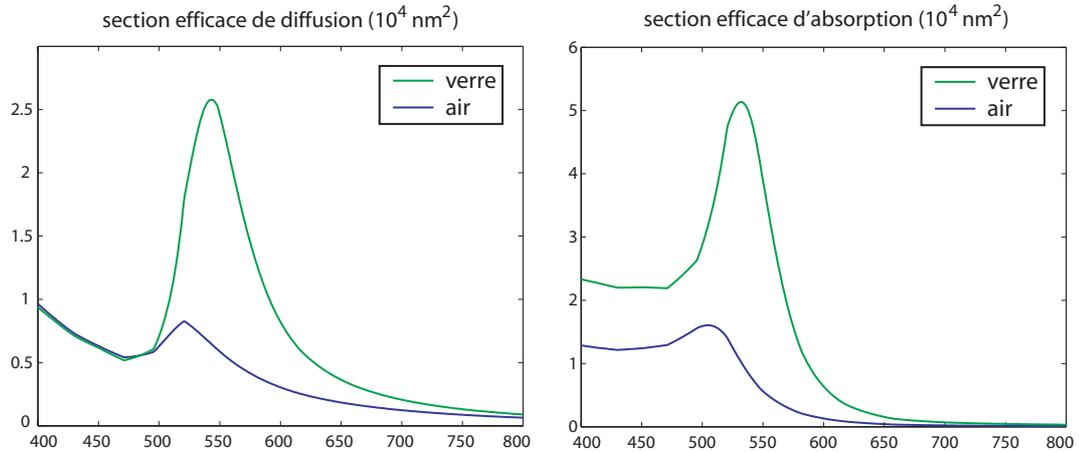


FIG. I.14 – Sections efficaces de diffusion et d'absorption calculées par la théorie de Mie [66].

milieu environnant est de l'air plutôt que du verre. On note également que le choix du milieu environnant, par le biais de sa permittivité diélectrique, influe sur l'amplitude des sections efficaces. Ainsi pour la même particule, les sections efficaces d'absorption et de diffusion sont accrues d'un facteur trois lorsque le milieu est du verre plutôt que de l'air. Ainsi, nous prendrons en compte ce paramètre lors de la réalisation de nos expériences.

### I.5.2 Cas de particules dont le rayon tend vers zéro : Réduction du libre parcours moyen

La permittivité diélectrique d'une particule est, la plupart du temps, la même que celle du matériau massif qui la constitue à l'exception des particules métalliques de dimension plus petite que le libre parcours moyen des électrons de conduction dans le métal massif. Dans ce cas, le libre parcours moyen est limité par les collisions avec les bords de la particule. Cet effet a fait l'objet de nombreuses études théoriques et expérimentales dont les principaux résultats ont été publiés en 1995 par Kreibig et Vollmer [67]. La permittivité diélectrique d'un métal peut être décomposée en un terme d'électrons libres et un terme interbande, ou terme d'électrons liés, comme nous l'avons vu Sec.I.2.1.3. Cette séparation de termes est importante dans la limitation du libre parcours moyen car seul le terme d'électrons libres est modifié. Une bonne discussion sur la limitation du libre parcours moyen a été donnée par Kreibig [70], qui a appliqué ces résultats pour interpréter l'absorption par de petites particules d'argent.

L'idée de base est simple : dans le modèle de Drude-Lorentz, le coefficient d'amortissement  $\gamma$ , qui est l'inverse du temps de collision des électrons de conduction, est augmentée en raison des collisions supplémentaires avec les "bords" de la particule.

En faisant l'hypothèse que les électrons sont réfléchis élastiquement au niveau de l'interface,  $\gamma$  peut s'écrire :

$$\gamma_p = \gamma_{massif} + \frac{v_F}{L} \quad (\text{I.46})$$

où  $\gamma_{massif}$  est le coefficient d'amortissement du métal massif,  $v_F$  est la vitesse de l'électron au niveau de Fermi, et  $L$  est le libre parcours moyen effectif pour les collisions avec les bords de la particule. Kreibig a utilisé  $L = 4a/3$  pour une sphère de rayon  $a$ , bien qu'il y ait de légers désaccords entre les différents auteurs sur le coefficient de proportionnalité liant  $L$  et  $a$ .

Ainsi, dans le cas de petites particules de diamètre typiquement inférieur à 20 nm, la permittivité diélectrique de la particule devient :

$$\epsilon_p = 1 - \frac{\omega_{plasma}^2}{\omega^2 + i(\gamma_{massif} + \frac{3v_F}{4a})\omega} \quad (\text{I.47})$$

avec pour parties réelle et imaginaire

$$\begin{aligned} \epsilon_p' &= 1 - \frac{\omega_{plasma}^2}{\omega^2 + (\gamma_{massif} + \frac{3v_F}{4a})^2} \\ \epsilon_p'' &= 1 - \frac{\omega_{plasma}^2 (\gamma_{massif} + \frac{3v_F}{4a})}{\omega(\omega^2 + (\gamma_{massif} + \frac{3v_F}{4a})^2)} \end{aligned} \quad (\text{I.48})$$

Dans l'équation Eq.I.48, on voit que la fréquence de Fröhlich varie en fonction de la taille de la particule. Ainsi, quand la taille de la particule diminue, la fréquence de résonance apparaissant dans les sections efficaces se décale légèrement vers les hautes fréquences, c.à.d. que la longueur d'onde de résonance diminue, et le pic de résonance s'élargit.

### I.5.3 Conclusion

Dans cette section, nous avons montré que la permittivité du milieu dans lequel baigne la particule joue un rôle important dans la réponse optique. Puis, nous avons évalué l'expression de la permittivité de la particule lorsque le diamètre diminue et devient inférieur au libre parcours moyen des électrons libres dans le matériau massif. Nous avons ainsi déterminé que le pic dit "de résonance", apparaissant dans les sections efficaces à la fréquence de Fröhlich, devient plus étroit et est translaté vers des longueurs d'onde plus petites lorsque les dimensions de la particule diminuent.

## I.6 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté qualitativement les phénomènes physiques mis en jeu dans la diffusion et l'absorption de la lumière par des particules. Puis, afin de déterminer les sections efficaces d'extinction, d'absorption et de diffusion, nous

avons traité analytiquement ces phénomènes, d'abord dans le cas d'une particule quelconque, puis dans le cas d'une particule sphérique (théories de Mie et Rayleigh). Enfin, nous avons montré le rôle prépondérant de la permittivité diélectrique de la particule dans les expressions des sections efficaces et nous avons mis en évidence les variations de la permittivité en fonction de la taille de la particule.

L'essentiel à retenir de ce chapitre est que les sections efficaces de diffusion et d'absorption varient comme  $d^6$  et  $d^3$  respectivement. Ces sections efficaces décroissent très rapidement avec le diamètre de la particule et sont très faibles. Par exemple, la puissance diffusée ou absorbée par une particule d'or de 100 nm plongée dans du verre et illuminée à 532 nm est de l'ordre de  $10^{-10}$  W pour une puissance surfacique incidente standard de  $1 \text{ W.cm}^{-2} = 10^{-14} \text{ W.nm}^{-2}$ . Le signal de diffusion que nous voulons détecter est donc très faible et les instruments que nous développons se doivent d'être très sensibles.

Par ailleurs, en raison des faibles dimensions des particules, une oscillation collective des électrons de conduction apparaît. Ce phénomène, appelé résonance de plasmons de surface, se traduit par un pic de résonance à une longueur d'onde donnée dans les sections efficaces de diffusion et d'absorption dont la largeur et la position en longueur d'onde varie en fonction de la dimension de la particule. Ce phénomène sera exploité dans nos expériences.

Grâce aux expressions analytiques des sections efficaces et de la permittivité diélectrique en fonction de la taille de la particule, nous possédons désormais toutes les données nécessaires à la simulation des phénomènes d'absorption et de diffusion.



---

## Chapitre II

# Microscopie synchrone multiplexée

---

### Sommaire

---

II.1	La microscopie optique : principe, limites et état de l'art . . . . .	32
II.1.1	Description succincte du principe de fonctionnement . . . . .	32
II.1.2	Notions de grandissement . . . . .	35
II.1.3	Limite de diffraction et conséquences pour la résolution . . . . .	37
II.1.4	Conclusion sur la microscopie . . . . .	44
II.2	La détection synchrone multiplexée . . . . .	45
II.2.1	La détection synchrone monocanal . . . . .	45
II.2.2	Extension au capteur CCD . . . . .	49
II.2.3	Atténuation des différentes sources de bruits grâce à la détection synchrone multiplexée . . . . .	56

---

Dans ce chapitre, nous présentons les outils de base nécessaires à la réalisation des dispositifs expérimentaux d'imagerie et de spectroscopie de nano-objet d'or en microscopie optique plein champ.

Dans une première section, nous rappelons les notions élémentaires de microscopie en détaillant le principe de fonctionnement et en présentant les résolutions latérales et axiales induites par la limite de diffraction.

Dans une seconde section, nous exposons le principe de détection synchrone multiplexée, développé au laboratoire d'Optique Physique dans les années 90, qui permet d'extraire des signaux modulés acquis en parallèle sur une matrice de détecteur sans utiliser de détecteur synchrone. Pour ce faire, nous rappelons brièvement le principe de la détection synchrone monocanal et nous montrons que ce type de détection permet de supprimer une grande partie du bruit sans affecter le signal, augmentant ainsi

le rapport signal à bruit (RSB de la mesure). Puis, nous montrons comment étendre le principe de la détection synchrone à une matrice de détecteur de type CCD (Charge Coupled Device), dont nous détaillons les bruits intrinsèques. Enfin nous évaluons le gain en RSB obtenu grâce à ce dispositif

## II.1 La microscopie optique : principe, limites et état de l'art

Au *XVI<sup>e</sup>* siècle, les opticiens lunetiers Hollandais Janssen Père et Fils mettaient au point ce qui allait être le premier microscope optique. Dès lors, il fut possible d'observer la nature comme cela n'avait jamais été possible auparavant. Depuis, le microscope a fait l'objet d'un grand nombre de travaux pour devenir un outil très performant. De nos jours, le microscope s'est imposé comme un outil de choix pour un très grand nombre d'applications.

Cette section se veut être une introduction à la microscopie optique. Nous verrons dans un premier temps comment un microscope permet d'obtenir une image agrandie d'un objet, les différentes configurations que l'on peut rencontrer. Nous introduirons ensuite la notion de réponse impulsionnelle, image d'une source ponctuelle par le microscope, que nous nommerons PSF d'après l'anglais *Point Spread Function*. Celle-ci sera calculée et nous pourrons alors définir les limites du microscope en matière de résolution, c.à.d. sa capacité à séparer deux objets proches l'un de l'autre qui constitue une limitation en terme d'imagerie.

Ces limitations sont confrontées à la demande croissante des chercheurs et des industriels pour des applications de plus en plus exigeantes en terme de résolution et de précision.

### II.1.1 Description succincte du principe de fonctionnement

Un microscope fournit une image agrandie d'un objet. Dans sa version moderne la plus épurée, il se compose d'un objectif ( $L_1$ ), d'une lentille de tube ( $L_t$ ) et d'un oculaire ( $L_2$ ) pour permettre la visualisation à l'oeil de l'objet [71]. Bien que simplifié, le schéma, représenté Fig.II.1, illustre parfaitement le principe de fonctionnement d'un microscope :

L'objet  $AB$  étant placé au foyer de l'objectif ( $L_1$  de focale  $f_1$ ), c.à.d. dans le plan focal objet (PFO) de ce dernier, son image se retrouve alors envoyée à l'infini. La lentille de tube ( $L_t$  de focale  $f_t$ ) forme alors une image  $A'B'$  de l'objet dans son plan focal image. Un détecteur peut éventuellement être placé dans ce plan pour obtenir une image  $A'B'$  de  $AB$  agrandie d'un facteur  $\frac{f_t}{f_1}$ . On peut également placer un oculaire dont le foyer est confondu avec celui de la lentille de tube pour renvoyer l'image à l'infini ce qui permet une observation confortable à l'oeil.

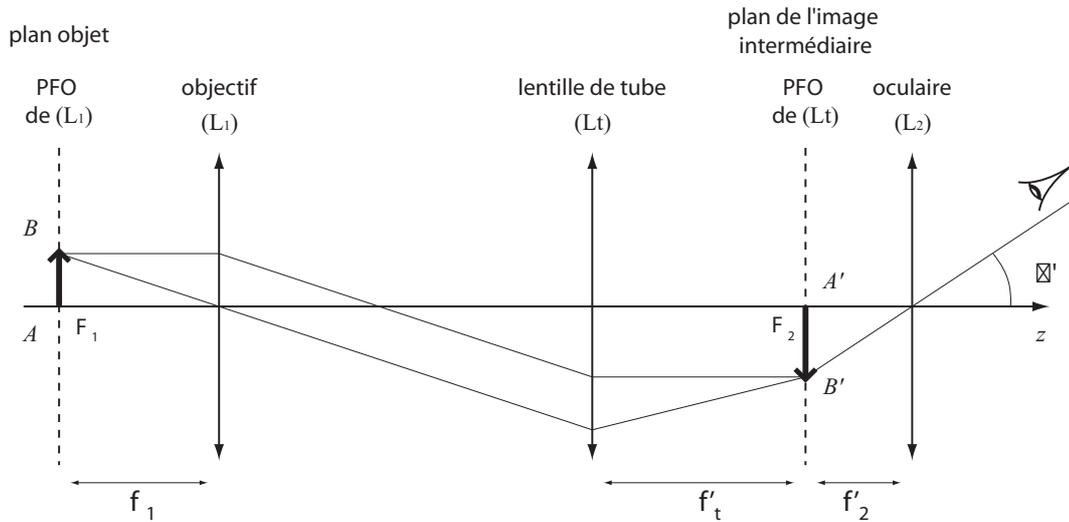


FIG. II.1 – Schéma simplifié d'un microscope.

Il existe plusieurs modes de fonctionnement du microscope, suivant la manière dont l'objet est éclairé. Les deux modes de fonctionnement principaux sont :

- En transmission : L'objet est éclairé par un faisceau se propageant de l'objet vers l'objectif qui collecte la lumière transmise par l'objet. Ce type de montage requiert l'utilisation d'une série d'optiques additionnelles permettant d'éclairer l'objet de façon adéquate.
- En réflexion : Dans cette configuration, l'objet est éclairé à travers l'objectif qui collecte la lumière réfléchi par l'objet.

L'éclairage joue un rôle primordial sur la qualité des images obtenues. En effet un mauvais éclairage entraîne une illumination non uniforme de l'objet et donc une image qui ne reproduit pas fidèlement l'objet. Nous présentons ici trois types d'éclairages :

- L'éclairage critique (Fig.II.2) : L'image de la source se forme sur l'objet. Ce type d'éclairage est à proscrire lorsque la source lumineuse n'est pas uniforme car l'objet se trouve éclairé de manière non homogène
- L'éclairage Köhler (Fig.II.3) : C'est de loin la configuration la plus utilisée, elle porte le nom de son inventeur, le Dr. August Köhler (1881-1964). L'objet est ici éclairé en envoyant l'image de la source à l'infini ce qui permet de s'affranchir de l'inhomogénéité éventuelle de la source et d'illuminer correctement l'objet. Ce dispositif d'éclairage comporte deux diaphragmes. Le diaphragme de champ ( $DC$ ) permet de restreindre le champ éclairé ce qui a pour conséquence d'augmenter le contraste. En effet, en limitant l'éclairage à la zone observée, la diffusion par les structures qui ne sont pas dans le champ est limitée et une partie du fond parasite est supprimée. Le diaphragme d'ouverture ( $DO$ ) permet un

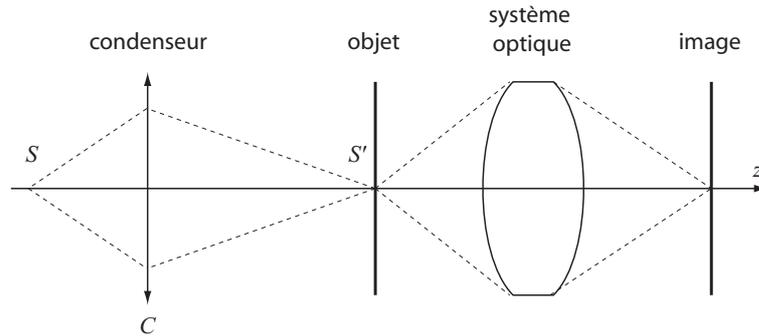


FIG. II.2 – Eclairage critique : L'objet est éclairé en formant l'image ( $S'$ ) de la source ( $S$ ) sur l'objet lui même.

contrôle de l'ouverture numérique de l'éclairage, c.à.d. qu'il limite l'angle d'incidence avec lequel les rayons lumineux arrivent sur l'objet. Ce diaphragme a un effet considérable sur le contraste de l'image obtenue puisque qu'il permet de passer d'un éclairage incohérent à un éclairage partiellement cohérent en limitant l'étendue spatiale de la source.

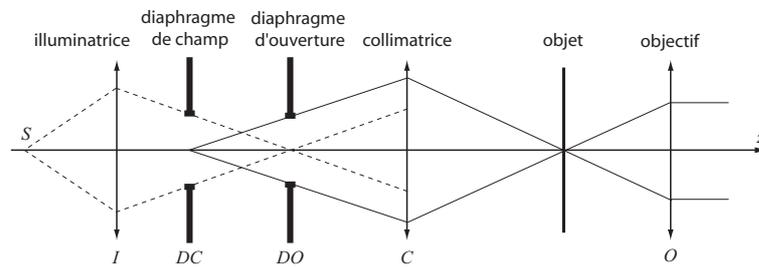


FIG. II.3 – Eclairage Köhler : L'objet est éclairé en envoyant l'image de la source à l'infini.

- L'éclairage fond noir : Ce type d'éclairage est obtenu éventuellement en association avec un éclairage Köhler en plaçant un diaphragme annulaire entre la source lumineuse et l'objet. Ainsi, la lumière provenant de la source, ayant un grand angle d'incidence, ne pénètre pas dans l'objectif et seule la lumière diffusée par l'échantillon dans l'angle de collection de l'objectif est imagée. Cette configuration d'éclairage permet d'améliorer grandement le contraste d'objets qui seraient trop peu absorbants pour être visibles en fond clair mais dont les structures présentent d'importantes variations d'indice de réfraction. Un dispositif d'éclairage fond noir en transmission est représenté Fig.II.4 [72] ; en réflexion, le principe reste le même.

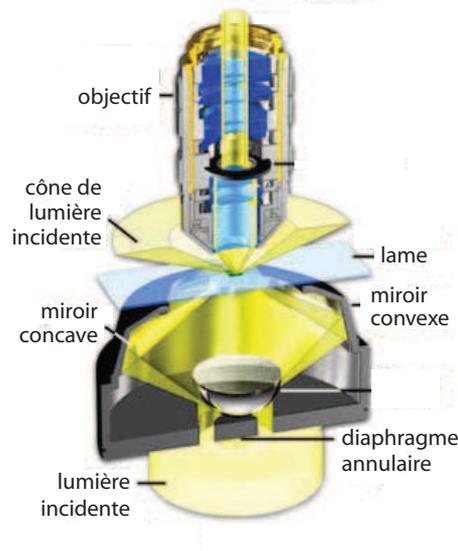


FIG. II.4 – Eclairage fond noir : L’objet est éclairé par un cône de lumière : Seule la lumière diffusée est collectée par l’objectif [73].

## II.1.2 Notions de grandissement

Pour tout système optique centré comme un microscope, on peut définir un grandissement qui rend compte du rapport entre des dimensions de l’objet dans le volume image sur celles dans le volume objet. En imagerie à deux dimension, on définit couramment le grandissement dans le plan image, ou grandissement transverse, mais rarement le grandissement le long de l’axe optique, ou grandissement axial, puisque l’image en volume n’est pas accessible. Dans la mesure où nous allons faire de l’imagerie en trois dimensions, nous définissons les paramètres de grandissement transversal et axial. Pour ce faire, nous avons schématisé un système optique centré, comparable à un microscope optique, Fig.II.5.

Le support d’un rayon incident parallèle à l’axe optique et passant par  $B$  (sommet de l’objet) rencontre les plans principaux objet et image du système optique en  $I$  et  $I'$ . Le rayon émergent correspondant passe par le foyer principal image  $F'$ . Le support d’un second rayon incident passant par  $B$  et par le foyer principal objet  $F$  rencontre les plans principaux objet et image respectivement en  $J$  et  $J'$ . Il émerge du système parallèlement à l’axe optique et rencontre le premier rayon en  $B'$ .

### II.1.2.1 Grandissement transversal

Avec les notations de la Fig.II.5, l’homothétie des triangles  $(FAB)$  et  $(FHJ)$ , d’une part, et celle des triangles  $(F'H'I')$  et  $(F'A'B')$ , d’autre part, donnent :

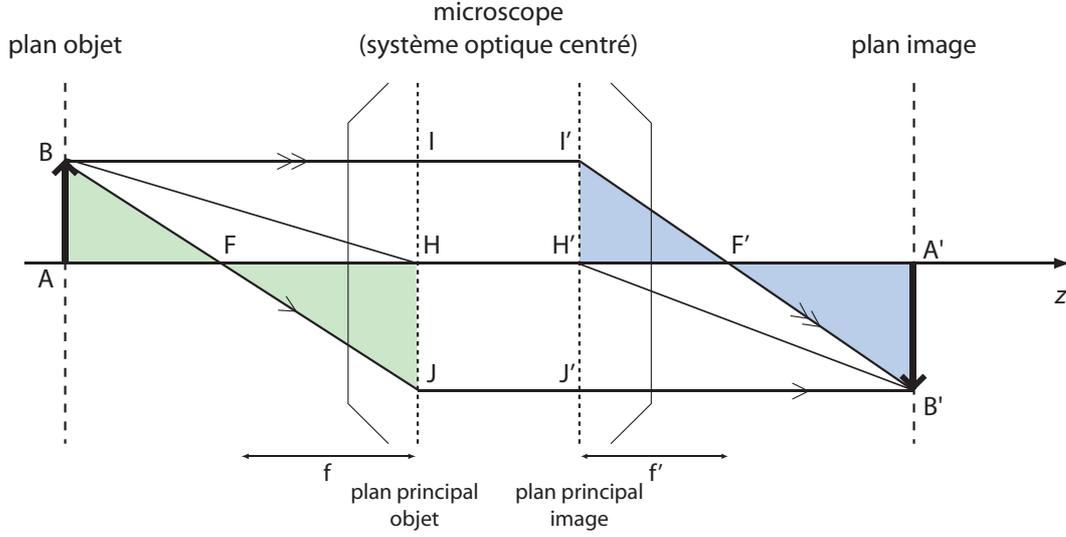


FIG. II.5 – Schéma d'un système optique centré comparable à un microscope optique.

$$\gamma = \frac{\bar{H}J}{\bar{A}B} = \frac{\bar{F}H}{\bar{F}A} \quad \text{et} \quad \gamma = \frac{\bar{A}'B'}{\bar{H}'I'} = \frac{\bar{F}'A'}{\bar{F}'H'} \quad (\text{II.1})$$

On obtient alors l'expression du grandissement transversal :

$$\gamma = \frac{\bar{A}'B'}{\bar{A}B} = \frac{\bar{F}'A'}{\bar{F}'H'} = \frac{\bar{F}H}{\bar{F}A} \quad (\text{II.2})$$

Le grandissement transversal est toujours négatif pour un système optique centré c.à.d. que l'image est inversée par rapport à l'objet.

### II.1.2.2 Grandissement axial

Pour un objet plan comme nous l'avons considéré Fig.II.5, le grandissement axial  $g = \frac{dz'}{dz}$  correspond à la variation de position sur l'axe optique  $dz'$  de l'image  $A'$  associée à la variation de position sur l'axe optique  $dz$  du point objet  $A$ .

En prenant comme origine double les points foyers objet et image  $F$  et  $F'$ , les abscisses respectives des points  $A$  et  $A'$  sont :  $x = \bar{F}A$  et  $x' = \bar{F}'A'$ . Ces abscisses sont liées par la relation de conjugaison de Newton [74] :

$$\bar{F}A.F'A' = \bar{F}H.F'H' = (-f).(-f') = f.f' \quad (\text{II.3})$$

En différenciant cette relation, on obtient :

$$\bar{F}A.d(\bar{F}'A') + \bar{F}'A'.d(\bar{F}A) = 0 \quad (\text{II.4})$$

Ainsi, le grandissement axial s'exprime :

$$g = \frac{d(\overline{F'A'})}{d(\overline{FA})} = -\frac{\overline{F'A'}}{\overline{FA}} \quad (\text{II.5})$$

On peut également exprimer  $g$  en fonction du grandissement transversal  $\gamma$  :

$$g = -\frac{\overline{F'A'}}{\overline{F'H'}} \cdot \frac{\overline{H'F'}}{\overline{HF}} \cdot \frac{\overline{FH}}{\overline{FA}} = -\gamma \cdot (-1) \cdot \gamma \quad (\text{II.6})$$

car  $\frac{\overline{H'F'}}{\overline{HF}} = -1$  pour les systèmes optiques centrés dont les milieux extrêmes ont le même indice de réfraction comme c'est le cas pour un microscope utilisé avec un objectif à air. On en déduit :

$$g = \gamma^2 > 0 \quad (\text{II.7})$$

Ainsi, pour un système optique tel qu'un microscope, le grandissement axial est toujours positif : L'objet et l'image se déplacent dans le même sens le long de l'axe optique, sauf lorsque l'objet passe en  $F$  (point de discontinuité).

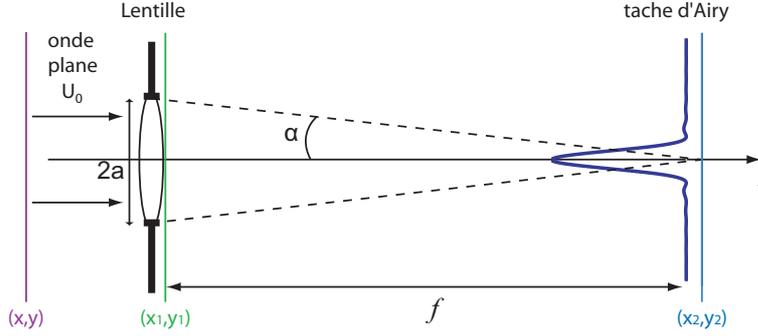
### II.1.3 Limite de diffraction et conséquences pour la résolution

Lorsqu'une onde lumineuse rencontre une ouverture (par exemple un diaphragme) elle est diffractée. On retrouve ce phénomène dans tous les systèmes optiques dont les différents éléments optiques ont des étendues spatiales finies. Ce phénomène n'est pas sans conséquences sur la formation des images. En effet, dans un système optique dépourvu d'aberrations, l'image d'un point n'est pas un point mais une tache de diffraction dont les dimensions dépendent de la longueur d'onde utilisée, de la forme et de la taille de la pupille. Afin de quantifier les performances d'un microscope, on utilise la notion de PSF. Celle-ci n'est autre que l'image d'une source ponctuelle au travers du système optique. On peut alors définir le pouvoir de résolution du microscope, c.à.d. sa capacité à séparer deux objets très proches. En effet, si deux objets ponctuels sont suffisamment proches pour que leurs taches images se recouvrent, alors ils ne sont plus discernables : on dit qu'ils ne sont pas résolus. La résolution d'un système optique se définit alors comme la distance minimale séparant deux objets telle qu'il soit possible de distinguer ces deux objets dans le plan image du système optique.

La connaissance de la PSF permet d'évaluer les performances d'un système optique. Cela s'avère particulièrement important en microscopie pour savoir quel niveau de détail il sera possible d'obtenir. Nous allons évaluer théoriquement la taille de la PSF dans les trois dimensions en fonction de la longueur d'onde et des caractéristiques des optiques utilisées.

#### II.1.3.1 Réponse transversale : tache d'Airy

La tache de diffraction, ou tache d'Airy, est l'image d'un objet ponctuel au travers d'un système optique. Dans ce paragraphe, nous allons évaluer les dimensions de cette


 FIG. II.6 – Tache d'Airy au foyer d'une lentille mince de focale  $f$ .

tache dans le cas d'une lentille mince convergente, correspondant à un modèle très simplifié de microscope.

Dans un premier temps, nous considérons l'effet d'une lentille convergente sur le champ incident. Elle transforme la phase du champ incident dont l'évolution temporelle est exprimée suivant la convention en  $e^{-j\omega t}$ . Le déphasage  $D(x, y)$  induit sur le champ incident est donné par [75] :

$$D(x, y) = e^{-jk \frac{x^2 + y^2}{2f}} \quad (\text{II.8})$$

où  $j^2 = -1$  et  $k = \frac{2\pi}{\lambda}$  et  $f$  est la focale de la lentille.

Pour déterminer l'effet de la lentille sur le champ incident, il faut ajouter à l'effet de phase un effet de limitation spatiale due à l'étendue finie de la lentille. La fonction pupillaire  $P(x, y)$  se définit comme une fonction disque de rayon  $a$  :

$$P(x, y) = \text{Disc}\left(\frac{\sqrt{x^2 + y^2}}{a}\right) = \begin{cases} 1 & \text{si } x^2 + y^2 < a^2 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (\text{II.9})$$

Ainsi, la transmission par la lentille  $t(x, y)$  est la composition du déphasage et de la fonction pupillaire  $P(x, y)$  :

$$t(x, y) = P(x, y) e^{-jk \frac{x^2 + y^2}{2f}} \quad (\text{II.10})$$

Nous considérons ici une onde incidente plane monochromatique ( $\lambda$ ) se propageant suivant  $z$  (Fig.II.6) et source éclairant uniformément l'objectif. Avant la lentille, le champ incident est noté  $U_0$  et est constant dans tout plan  $(x, y)$ . Immédiatement après la lentille, dans le plan  $(x_1, y_1)$  le champ  $U_1(x_1, y_1)$  s'écrit :

$$U_1(x_1, y_1) = U_0 P(x_1, y_1) e^{-jk \frac{x_1^2 + y_1^2}{2f}} \quad (\text{II.11})$$

On peut alors propager le champ  $U_1(x_1, y_1)$  jusqu'au foyer de la lentille, dans le plan  $(x_2, y_2)$ , en utilisant l'approximation de Fresnel [75], et on obtient :

$$U_2(x_2, y_2) = \frac{e^{+jkf}}{j\lambda f} e^{-\frac{jk}{2f}(x_2^2+y_2^2)} U_0 \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} P(x_1, y_1) e^{+\frac{jk}{f}(x_2x_1+y_2y_1)} dx_1 dy_1 \quad (\text{II.12})$$

Cette intégrale n'est autre que la transformée de Fourier inverse de la fonction pupillaire. La pupille étant de symétrie circulaire, nous choisissons de passer en coordonnées cylindriques par le biais du changement de variable :  $r_i = \sqrt{x_i^2 + y_i^2}$ .

La transformée de Fourier inverse de la fonction  $P(r_2)\text{Disc}(r_2/a)$  s'écrit :

$$TF^{-1}[P(r_2)] = 2\pi a^2 J_{1c} \left( \frac{kr_2 a}{f} \right) \quad (\text{II.13})$$

où la fonction  $J_{1c} = J_1(x)/x$ , avec  $J_1$  la fonction de Bessel d'ordre 1. On peut écrire l'intensité du point image :

$$I(r_2, z = f) = |U_2(r_2)|^2 = |U_0|^2 \left[ \frac{\pi a^2}{\lambda f} \right]^2 \left| 2J_{1c} \left( \frac{kr_2 a}{f} \right) \right|^2 \quad (\text{II.14})$$

Dans le cas de la microscopie, il est intéressant d'introduire la notion d'ouverture numérique, définie par  $ON = n \sin \alpha$  où  $n$  est l'indice de réfraction du milieu et  $\alpha$  le demi angle de collection (Fig.II.6). Dans l'approximation des petits angles, on a  $\sin \alpha \approx a/f$ , il en résulte qu'au plan focal l'intensité peut s'écrire :

$$I(r_2, z = f) \propto |2 \times J_{1c}(kr_2 ON)|^2 \quad (\text{II.15})$$

Dans cette section, nous avons montré que l'allure de la PSF transversale dans un plan perpendiculaire à la propagation de la lumière, confondu avec le plan focal d'une lentille convergente (c.à.d. d'un microscope), est une tache d'Airy dont nous avons défini les paramètres en fonction des caractéristiques de la lentille.

### II.1.3.2 Résolution transversale

Afin de quantifier le pouvoir de résolution d'un instrument optique et de comparer les performances de différents systèmes, le critère de Rayleigh, introduit par Lord Rayleigh en 1879, est communément adopté pour sa simplicité. Ce critère est illustré sur la Fig.II.8 : deux points objets sont résolus si le maximum principal de l'une des images coïncide avec le premier minimum de l'autre. Ainsi, pour être résolus deux points doivent être séparés d'une distance  $d$  au moins égale au premier zéro de la

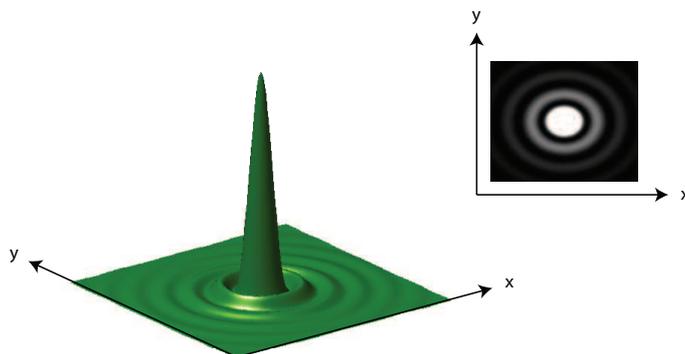


FIG. II.7 – Tache d’Airy. Cette tache est composée d’un pic central intense entouré d’anneaux alternativement sombres et brillants.

tache d’Airy, soit  $d > \Delta r_{Ray}$ . Sachant que le premier zéro de la fonction de Bessel d’ordre 1 est à 3,83 ( $J_{1c}(k\Delta r_{Ray}ON = 3,83) = 0$ ), cela donne :

$$\Delta r_{Ray} = \frac{3,83\lambda}{2\pi ON} = \frac{1,22\lambda}{2ON} \quad (\text{II.16})$$

On peut aussi exprimer le critère de Rayleigh en terme de contraste. Afin que deux points soient résolus, le contraste doit être d’au moins 0,8.

Le critère de Rayleigh, bien que très simple dans sa définition, peut être difficile à mettre en oeuvre en pratique pour évaluer la résolution spatiale transversale d’un instrument. En effet, il nécessite un échantillon composé d’objets très petits (pouvant être considérés comme ponctuels) dont il est possible de faire varier la distance de séparation. Ceci étant très difficile à mettre en oeuvre, on lui préférera le critère de Houston qui stipule que la résolution est égale à la largeur à mi hauteur du pic central de la PSF (notée FWHM de l’anglais *Full Width at Half Maximum*). Dans ce cas la résolution s’écrit :

$$\Delta r_{Hous} = \frac{\lambda}{2ON} \quad (\text{II.17})$$

Par exemple, dans le cas d’un objet placé dans l’air ( $n = 1$ ) observé au travers d’un objectif d’ouverture numérique  $ON = 0,6$  ( $\alpha \approx 37^\circ$ ), et pour une longueur d’onde de 500 nm, cette limite de résolution vaut environ 508 nm.

Les expressions des critères de Rayleigh et Houston montrent qu’il est possible d’améliorer la résolution d’un microscope en diminuant la longueur d’onde  $\lambda$  d’illumination ou en augmentant l’ouverture numérique de l’objectif, par exemple en travaillant, à l’aide d’un objectif à immersion, dans un milieu d’indice plus élevé comme l’eau ( $n = 1,33$ ) ou l’huile ( $n \approx 1,5$ ), ce qui revient à augmenter l’angle de collection. Toutefois, la résolution d’un microscope optique classique restera limitée par la diffraction et il sera impossible d’observer dans le visible des détails inférieurs à 200 nm environ.

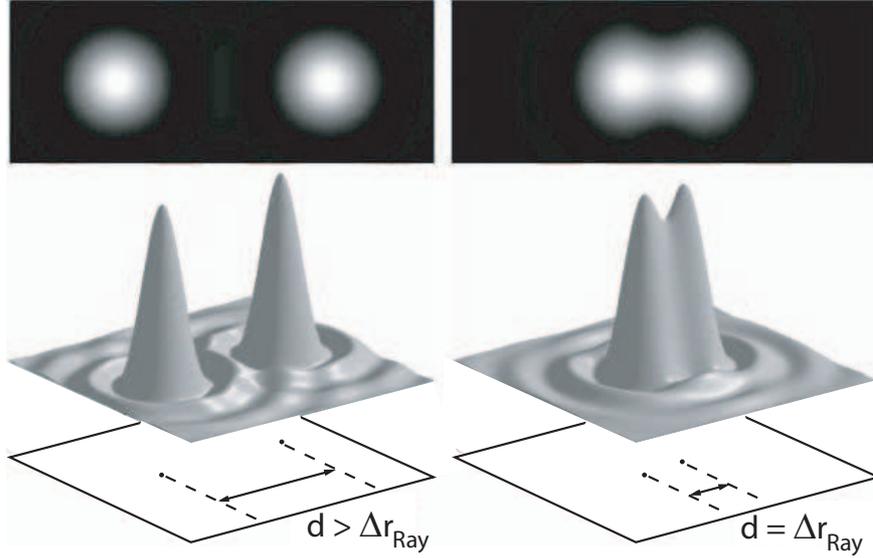


FIG. II.8 – Critère de Rayleigh (dans le cas d'une pupille circulaire) : a) images clairement séparées b) images à la limite de résolution

### II.1.3.3 Réponse axiale

Dans la Sec.II.1.3.1, nous avons évalué la distribution d'énergie dans le plan focal de la lentille. Voyons ce qu'il en est lorsque l'on introduit un défaut de mise au point. Reprenons l'expression (II.11) et propageons la jusqu'à un plan d'altitude  $z$  :

$$U_2(r_2, z) = \frac{e^{+jkz}}{j\lambda z} \int_{-\infty}^{+\infty} \int U_0 P(x_1, y_1) e^{-jk \frac{x_1^2 + y_1^2}{2f}} e^{+\frac{jk}{2z}((x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2)} dx_1 dy_1 \quad (\text{II.18})$$

Cette intégrale correspond à la transformée de Fourier inverse de la fonction  $P(x_1, y_1) \cdot e^{-jk \frac{x_1^2 + y_1^2}{2} (\frac{1}{f} - \frac{1}{z})}$  et peut être évaluée à l'aide de la transformée de Hankel d'ordre 0, équivalente à une transformée de Fourier pour une fonction à symétrie cylindrique. La transformée de Hankel est définie par :

$$\tilde{U}(\rho) = \int_0^{\infty} U(r) J_0(2\pi\rho r) 2\pi r dr \quad (\text{II.19})$$

Ainsi, le champ propagé dans le plan  $(x_2, y_2)$  situé à l'altitude  $z$  s'écrit

$$U_2(r_2, z) = \frac{e^{+jkz}}{j\lambda z} e^{-\frac{jk}{2z}r_2^2} \int_0^\infty U_0 P(r_1) e^{-jk\frac{r_1^2}{2}\left(\frac{1}{f}-\frac{1}{z}\right)} J_0\left(\frac{kr_1 r_2}{z}\right) 2\pi r_1 dr_1 \quad (\text{II.20})$$

En introduisant la grandeur  $\rho = r_1/a$  et en définissant la coordonnée optique  $u = ka^2\left(\frac{1}{f} - \frac{1}{z}\right)$ , on obtient finalement :

$$U_2(r_2, z) = \pi a^2 \frac{e^{-jkz}}{j\lambda z} e^{-\frac{jk}{2z}r_2^2} \int_0^1 2U_0 e^{-j\frac{u\rho^2}{2}} J_0\left(\rho\frac{kar_2}{z}\right) \rho d\rho \quad (\text{II.21})$$

Il est possible d'évaluer l'intégrale à l'aide des fonctions de Lommel [42] en séparant partie réelle et imaginaire. On peut alors obtenir l'intensité le long de l'axe optique ( $r_2 = 0$ ) en fonction du paramètre  $u$ .

Afin d'obtenir un modèle permettant de mieux évaluer le comportement aux grands angles [76] (pour les plus grandes ouvertures numériques),  $u$  s'exprime :

$$u = 4kn\delta z \sin^2 \frac{\alpha}{2} \quad (\text{II.22})$$

Avec la nouvelle expression  $u$ , nous ne sommes plus dans l'approximation paraxiale mais dans l'approximation pseudo-paraxiale et l'intensité dans le plan d'altitude  $z$ , hors du plan de focalisation, s'écrit : ce qui conduit finalement à

$$I(u) = \left[ \frac{\pi a^2 U_0}{\lambda z} \right]^2 \text{sinc}^2 \left( \frac{u}{4} \right) \quad (\text{II.23})$$

Nous avons ainsi défini la réponse axiale d'une lentille convergente (très proche de celle d'un microscope) en fonction de la défocalisation  $u$  (sans dimension), dans le cadre de l'approximation pseudo-paraxiale, pour des optiques ne présentant pas d'aberrations. Comme nous pouvons le voir Fig.II.9, au foyer, c.à.d. le long de l'axe optique, la tache de diffraction n'est autre qu'une coupe centrée d'une tache d'Airy.

#### II.1.3.4 Résolution axiale

De la même manière que l'on définit un critère de résolution dans un plan perpendiculaire à l'axe optique, on peut définir la résolution le long de l'axe optique. Comme nous l'avons vu Sec.II.1.3.3, la réponse axiale d'un microscope a la forme d'un sablier (voir Fig.II.9) ayant une partie centrale très brillante. Nous définissons donc, suivant le critère de Rayleigh, la résolution axiale comme étant la distance suivant  $z$  entre le maximum et le premier zéro de la région centrale. Dans l'Eq.II.23, on remarque que le

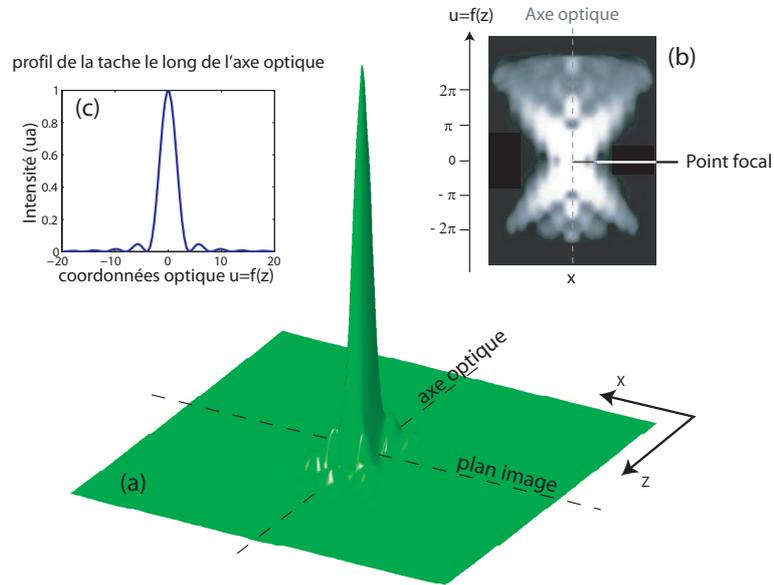


FIG. II.9 – PSF dans un plan passant par l'axe optique : en volume (a) et en intensité (b). PSF le long de l'axe optique (c).

premier zéro est atteint pour  $u = 4\pi$ , c.à.d. que la résolution axiale d'après Rayleigh est :

$$\Delta z_{Ray} = \frac{\lambda}{2n \sin^2(\alpha/2)} \quad (\text{II.24})$$

De la même manière que pour la résolution transversale, le critère de Rayleigh est peu accessible expérimentalement et on lui préférera le critère de Houston qui définit la résolution comme la largeur à mi-hauteur de la tache centrale :

$$\Delta z_{Houston} = 0,88 \frac{\lambda}{2.n. \sin^2(\alpha/2)} \quad (\text{II.25})$$

Les expressions définies ici sont valables dans le cas de l'approximation pseudo-paraxiale et diffèrent légèrement de celle de l'approximation paraxiale  $2\lambda/ON^2$ , plus fréquente dans la littérature.

La résolution limitée du microscope optique n'autorise pas l'imagerie de structures dont les dimensions sont inférieures à plusieurs centaines de nanomètres. Notons, de plus, qu'elle n'est pas isotrope, la résolution axiale étant toujours plus faible que la résolution transversale.

illumination	$\lambda = 532 \text{ nm}$			$\lambda = 785 \text{ nm}$		
objectif	(x 50) ON = 0.75	(x 100) ON = 0.8	(x 60) ON = 0.9	(x 50) ON = 0.75	(x 100) ON = 0.8	(x 60) ON = 0.9
résolution transversale (nm)	433	404	361	638	599	532
résolution axiale ( $\mu\text{m}$ )	1.9	1.7	1.3	2.8	2.5	1.9

TAB. II.1 – Tableau récapitulatif des valeurs de résolutions transversale (critère de Rayleigh) et axiale (approximation paraxiale) pour différents objectifs et longueurs d’onde que nous avons utilisés dans nos dispositifs expérimentaux.

#### II.1.4 Conclusion sur la microscopie

Dans cette section, nous avons exposé brièvement le principe de fonctionnement du microscope dans sa version la plus simple ainsi que l’expression du grandissement transversal et axial. L’étude de la PSF nous a permis d’établir les résolutions axiale et transversale qui limitent les performances d’imagerie d’un microscope classique. La résolution transversale et le grandissement transversal sont fréquemment décrits pour caractériser les images obtenues en microscopie. Par contre, la résolution axiale et le grandissement axial sont souvent négligés en microscopie en deux dimensions. Dans la mesure où nous faisons de la microscopie en trois dimensions via un dispositif holographique, il est important de caractériser la résolution et le grandissement suivant l’axe optique. Comme nous pouvons observer dans le tableau récapitulatif des résolutions transversale (critère de Rayleigh) et axiale (approximation paraxiale) calculées pour des objectifs et des longueurs d’onde d’illumination que nous utilisons dans nos dispositifs expérimentaux (Tab.II.1), les résolutions transversales sont de l’ordre de  $0,5 \mu\text{m}$  alors que les résolutions axiales, de l’ordre de  $2 \mu\text{m}$ , sont nettement moins bonnes d’un facteur 4 en moyenne.

## II.2 La détection synchrone multiplexée

Le signal que nous voulons détecter est la lumière diffusée par un nano-objet. En vue de bénéficier de l'amélioration du rapport signal à bruit (RSB) liée à l'utilisation d'une détection synchrone, pour les deux instruments que nous avons développés, nous avons modulé le signal à détecter. Dans les deux cas, l'information utile est portée par l'amplitude du signal à la fréquence de modulation, l'information de phase n'étant pas pertinente. Par ailleurs, pour détecter le signal, nous choisissons comme capteur une caméra CCD (Charge Coupled Device) ce qui, pour les applications d'imagerie, réduit considérablement la durée d'acquisition et les bruits spatiaux par rapport à l'utilisation d'un monodétecteur qui balaie l'échantillon. Afin de détecter le signal de manière synchrone sur tous les pixels de la caméra simultanément, nous avons utilisé le procédé de détection synchrone multiplexée développé au laboratoire dans les années 90 [77, 78]. C'est ce procédé que nous présentons dans cette section.

Pour ce faire, nous présentons d'abord un bref rappel sur la détection synchrone monocanal et son gain en terme de RSB. Puis, nous étendons ce type de détection au capteur CCD. Enfin, nous établissons le bilan des bruits liés à la détection par une caméra CCD et nous évaluons leur atténuation dans le cadre de l'utilisation de la détection synchrone multiplexée.

### II.2.1 La détection synchrone monocanal

Dans un premier temps, il est intéressant de détailler le fonctionnement de l'instrument élémentaire qu'est le détecteur synchrone pour mieux comprendre le principe de la détection synchrone multiplexée.

#### Principe

Pour extraire une composante périodique de fréquence  $f_0$  noyée dans un bruit large bande, le principe de la détection synchrone est de multiplier le signal par une sinusoïde de référence de même fréquence, puis effectuer un filtrage passe-bas du produit [79, 80]. Appelons  $E(t)$  le signal utile à l'entrée du détecteur synchrone et  $R(t)$  le signal de référence :

$$\begin{aligned} E(t) &= a \cos(2\pi f_0 t + \phi) \\ R(t) &= b \cos(2\pi f_0 t + \psi) \end{aligned} \tag{II.26}$$

Le signal d'entrée est caractérisé par son amplitude  $a$ , sa phase  $\phi$  et sa fréquence  $f_0$ , seul paramètre connu. Pour être capable de reconstruire le signal d'entrée, il suffit de déterminer les deux paramètres inconnus  $a$  et  $\phi$  sachant que tous les paramètres caractérisant la référence sont connus. En multipliant ces deux signaux, on obtient :

$$E(t)R(t) = \frac{ab}{2}(\cos(4\pi f_0 t + \phi + \psi) + \cos(\phi - \psi)) \quad (\text{II.27})$$

Ce produit contient un terme continu et un terme sinusoïdal de fréquence  $2f_0$  qui est éliminé par un filtre passe-bas très sélectif. Le signal de sortie continu  $S(t)$  s'écrit donc :

$$S(t) = \frac{ab}{2} \cos(\phi - \psi) \quad (\text{II.28})$$

De façon à maximiser le signal de sortie, on choisit comme phase de la référence une phase égale à celle du signal ( $\phi = \psi$ ). Le signal de sortie vaut alors

$$S(t) = \frac{ab}{2} \quad (\text{II.29})$$

et donne ainsi directement accès à l'amplitude du signal d'entrée puisque l'amplitude efficace de la référence  $b$  est connue ( $b = \sqrt{2}$  généralement).

### Amélioration du RSB

Pour évaluer l'atténuation du bruit réalisée par un détecteur synchrone, nous allons comparer les RSB à l'entrée et à la sortie de ce dispositif.

Le bruit  $B(t)$ , qui s'ajoute au signal utile  $E(t)$ , est représenté par un processus aléatoire centré. Il est caractérisé par sa fonction d'autocorrélation  $C_{BB}(\tau)$  ou par sa densité spectrale de puissance (DSP) :

$$S_B(f) = TF\{C_{BB}(\tau)\} = \int_{-\infty}^{+\infty} C_{BB}(\tau) e^{-2i\pi f\tau} d\tau \quad (\text{II.30})$$

Le filtre passe-bas du détecteur synchrone est caractérisé par sa réponse impulsionnelle  $h(t)$  ou sa réponse fréquentielle  $H(f) = TF\{h(t)\}$ . Nous supposons de plus que  $H(0) = 1$ .

A l'**entrée**, les puissances du signal et du bruit valent respectivement :

$$\begin{aligned} P_{E_e} &= \frac{a^2}{2} \\ P_{B_e} &= \int_{-\infty}^{+\infty} S_B(f) df = C_{BB}(0) \end{aligned} \quad (\text{II.31})$$

et le RSB en puissance s'exprime par :

$$RSB_e = \frac{a^2}{2C_{BB}(0)} \quad (\text{II.32})$$

A la **sortie**, la DSP du *signal utile* s'écrit :

$$S_{E_s}(f) = |H(f)|^2 S_{RE}(f) \quad (\text{II.33})$$

où la DSP du produit  $R(t)E(t)$  pour  $\phi = \psi$  vaut :

$$S_{RE} = \frac{a^2 b^2}{4} \cos^2(\phi - \psi) \delta(f) + \frac{a^2 b^2}{16} [\delta(f - 2f_0) + \delta(f + 2f_0)] \quad (\text{II.34})$$

où  $\delta(f)$  est la fonction de Dirac fréquentielle.

Sachant que la fonction  $|H|^2$  est paire, la puissance moyenne du signal de sortie est donc :

$$P_{E_s} = \int_{-\infty}^{+\infty} S_{E_s}(f) df = \frac{a^2 b^2}{4} |H(0)|^2 + \frac{a^2 b^2}{8} |H(2f_0)|^2 \quad (\text{II.35})$$

Le filtre étant très sélectif,  $|H(2f_0)|^2$  est négligeable devant  $|H(0)|^2$ , qui vaut 1 par hypothèse. Il reste donc :

$$P_{E_s} = \frac{a^2 b^2}{4} \cos^2(\phi - \psi) \quad (\text{II.36})$$

A la sortie du détecteur synchrone, le bruit s'écrit :

$$B_s(t) = h(t) * (R(t)B(t)) = \int_{-\infty}^{+\infty} h(u)R(t-u)B(t-u) du \quad (\text{II.37})$$

et sa fonction d'autocorrélation est :

$$\begin{aligned} C_{BB_s}(t, \tau) &= \langle B_s(t)B_s(t+\tau) \rangle \\ &= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} h(u)R(t-u)h(v)R(t+\tau-v)C_{BB}(\tau+u-v) du dv \end{aligned} \quad (\text{II.38})$$

En remplaçant  $C_{BB}(\tau+u-v)$  par  $\int_{-\infty}^{+\infty} S_B(f)e^{2i\pi f(\tau+u-v)} df$ , on obtient :

$$C_{BB_s}(t, \tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} G_t(f)G_{t+\tau}^*(f)S_B(f)e^{2i\pi f\tau} df \quad (\text{II.39})$$

où \* signifie complexe conjugué et avec :

$$\begin{aligned} G_t(f) &= \int_{-\infty}^{+\infty} h(u)R(t-u)e^{2i\pi fu} du \\ &= \frac{b}{2} e^{i(2\pi f_0 t + \psi)} H^*(f - f_0) + \frac{b}{2} e^{i(2\pi f_0 t + \psi)} H^*(f + f_0) \end{aligned} \quad (\text{II.40})$$

En raison de la sélectivité du filtre, nous pouvons négliger le terme  $H^*(f - f_0)H(f + f_0)$  et son complexe conjugué. On obtient alors l'expression de l'autocorrélation suivante :

$$\begin{aligned} C_{BB_s}(t, \tau) &= \frac{b^2}{4} \int_{-\infty}^{+\infty} [|H(f - f_0)|^2 e^{-2i\pi f\tau} + |H(f + f_0)|^2 e^{2i\pi f\tau}] S_B(f) e^{2i\pi f\tau} df \\ &= \frac{b^2}{4} \int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 [S_B(f + f_0) + S_B(f - f_0)] e^{2i\pi f\tau} df \end{aligned} \quad (\text{II.41})$$

On peut en déduire la DSP du bruit en sortie du détecteur synchrone :

$$S_{B_s}(f) = \frac{b^2}{4} |H(f)|^2 [S_B(f + f_0) + S_B(f - f_0)] \quad (\text{II.42})$$

et la puissance moyenne du bruit en sortie vaut :

$$\begin{aligned} P_{B_s} = C_{BB_s}(0) &= \frac{b^2}{4} \int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 [S_B(f + f_0) + S_B(f - f_0)] df \\ &= \frac{b^2}{2} \int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 S_B(f + f_0) df \end{aligned} \quad (\text{II.43})$$

En supposant que  $S_B(f + f_0)$  et  $S_B(f - f_0)$  sont à peu près constants dans la bande passante du filtre et égales à  $S_B(f_0)$  (cela est parfaitement vrai dans le cas d'un bruit blanc), l'expression finale de la puissance moyenne du bruit à la sortie du détecteur synchrone est :

$$P_{B_s} = \frac{b^2}{2} S_B(f_0) \int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 df \quad (\text{II.44})$$

Nous pouvons maintenant écrire le RSB à la sortie du détecteur synchrone, ainsi que le gain en RSB (en puissance entre l'entrée et la sortie) :

$$RSB_s = \frac{a^2}{2S_B(f_0) \int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 df} \quad (\text{II.45})$$

$$G_{s/e} = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} S_B(f) df}{S_B(f_0) \int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 df} \quad (\text{II.46})$$

Sachant que le bruit a un spectre étendu en fréquence, il est évident, d'après la formule Eq.II.46, que le gain en RSB à la sortie du détecteur synchrone sera d'autant plus grand que la bande passante du filtre est petite.

Pour clore ce paragraphe, nous proposons d'observer graphiquement ce phénomène. Nous avons considéré :

- Un bruit centré de densité spectrale constante et égale à  $S_{B0}$  sur une bande de fréquence  $\Delta F$  (Fig.II.10(d)).
- Une référence en phase avec le signal de sorte que  $\cos^2(\phi - \psi) = 1$  (Fig.II.10(c)) et d'amplitude  $b = \sqrt{2}$ .
- Un filtre passe-bas de réponse fréquentielle égale 1 sur sa bande passante  $\Delta f$  ( $\Delta f \ll \Delta F$ ) de sorte que  $\int_{-\infty}^{+\infty} |H(f)|^2 df = \Delta F$  (Fig.II.10(f)).

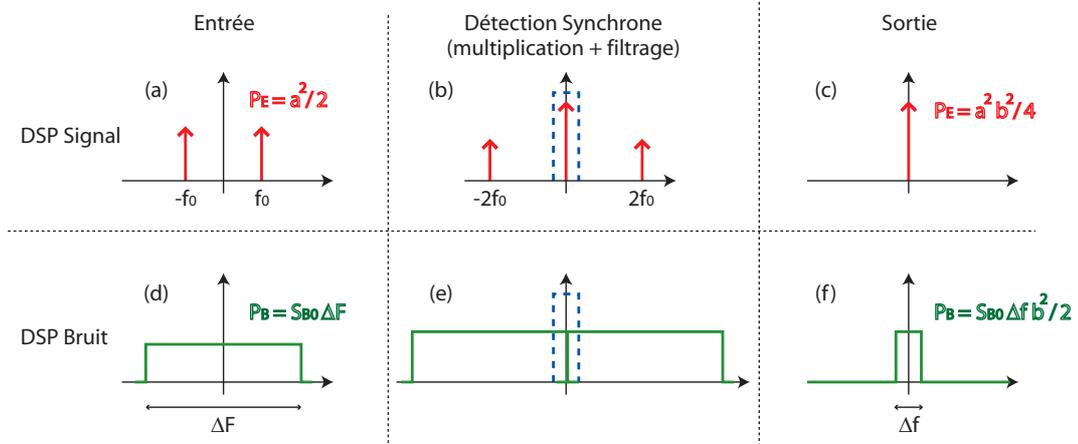


FIG. II.10 – Analyse graphique de l'évolution des puissances de bruit et de signal en entrée et en sortie d'un détecteur synchrone.

On observe alors que la puissance du signal en entrée et en sortie du détecteur synchrone est la même alors que la puissance du bruit est multipliée par un facteur  $\frac{\Delta f}{\Delta F} \ll 1$ . Aux vues de cette approche graphique, il est clair que le gain en RSB entre la sortie et l'entrée est proportionnel au facteur  $\frac{\Delta F}{\Delta f}$  qui augmente quand la bande passante du filtre passe bas du détecteur synchrone diminue. Par exemple, si la largeur spectrale du bruit en entrée est  $\Delta F = 1 \text{ kHz}$  et que la bande passante du filtre est  $\Delta f = 1 \text{ Hz}$  (c.à.d. que le temps d'acquisition de chaque point de mesure est  $3\tau = 3/\Delta f = 3 \text{ s}$ ), le gain en RSB lié au procédé de détection synchrone est  $10^3$  (sans unités).

## II.2.2 Extension au capteur CCD

Afin de faire de l'imagerie en temps réel, nous voulons acquérir une image plein champ en un temps très court. Pour cela l'utilisation d'un capteur unique relié à une détection synchrone monocanal n'est pas envisageable en raison du temps nécessaire au balayage de l'échantillon. Nous voulons donc utiliser un capteur matriciel de type CCD (Charge Coupled Device) néanmoins il n'est pas possible de placer une détection synchrone derrière chaque élément sensible de ce capteur. C'est pourquoi a été développé au laboratoire une technique de détection synchrone en parallèle sur l'ensemble des pixels constituant l'image [79]. Cette technique est couramment utilisée en interférométrie pour la démodulation de phase depuis la fin des années 80 [81,82].

### II.2.2.1 Principe de la détection synchrone multiplexée

Dans le cas de la détection synchrone multiplexée, on veut obtenir l'équivalent en imagerie du principe de détection synchrone présenté Sec.II.2.1. Pour simplifier,

nous pouvons considérer que le processus de détection synchrone est composé d'une multiplication et d'un filtrage passe bas. En imagerie, le filtrage passe-bas s'effectue par la moyenne dans le temps du signal reçu pendant le temps d'exposition et par l'accumulation puis la moyenne d'échantillons homologues sur un grand nombre de périodes ; La multiplication par la référence à la même fréquence que la modulation du signal s'obtient en acquérant un nombre entier  $N$  ( $N > 1$ ) d'images pendant une période de modulation. A partir de ces  $N$  images, on calcule la composante de la transformée de Fourier discrète (TFD) à la fréquence souhaitée.

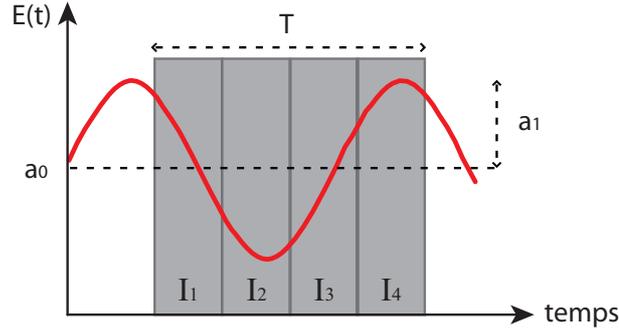


FIG. II.11 – Acquisition des 4 images : Représentation du signal modulé et des périodes d'intégration de la caméra.

Considérons le signal à détecter de période  $T = 1/f_0$ , d'amplitude  $a_1$  et de valeur moyenne  $a_0$  de phase  $\phi$  par rapport à la référence temporelle :

$$E(t) = a_0 + a_1 \cos\left(\frac{2\pi}{T}t + \phi\right) \quad (\text{II.47})$$

La caméra intègre temporellement le flux reçu entre deux lectures à la fréquence  $4f_0$ . Chaque pixel enregistre donc quatre signaux par période de modulation :

$$\begin{aligned} S_1 &= \int_0^{T/4} E(t)dt = a_0 \frac{T}{4} + a_1 \frac{T}{2\pi} (\cos \phi - \sin \phi) \\ S_2 &= \int_{T/4}^{T/2} E(t)dt = a_0 \frac{T}{4} + a_1 \frac{T}{2\pi} (-\cos \phi - \sin \phi) \\ S_3 &= \int_{T/2}^{3T/4} E(t)dt = a_0 \frac{T}{4} + a_1 \frac{T}{2\pi} (-\cos \phi + \sin \phi) \\ S_4 &= \int_{3T/4}^T E(t)dt = a_0 \frac{T}{4} + a_1 \frac{T}{2\pi} (\cos \phi + \sin \phi) \end{aligned} \quad (\text{II.48})$$

En pratique, les signaux  $S_i$  correspondent à une accumulation sur plusieurs périodes des signaux exprimés ci-dessus. Le signal modulé, en amplitude et en phase, est extrait en prenant le premier terme non nul de sa transformée de Fourier discrète [83] :

$$\begin{aligned}
 A &= \sum_{m=1}^4 i^{m-1} S_m \\
 &= S_1 - S_3 + i(S_2 - S_4) \\
 &= -a_1 \frac{T}{\pi} (\cos \phi - \sin \phi + i(\cos \phi + \sin \phi))
 \end{aligned} \tag{II.49}$$

Généralement, on utilise une détection synchrone pour détecter de petits signaux noyés dans un fond continu de grande amplitude. Dans l'expression Eq.II.49, la composante continue  $a_0$ , fréquemment non désirée, a été éliminée et seule persiste la composante d'amplitude modulée  $a_1$ .

Le module de cette transformée de Fourier discrète est directement proportionnel à  $a_1$  et sa phase égale à  $\phi$  à une constante près :

$$\begin{aligned}
 |A| &= a_1 \frac{T}{\pi} \sqrt{2} & \arg(A) &= \arctan\left(\frac{\cos \phi + \sin \phi}{\cos \phi - \sin \phi}\right) \\
 & & &= \arctan\left(\frac{1 + \tan \phi}{1 - \tan \phi}\right) \\
 & & &= \phi + \frac{\pi}{4}
 \end{aligned} \tag{II.50}$$

On note que l'amplitude  $|A|$  est directement proportionnelle à la période d'intégration par le biais du temps d'intégration. En réalité le temps d'intégration de la caméra n'est pas exactement  $T/4$  mais plutôt  $T/4 - \Delta t$  en raison du temps nécessaire pour lire les signaux intégrés par la caméra. Comme nous utilisons un capteur CCD (matrice de photodétecteurs à lecture par transfert de charges),  $\Delta t \ll T/4$ . Guillaume Jérusalemki a montré dans sa thèse [84] que, dans ce cas précis, les résultats de l'Eq.II.50 ne sont modifiés que de façon négligeable.

Chaque pixel enregistre quatre signaux, de type  $S_i$ , par période de modulation ce qui constitue quatre images ( $I_1, I_2, I_3, I_4$ ). Pour retrouver l'amplitude et la phase en chaque pixel, il suffit de calculer respectivement l'argument et la phase de chaque élément de la matrice  $M$  :

$$M = I_1 - I_3 + i(I_2 - I_4) \tag{II.51}$$

En pratique, le signal est modulé (en général sinusoïdalement) à la fréquence  $f_0$  par un système piloté par un générateur basses fréquences (GBF). La caméra reçoit un signal de déclenchement *Transistor-Transistor Logic* (TTL) à  $4f_0$  depuis un générateur de même type pour fixer sa fréquence d'acquisition. Ces deux générateurs sont synchronisés par le même signal d'horloge de façon à ce que le déphasage entre la modulation et l'acquisition soit rigoureusement constant.

Pour conclure, la détection synchrone multiplexée permet de mesurer un signal modulé à partir de l'acquisition de quatre images de manière simple et performante. Cela est réalisé grâce à une matrice de capteurs permettant la mesure des signaux en parallèle sur tout le champ de la caméra. Le gain de temps par rapport à un traitement point à point est appréciable et intéressant par exemple pour l'imagerie des tissus biologiques [85] et le suivi de particules [86].

Ce type de détection est utilisé sur diverses expériences développées au laboratoire, comme l'OCT plein champ [87,88], les mesures de thermo-réfectance [89,90] ou les mesures de rugosité à l'échelle du picomètre [79].

### II.2.2.2 Capteur CCD et bruits associés

Les systèmes de caméras numériques, incluant les capteurs à lecture par transfert de charges ("Charge Coupled Device" = CCD), représentent la technologie d'imagerie la plus courante en microscopie optique. Une caméra CCD est composée d'une matrice de photodétecteurs à base de silicium qui absorbent l'énergie des photons incidents, libérant ainsi des électrons et créant des déficits de charges (trous) dans la matrice cristalline du silicium. Chaque photon incident a une probabilité appelée efficacité quantique ( $Q_e$ ) de créer une paire électron-trou. La charge accumulée est donc linéairement proportionnelle au nombre de photons reçus. Le potentiel extérieur appliqué aux électrodes de chaque pixel contrôle le stockage et le déplacement des charges accumulées vers un amplificateur qui convertit la quantité de charges en tension. Enfin, un convertisseur analogique-numérique assigne une valeur numérique à chaque pixel en fonction de l'amplitude de la tension qui lui est associée.

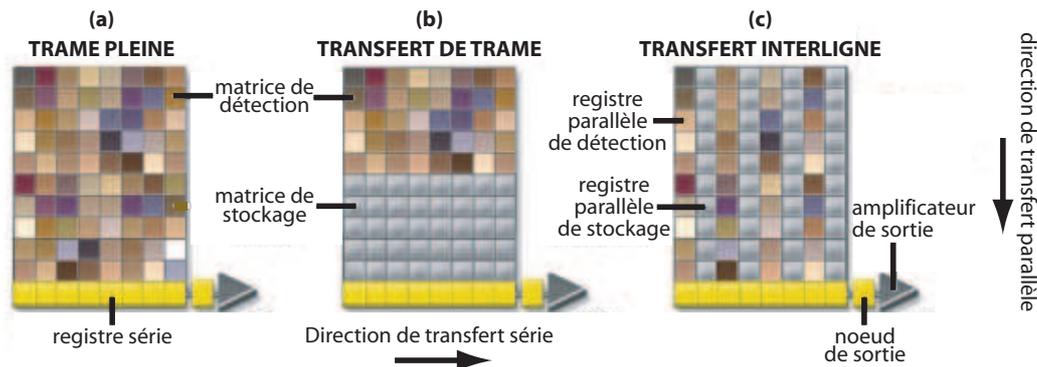


FIG. II.12 – 3 types d'architecture CCD [91].

Il existe trois types principaux d'architecture pour le transfert des charges d'une caméra CCD :

1. Le capteur **pleine trame** (Fig.II.12 (a)) est constitué d'une matrice de photodétecteurs tous utilisés pour la détection de photons, ce qui lui confère une bonne sensibilité ainsi qu'une bonne résolution. Néanmoins, ce type de capteur nécessite la présence d'un obturateur électro-mécanique qui masque les pixels pendant la période de lecture de la matrice, ce qui limite grandement sa fréquence d'acquisition maximale. Après exposition Fig.II.13 (a), le transfert des charges s'effectue d'abord en parallèle (transfert des lignes illustré Fig.II.13 (b)) et est suivi d'une lecture en série de chaque colonne (Fig.II.13 (c)).

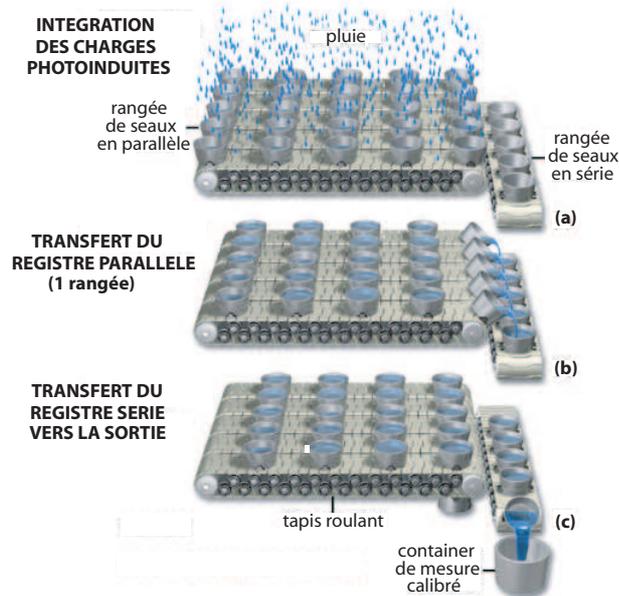


FIG. II.13 – Analogie entre le transport de seaux d'eau de pluie et le fonctionnement d'une caméra CCD [91].

2. Le capteur à **transfert de trame** (Fig.II.12(b)) présente une matrice photosensible dont la moitié de la surface est couverte par un masque opaque et est utilisée comme mémoire tampon pour les photo-électrons collectés par la partie non masquée de la matrice, sensible à la lumière. La lecture des registres s'effectue de la même manière que pour le capteur pleine trame. Ce type d'architecture, ne nécessitant pas l'intervention d'un obturateur, permet d'atteindre des fréquences d'acquisition élevées sans temps mort. Néanmoins, comme la moitié de la surface photosensible est masquée, pour avoir la même surface sensible utile que le capteur pleine trame, c.à.d. avoir une résolution et une sensibilité équivalentes, il faut multiplier par deux le nombre de pixels ce qui rend le capteur plus encombrant et surtout plus cher.
3. Pour le capteur à **trame interligne** (Fig.II.12(c)), les colonnes de pixels actifs et les colonnes de pixels masqués pour le stockage et le transfert des charges sont alternées. Ce type d'architecture permet d'atteindre des fréquences d'acquisition aussi élevées que le capteur à transfert de trame mais diminue la résolution et la sensibilité du capteur puisque près de 75% de la surface photosensible est occupée par les canaux de stockage et de transfert ; On parle d'un facteur de remplissage de 25%.

Pour nos expériences, nous disposons de différentes caméras CCD à transfert de trame qui permettent de bonnes performances en termes de résolution spatiale, de sensibilité et de fréquence d'acquisition. La caméra que nous avons le plus fréquemment utilisée (Documentation en annexe 2) utilise un procédé de multiplication des électrons avant

qu'ils ne parviennent à l'amplificateur de sortie. Pour ce faire, le noeud de sortie avant l'amplificateur (voir Fig.II.12) est remplacé par un registre de multiplication (ou registre de gain), fonctionnant sur le même principe de transfert des électrons que toute caméra CCD, c.à.d via l'application de potentiels électriques variables aux pixels successifs du registre. Pour multiplier le nombre d'électrons, un potentiel élevé (de 35 à 50 V) par rapport à celui appliqué pour un transfert de charge standard (de 5 à 15 V) est appliqué à certains éléments du registre de gain. Les électrons sont fortement accélérés lors du transfert vers ce type d'éléments en raison du champ électrique induit important et provoquent ainsi un phénomène d'ionisation par impact du silicium. Le gain en électrons pour chacun de ces éléments à potentiel élevé est faible ( $g \leq 0,016$ ). Néanmoins, ces éléments étant placés en cascade, ils permettent d'obtenir un gain total :

$$M = (1 + g)^N \quad (\text{II.52})$$

où  $N$  est le nombre de pixels à potentiel élevé du registre de multiplication. Pour avoir un gain maximum, il faut que  $N$  soit grand. En général, le registre de gain est placé dans la continuité de la trame d'acquisition et pour des raisons d'efficacité du phénomène d'ionisation par impact, un potentiel élevé n'est appliqué qu'à un élément sur 4. Ainsi  $N$  vaut un quart de la largeur de trame d'acquisition, soit  $N = 256$  et  $M = 1,016^{256} \approx 58$  pour une caméra  $1024 \times 1024$  pixels.

Il existe un certain nombre de bruits liés à l'utilisation d'un détecteur CCD. Les trois principaux sont :

- Le **bruit de photons** qui résulte de la variation statistique du nombre de photons incidents qui atteignent le CCD par seconde. Les photo-électrons générés dans le semi-conducteur constituent le signal, dont l'amplitude varie aléatoirement avec l'arrivée de photons en chaque point de mesure (pixel) du CCD. Comme la probabilité d'arrivée d'un photon suit une loi de Poisson, le bruit de photons est équivalent à la racine carrée du signal. Ce bruit ne peut pas être réduit ou supprimé. Il détermine donc le rapport signal à bruit optimum pour un détecteur sans autre bruit qui vaut :  $RSB_{opt} = S/\sqrt{S} = \sqrt{S}$ .
- Le **bruit d'obscurité** qui vient des variations statistiques du nombre de paires électron-trou créées thermiquement dans la matrice cristalline de silicium du capteur CCD. Ce signal parasite est indépendant du signal photo-induit et dépend grandement de la température. Le nombre d'électrons générés thermiquement par seconde s'appelle le courant d'obscurité. Comme le bruit de photons, le bruit d'obscurité suit une loi de Poisson et son écart type est donc égal à la racine carrée du signal dû aux électrons générés thermiquement pendant le temps d'exposition. Le refroidissement de la caméra permet de réduire le courant d'obscurité jusqu'à le rendre négligeable sur un temps d'intégration caractéristique au détriment de l'efficacité quantique qui décroît quand la température diminue.
- Le **bruit de lecture** qui est dû d'une part à l'efficacité du transfert de charges, d'autre part à la précision de l'amplification analogique. Les capteurs CCD que

nous avons utilisés présentent typiquement un bruit de lecture compris entre 10 et 100 électrons par pixel. Ce bruit de lecture intervient une fois lors de chaque mesure de façon indépendante. Ainsi, à puissance de signal équivalente, lorsque l'on somme 10 images de temps d'intégration  $T$ , la puissance du bruit de lecture est 10 fois plus importante que pour l'acquisition d'une image de temps d'intégration  $10T$ . Par ailleurs, les caméras hautes performances ont vu leur conception évoluer en vue de réduire de manière très significative le bruit de lecture. Pour les caméras EMCCD, comme les électrons sont multipliés avant l'amplificateur de sortie, le nombre de charges correspondant au bruit de lecture est totalement négligeable par rapport au nombre de charges correspondant au signal. Ainsi, pour ce type de caméra, le bruit de lecture peut être négligé.

- Le **bruit de numérisation** ou de quantification qui rend compte de l'erreur moyenne commise lors de la conversion analogique-numérique de la tension induite par les porteurs de charges du CCD, c.à.d en échantillonnant la tension analogique sur un nombre fini de pas de quantification. Bien que ce bruit soit ajouté uniformément à tous les pixels du détecteur, son amplitude ne peut pas être déterminée, mais seulement approximée par une valeur moyenne, en électrons par pixels (root-mean-square ou rms). Comme le bruit de lecture, ce bruit de numérisation intervient une fois lors de chaque mesure de façon indépendante.

Nous voulons maintenant déterminer l'expression du RSB en puissance d'une mesure acquise par une caméra CCD, si l'on se limite aux sources de bruits énumérées précédemment. La puissance du signal vaut  $(PQ_eT)^2$  où  $P$  est le flux de photons incidents (photons/pixel/seconde),  $Q_e$  représente le rendement quantique de la caméra (électrons/photon),  $T$  est le temps d'intégration (seconde). La puissance du bruit de photon associée est  $PQ_eT$  puisque ce type de bruit varie comme la racine carrée du signal. La puissance du bruit d'obscurité résultant de la multiplication du courant d'obscurité  $I$  (électrons/pixel/seconde) et du temps d'intégration vaut  $(IT)^2$ . Enfin, les puissances des bruits de lecture et de numérisation sont respectivement  $B_l^2$   $B_n^2$ . Ainsi, le RSB vaut :

$$RSB = \frac{(PQ_eT)^2}{PQ_eT + (IT)^2 + B_l^2 + B_n^2} \quad (\text{II.53})$$

En examinant bien cette équation, on remarque qu'elle correspond au signal total généré pendant le temps d'exposition divisé par le bruit combiné provenant des trois composantes de bruit principales. Les termes de bruit ne sont pas corrélés, et le dénominateur est composé des valeurs appropriées pour chaque composante du bruit.

Pour le calcul du RSB de l'Eq.II.53, on a fait l'hypothèse que le signal est la seule source de lumière. Or, dans un microscope optique, différentes sources de lumière

parasite, comme la diffusion et les réflexions dans le système d'imagerie, peuvent contribuer au bruit. Il faut également prendre en compte la lumière parasite d'arrière plan provenant de l'échantillon ainsi que les inhomogénéités d'éclairage. Ces sources de bruit supplémentaires produisent un flux de photons parasite  $B_{i1}$  qui viennent s'ajouter au bruit de photons. Enfin, l'intensité de la source lumineuse n'est pas parfaitement stable mais fluctue au cours du temps suivant un processus aléatoire  $B_{i2}$ . Ainsi, en prenant en compte ces sources de bruit instrumental supplémentaires, l'expression du RSB en puissance devient :

$$RSB = \frac{(B_{i2} \cdot PQ_e T)^2}{(B_{i2} \cdot P + B_{i1}) Q_e T + (IT)^2 + B_l^2 + B_n^2} \quad (\text{II.54})$$

Un dernier facteur à prendre en compte est : les valeurs du flux incident, signal et parasite, ainsi que de l'efficacité quantique, sont fonctions de la longueur d'onde. Ainsi, lorsque la source d'illumination est large bande, le calcul du RSB nécessite d'intégrer ces variables sur toutes les longueurs d'onde utilisées pour l'imagerie.

### II.2.3 Atténuation des différentes sources de bruits grâce à la détection synchrone multiplexée

Grâce à la détection synchrone multiplexée, les différentes sources de bruit présentées dans le paragraphe précédent sont atténuées sans modifier la valeur du signal ce qui permet d'améliorer le RSB de manière significative.

Les différentes caméras que nous avons utilisées étaient refroidies ( $-15^\circ$ ) de telle sorte que le bruit d'obscurité est négligeable devant les autres sources de bruit.

Par ailleurs, dans nos expériences, nous moyennons un grand nombre d'images  $N$  pour obtenir les quatre images nécessaires à la démodulation. En raison de ce moyennage, les bruits de lecture et de numérisation décroissent comme l'inverse de  $\sqrt{N}$ . Lors du processus de démodulation (Eq.II.51) où l'on soustraie les images moyennées deux à deux, ces bruits sont accrus par un facteur multiplicatif en  $\sqrt{2}$ . Ainsi dans nos applications où  $N$  est grand, ces deux bruits sont négligeables.

Ainsi, lorsqu'on utilise une caméra refroidie et qu'on moyenne sur un grand nombre de périodes les quatre images nécessaires au procédé de détection synchrone multiplexée, les bruits d'obscurité et de lecture sont négligeables et l'expression du RSB devient :

$$RSB = \frac{(B_{i2} \cdot P \eta_e T)^2}{(B_{i2} \cdot P + B_{i1}) \eta_e T} \quad (\text{II.55})$$

Comme le bruit de photons est décorrélié d'une acquisition à l'autre, il augmente comme  $\sqrt{N_{im}}$ , où  $N_{im}$  est le nombre d'images accumulées, alors que le signal augmente linéairement avec  $N_{im}$ . Ainsi, l'utilisation de  $N_{im}$  images accumulées permet de multiplier le RSB par un facteur  $\sqrt{N_{im}}$  pour chacune des quatre images acquises. Lors de la soustraction des images deux à deux (Eq.II.51), le gain en RSB est conservé.

Nous remarquons dans l'Eq.II.55 que les seules sources de bruit empêchant d'atteindre la valeur optimum du RSB, où le dispositif expérimental n'est limité que par le bruit de photons, est le bruit instrumental correspondant aux fluctuations de la source lumineuse et au flux de photon parasites.

Pour aller jusqu'au bout de l'étude de l'effet de la détection synchrone multiplexée sur le RSB, nous pouvons décomposer les bruits instrumentaux en deux composantes. La lumière provenant de la source a une composante continue ne correspondant pas au bruit  $B_{i2\ 0} = 1$  et une composante contenant tout le reste du spectre,  $B_{i2\ \bar{0}}$  qui parasite le signal à détecter. En ce qui concerne les lumières parasites, on peut décomposer le bruit en deux composantes : l'une à la fréquence de modulation  $f_0$ ,  $B_{i1\ f_0}$ , et l'autre à toutes les autres fréquences  $\bar{f}_0$ ,  $B_{i1\ \bar{f}_0}$ . Ainsi, les deux types de bruits instrumentaux s'expriment :

$$\begin{aligned} B_{i1} &= B_{i1\ f_0} + B_{i1\ \bar{f}_0} \\ B_{i2} &= B_{i2\ 0} + B_{i2\ \bar{0}} \end{aligned} \quad (\text{II.56})$$

Sachant que le flux de photon  $P$  est modulé à  $f_0$ , après l'acquisition des images et la moyenne des échantillons homologues, le calcul de la composante de la TFD par soustraction d'images permet de ne conserver que la composante à  $f_0$  du flux de photon total. En supprimant toutes les composantes fréquentielles  $\bar{f}_0$  du signal détecté, la détection synchrone multiplexée permet donc d'avoir un RSB en puissance optimisé :

$$RSB = \frac{((B_{i2\ 0} + B_{i2\ \bar{0}})P\eta_e T)^2}{((B_{i2\ 0} + B_{i2\ \bar{0}})P + (B_{i1\ f_0} + B_{i1\ \bar{f}_0}))\eta_e T} \equiv \frac{(B_{i2\ 0}P\eta_e T)^2}{(B_{i2\ 0}P + B_{i1\ f_0})\eta_e T} \quad (\text{II.57})$$

Seule persiste alors la composante  $B_{i1\ f_0}$  qui nous empêche d'atteindre la valeur limite du RSB. Comme nous l'avons expliqué en décomposant le flux de photons parasite, la valeur de chacune des composantes dépend grandement de la configuration de l'instrument ainsi que de la "propreté" de l'échantillon. C'est pourquoi, lors de la conception des instruments, nous avons cherché à ce que cette composante soit minimale et que nous avons mis au point une technique de fabrication des échantillons garantissant au maximum l'absence d'éléments diffusants autres que les nanoparticules dans l'échantillon (voir Annexe 1).

Dans cette section nous avons vu que la détection synchrone multiplexée, par l'accumulation et la soustraction d'images, permet de rendre négligeable le bruit de lecture (bruit technique) et de minimiser toutes les composantes parasites continues de la lumière détectée. Par ailleurs, l'accumulation d'un grand nombre d'images permet de diminuer l'importance relative du bruit de photons (bruit intrinsèque) dans le RSB. Ainsi, nous parvenons à obtenir un RSB théorique optimisé qui sera rendu maximum en minimisant expérimentalement les flux de lumière parasite modulés lors de la conception de l'instrument et des échantillons.



---

## Chapitre III

# Imagerie et Spectroscopie de nanoparticules d'or avec modulation spatiale de l'échantillon

---

### Sommaire

---

III.1 Imagerie plein champ de nanoparticules d'or . . . . .	62
III.1.1 Imagerie en illumination incohérente . . . . .	63
III.1.2 Imagerie en illumination cohérente laser . . . . .	76
III.1.3 Conclusion sur l'imagerie . . . . .	82
III.2 Spectroscopie de nanoparticules individuelles . . . . .	84
III.2.1 Dispositif expérimental . . . . .	84
III.2.2 Spectres expérimentaux et comparaison avec les sections efficaces simulées . . . . .	85
III.2.3 Conclusion sur la spectroscopie . . . . .	89
III.3 Conclusion . . . . .	89

---

Ces dernières années plusieurs techniques optiques ont été développées pour imager et étudier spectralement des nanoparticules métalliques individuelle. Dans la mesure où les nanoparticules de métaux nobles sont couramment utilisée dans certains domaines de la biologie en raison de leur biocompatibilité, le choix d'une détection et d'une caractérisation optique est justifiée car les conditions environnementale en

microscopie optique permettent l'étude d'organismes vivants contrairement à d'autres techniques de meilleure résolution comme la microscopie électronique.

L'intérêt des nanoparticules d'or pour les applications biologiques tient au fait que leur signal optique est plus important que celui de petites molécules. Ainsi, en fonctionnalisant les particules avec ces petites molécules il est possible de détecter leur présence et même de suivre leurs déplacements dans le cas de l'imagerie en temps réel. L'étude des propriétés spectrales des nanoparticules trouve des applications en biologie à l'échelle des réactions chimiques. En effet, comme nous l'avons vu au Chap.I, le spectre d'une nanoparticule dépend fortement de son milieu environnant. Ainsi, lorsqu'une molécule fixée à une nanoparticule réagit avec une autre molécule, le milieu environnant de la particule est modifié et son spectre n'est plus le même qu'avant la réaction.

Même si la détection de nanoparticules métalliques individuelles est plus aisée que celle de petites molécules, le signal à détecter reste très faible ce qui constitue la difficulté majeure pour l'imagerie et la spectroscopie de tels objets. En effet, comme nous l'avons montré au Chap.I, la puissance du signal à détecter est directement proportionnelle à la section efficace de diffusion qui varie entre  $10^{-20}$  et  $10^{-16}$  m<sup>2</sup> (à  $\lambda = 532$  nm) pour des particules de diamètre compris entre 10 et 50 nm contenues dans du verre.

Pour situer le contexte de nos expériences d'imagerie et de spectroscopie de nanoparticules métalliques individuelles, nous présentons deux instruments représentatifs des approches envisagées dans ce domaine. Les paramètres caractéristiques de ces instruments seront présentés en conclusion et comparés à ceux de notre dispositif.

En 2005, une équipe de l'université Duke (Caroline du nord) [23] a présenté un instrument utilisant un microscope inversé permettant une illumination incohérente en fond ultra-noir à l'aide d'un condenseur de grande ouverture numérique et d'un objectif à immersion à huile. La lumière à la sortie du microscope peut être dirigée soit vers une caméra CCD pour l'imagerie des nano-objets, soit vers un spectromètre imageur diffractant qui en diffracte une partie, sélectionnée spatialement par une fente, sur une deuxième caméra CCD. Ce dispositif permet ainsi de faire la spectroscopie de plusieurs particules individuelle simultanément en parallèle d'une imagerie plein champ, c.à.d. ne nécessitant pas de balayage de l'échantillon. Néanmoins, comme le signal diffusé est très faible et décroît comme le diamètre de la particule à la puissance six, cet instrument, composé d'éléments performants, ne permet pas de détecter et d'étudier spectralement des objets de diamètre inférieur à 70 nm.

En 2008, à l'université de Lyon 1 [31], un autre instrument a été développé permettant d'imager et de caractériser le spectre de nanoparticules métalliques. Ce dispositif est une adaptation en lumière blanche de la méthode de spectroscopie par modulation spatiale (SMS) [34] développée à l'université de Bordeaux 1. Cette technique est basée sur la modulation spatiale par translation piézoélectrique de l'échantillon placé dans le plan focal d'un faisceau de lumière blanche très focalisé. Pour des échantillons dilués, typiquement moins d'une particule par  $\mu\text{m}^2$ , une particule au maximum est

située dans la tache focale. Dans ce cas, en raison de la modulation de position, la particule se trouve alternativement dans et hors du point focal. Le faisceau laser très focalisé est ainsi occulté alternativement par la particule, produisant une modulation de l'énergie transmise collectée par un objectif de microscope. L'amplitude de cette modulation est directement proportionnelle à la section efficace d'extinction et est donc très faible. Une fois le faible signal d'extinction de la particule modulé et détecté par un photomultiplicateur, il est possible de le distinguer du faisceau transmis à l'aide d'une détection synchrone. Il est ainsi possible d'imager des nano-particules individuelles par balayage de l'échantillon. Pour la spectroscopie, le photomultiplicateur est remplacé par un spectrophotomètre déterminant quantitativement la puissance diffusée à chaque longueur d'onde. Ce dispositif utilisant une détection synchrone et une modulation spatiale de l'échantillon est plus sensible que le précédent et permet de détecter et de caractériser spectralement des particules de 40 nm de diamètre. Cependant, il présente l'inconvénient de nécessiter un balayage de l'échantillon ce qui accroît fortement le temps d'acquisition et ajoute du bruit à la mesure par le biais de la conversion du bruit temporel de la source en bruit spatial dans l'image.

Il est intéressant de noter que les techniques les plus performantes en terme de sensibilité sont celles basées sur une modulation du faible signal de diffusion ou d'absorption (spatiale ou photothermique [39]) associée à un dispositif de détection synchrone permettant d'extraire ce signal du fort fond continu. Ainsi, outre le dispositif de modulation spatiale que nous avons présenté [31], d'autres techniques sont issues de la méthode SMS utilisant la combinaison modulation/détection synchrone. Par exemple, dans les références [28,92] sont présentés des dispositifs très similaires où la lampe blanche [31] est remplacée par une source de longueur d'onde ajustable [28,92] permettant d'augmenter la puissance lumineuse incidente et donc le signal mais qui présentent l'inconvénient de nécessiter un balayage en longueur d'onde qui induit des inconvénients similaires à ceux du balayage spatial en terme de bruit et de temps d'acquisition. Toujours en lien avec la méthode SMS, d'autres techniques de modulation spatiale plus sélectives envers les nano-objets, comme le déplacement alternatif de particules par l'application d'un champ magnétique alternatif [93] ont vu le jour. Néanmoins cette technique nécessite l'utilisation de particules magnétiques, généralement non bio-compatibles, et ne pourra donc pas être appliquée aux mêmes domaines que la détection de nanoparticules d'or qui est principalement axée sur des applications biomédicales.

Ayant présenté ces deux instruments principaux [23,31], nous proposons de développer une technique permettant une détection des nano-objets en plein champ (typiquement  $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ ) avec un capteur matriciel pour minimiser le temps d'acquisition et éviter les bruits induits par un balayage de l'échantillon [94]. Nous avons montré que la combinaison d'une modulation du signal et d'une détection synchrone est optimale en terme de sensibilité. Ainsi, pour observer des objets de petites dimensions nous modulons la position de l'échantillon et nous détectons le signal, non plus avec une simple détection synchrone mais suivant un processus de détection synchrone multiplexée (voir Sec.II.2) compatible avec l'imagerie plein champ. Pour l'étude spec-

troscopique, nous utilisons un spectromètre imageur comme dans la référence [23] afin d'enregistrer simultanément le spectre de plusieurs particules individuelles en parallèle de l'imagerie.

Dans une première partie, nous exposons un dispositif d'imagerie plein champ basé sur une modulation spatiale couplé à un processus de détection synchrone multiplexée (voir Sec.II.2). Ce dispositif utilise une illumination fond noir ou guidée suivant les propriétés optiques du substrat de l'échantillon étudié. Dans une deuxième partie, nous adaptons le dispositif d'imagerie de façon à pouvoir mesurer le spectre de particules individuelles en parallèle de l'imagerie.

### **III.1 Imagerie plein champ de nanoparticules d'or**

La puissance des signaux à détecter est égale au produit de la section efficace et de la puissance surfacique incidente. Comme nous l'avons vu au Chap.I, les sections efficaces de diffusion de sphères de diamètre variant de 10 à 50 nm sont comprises entre  $10^{-20}$  et  $10^{-16}$  m<sup>2</sup>. Cela induit que la puissance de signal à détecter est très faible ( $10^{-10}$  à  $10^{-6}$  W.m<sup>-2</sup>) même pour une forte puissance surfacique incidente ( $10^{10}$  W.m<sup>-2</sup>).

Par conséquent, le dispositif que nous avons développé est optimisé de manière à minimiser le bruit et les signaux parasites qui empêchent de détecter le faible signal de diffusion des nano-objets. Ainsi, ce dispositif présente une illumination de type fond noir, différente suivant les propriétés optiques du substrat des échantillons à imager, permettant de ne détecter que la lumière diffusée par les nano-objets, la majeure partie de la puissance lumineuse incidente ne parvenant pas jusqu'au détecteur.

Pour minimiser les bruits de détection et les signaux optiques parasites, nous proposons de moduler le signal détecté via une modulation de la position de l'échantillon et de le détecter suivant un processus de détection synchrone multiplexée (voir Sec.II.2).

Comme première expérience, nous proposons d'imager un échantillon déterministe éclairé avec une illumination Köhler en lumière incohérente couplée un dispositif fond noir (Sec.II.1) dans un microscope commercial.

Une fois assuré par la nature déterministe de l'échantillon que ce dispositif expérimental permet de détecter des nano-objets, nous souhaitons imager des nano-objets de dimensions inférieures présentant une répartition aléatoire dans l'échantillon. Ainsi, il est nécessaire d'accroître la puissance surfacique incidente sur les particules. Pour ce faire, nous réalisons des échantillons à substrat transparent permettant une illumination en réflexion totale interne qui engendre beaucoup moins de pertes sur le flux incident qu'un dispositif fond noir commercial. Avec ce changement de dispositif d'illumination, la puissance du signal diffusé est accrue en raison de l'accroissement de la puissance surfacique incidente.

Enfin, comme nous l'allons voir par la suite, pour les petites particules, l'imagerie cohérente est plus sensible que l'imagerie incohérente. Ainsi nous remplaçons la source

incohérente par une source laser en conservant une illumination en réflexion totale interne qui est optimum en terme de puissance surfacique incidente.

### III.1.1 Imagerie en illumination incohérente

Dans cette section nous présentons les dispositifs expérimentaux en illumination incohérente pour des échantillons déterministes à substrat opaque puis pour des échantillons non déterministes à substrat transparent. Lorsque l'échantillon présente un substrat opaque, seule un dispositif fond noir commercial permet de filtrer la lumière incidente. Par contre, les échantillons à substrat transparents peuvent être éclairés en réflexion totale interne ce qui permet d'obtenir un signal diffusé plus important. Les paramètres spécifiques extraits des résultats expérimentaux pour les deux types d'illumination sont caractérisés individuellement puis comparés entre eux.

#### III.1.1.1 Echantillon à substrat opaque : Illumination incohérente en fond noir

Nous exposons ici une technique de nano-imagerie d'échantillons déterministes composés de plots d'or répartis de manière matricielle et dont les dimensions sont calibrées en microscopie électronique à balayage (MEB) et au microscope à force atomique (AFM). Ce type d'échantillons ne pouvant être réalisés aisément que sur des substrats opaques, nous proposons d'illuminer l'échantillon via un dispositif fond noir (voir Sec.II.1.1). Ce dispositif est basé sur une modulation spatiale de l'échantillon couplée à une détection synchrone multiplexée.

#### Echantillon de plots d'or sur silicium

Les échantillons à substrat opaques sont des plots d'or sur silicium obtenus par lithographie électronique réalisés par Sébastien Janel et Rabah Boukherroub de l'Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologie (IEMN) de Lille. Le silicium présente à sa surface une couche d'oxyde natif de 2 à 3 nm d'épaisseur modifiant son indice de réfraction à l'interface ainsi qu'une faible résistivité ( $0,04 \text{ Ohm.cm}^{-1}$ ) afin d'éviter les accumulation de charges au cours du procédé de fabrication. Une résine électro-sensible est déposée à la tournette sur le wafer de silicium puis irradiée par balayage d'un faisceau d'électrons décrivant un motif programmé par ordinateur. La résine insolée est décapée chimiquement puis une fine couche de métal est déposée par évaporation sur l'échantillon. Enfin, les résidus de résine non-insolés sont décapés chimiquement. Le principal facteur limitant la résolution du procédé de lithographie électronique est la création d'électrons secondaires qui diffusent dans la résine. Ainsi, il est difficile de lithographier de manière bien résolue des objets de dimensions inférieures à 60 nm.

L'échantillon étudié est constitué de plots d'or théoriquement parallélépipédiques, répartis suivant une matrice  $10 \times 10$  et espacés de  $7 \mu\text{m}$  (Fig.III.1(a)), sur un substrat opaque de silicium. L'épaisseur moyenne des plots, mesurée à l'AFM (Atomic Force Microscopy), vaut  $7 \text{ nm}$ . Les dimensions d'un plot dans le plan du substrat sont théoriquement  $40 \times 40 \text{ nm}$  mais on observe au SEM (Scanning Electronic Microscopy) une section circulaire de diamètre  $\approx 60 \text{ nm}$ , due à la résolution limitée du procédé (Fig.III.1(b)).

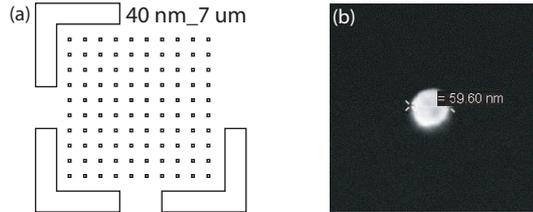


FIG. III.1 – Schéma d'un échantillon de plots d'or sur silicium obtenu par lithographie électronique (a). Image en microscopie électronique à balayage d'un plot d'or de largeur théorique  $40 \text{ nm}$  (b).

### Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental, représenté Fig.III.2, est constitué d'un microscope commercial dont le porte-échantillon est adapté pour moduler la position de l'échantillon dans le plan perpendiculaire à l'axe optique et accompagné des instruments nécessaires à une détection synchrone multiplexée afin d'éliminer au maximum les signaux parasites.

L'illumination de l'échantillon se fait par le biais d'un éclairage Köhler couplé à un dispositif fond noir (voir Sec.II.1.1). Ainsi, l'échantillon est illuminé de manière homogène et les réflexions spéculaires de l'onde incidente sur l'échantillon sont filtrées angulairement.

Seule la lumière diffusée par les plots est collectée par un objectif de microscope fond noir ( $\times 50$ ,  $\text{ON}=0,75$ ) et se propage jusqu'à une caméra CCD (Charge Coupled Device, Roper 512F,  $512 \times 512$  pixels).

Une platine piézo-électrique, alimentée par le générateur 1, module sinusoïdalement la position de l'échantillon dans le plan perpendiculaire à l'axe optique à la fréquence  $f_{PZT}$ . L'amplitude de modulation spatiale devant être supérieure à la largeur de la tache de diffraction produite par le plot et a été fixée à  $1,6 \mu\text{m}$ . Ainsi, le signal détecté par la caméra est modulé.

En vue d'effectuer une détection synchrone multiplexée du signal (voir Sec.II.2), la caméra CCD, commandée par le générateur 2, acquiert quatre images par périodes de modulation spatiale de l'échantillon, soit une fréquence d'acquisition  $f_{CCD} = 4f_{PZT}$ . Les générateurs 1 et 2 sont synchronisés par une horloge de référence commune afin

d'éviter les dérives en phase qui perturberaient l'efficacité du procédé de détection synchrone multiplexée.

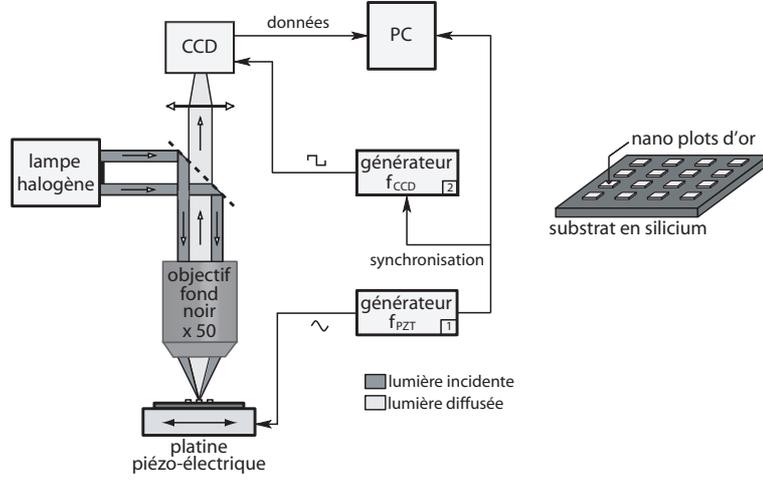


FIG. III.2 – Dispositif expérimental d'imagerie en modulation spatiale en illumination fond noir.

### Imagerie incohérente plein champ de plots d'or

Nous avons acquis une pile de  $N$  images  $I_k$  sur  $N/4$  périodes de modulation spatiale. Les images acquises au même instant de la période de modulation sont moyennées pour obtenir quatre images  $I_n$  :

$$I_n = \sum_{k=1}^{N/4} I_{n+4k} \quad (\text{III.1})$$

L'image démodulée, ne contenant que le signal modulé à  $f_{PZT}$  est défini à partir de ces quatre images :

$$I = (I_1 - I_3) + j(I_2 - I_4) \quad (\text{III.2})$$

où  $j^2 = -1$ . Le module de l'image démodulée plein champ  $|I|$  d'une matrice de plots d'or de 40 nm est représenté Fig.III.3(a) pour une acquisition d'une pile de 400 images avec un temps d'intégration de 10 ms, soit un temps d'acquisition de 4 s. La surface de la zone délimitée en pointillé est représentée Fig.III.3(b). Sur cette image, les plots d'or se distinguent clairement du fond et nous observons la présence de quelques diffuseurs parasites. Nous avons mesuré le RSB en faisant le rapport de la moyenne l'intensité maximale de 10 pics sur la variance du fond calculée sur  $10 \times 10$  pixels. Cette image présente un RSB en puissance très correct de 8,5 (sans unité).

Nous simulons le signal attendu pour un objet sub-longueur d'onde dont la position est modulée spatialement avec la même amplitude que dans cette expérience. Pour

cela, nous construisons quatre images prenant en compte le déplacement de l'objet durant un temps d'intégration égal à celui de l'expérience et nous leur appliquons le procédé de démodulation utilisé pour les images expérimentales (Eq.III.2). Pour simuler l'image de l'objet sub-longueur d'onde nous prenons une tache d'Airy. L'image résultant de cette simulation est représentée Fig.III.3(c). Les allures des signaux expérimentaux et simulés sont semblables.

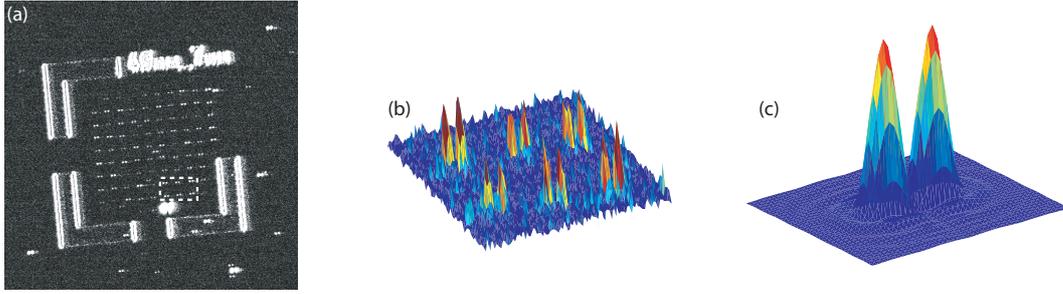


FIG. III.3 – Module de l'agrandissement de l'image démodulée plein champ ( $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ ) de la matrice de plots de 40 nm (a). Surface représentant l'intensité dans la zone délimitée en pointillés (b). Signal simulé pour un objet sub-longueur d'onde dont la position est modulée sinusoïdalement (c).

### Suppression de l'artéfact de dédoublement

En raison de la technique de démodulation, deux spots lumineux correspondent à un unique plot d'or. Ainsi, l'image démodulée est dédoublée ce qui peut être gênant pour la compréhension des images d'échantillons présentant une structure plus complexe. Nous voulons donc supprimer cet artéfact de dédoublement. Pour ce faire, nous avons remarqué que, par définition de l'image démodulée (Eq.III.2), les deux spots sont de signes opposés dans l'image complexe démodulée  $I$ . Ainsi, l'artéfact de dédoublement du signal dans l'image démodulée peut être supprimé en représentant l'image  $|I + |I||$ . Par abus de langage, nous appelons ce procédé déconvolution.

Les images expérimentales et simulées après suppression de l'artéfact de dédoublement sont représentées Fig.III.4 (a) et (b) respectivement. Nous observons que le deuxième pic est évidemment parfaitement supprimé sur la simulation (b) et qu'un pic résiduel négligeable persiste sur l'image expérimentale (a) en raison de la symétrie imparfaite du motif dédoublé. Le RSB de l'image déconvoluée, égal au rapport de la moyenne de l'intensité maximale de 10 pics sur la variance du fond mesurée sur  $10 \times 10$  pixels, vaut 4,0 (sans unité). Nous notons donc le procédé de déconvolution permettant la suppression de l'artéfact de dédoublement de l'image démodulée engendre une perte de RSB d'un facteur 2,1 pour cette image.

Ainsi, pour l'imagerie en fond noir de nano-objets de dimensions relativement importantes ( $> 50$  nm), où le RSB de l'image dédoublée est élevé ( $> 10$  sans unité), la perte

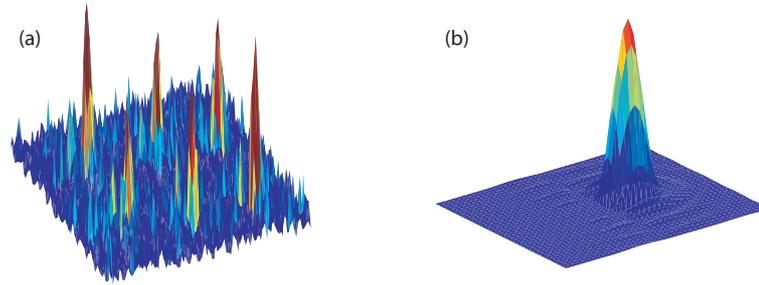


FIG. III.4 – Signal en intensité déconvolué de la même surface que Fig.III.3(b) (a).Image du signal simulé démodulé déconvolué pour un objet sub-longueur d'onde dont la position est modulée sinusoidalement (b).

en RSB engendrée par le processus de déconvolution est tolérable. Par contre, pour détecter des objets de dimensions faibles ( $< 50$  nm), il est préférable de conserver l'image dédoublée car la perte en RSB induite par la déconvolution peut empêcher de distinguer clairement les nano-objets.

### Sensibilité du dispositif

La technique de modulation spatiale en microscopie optique plein champ avec une source incohérente (lampe halogène) illuminant l'échantillon en configuration Köhler couplée à un dispositif fond noir permet de détecter des plots d'or d'apparence cylindrique de 60 nm de diamètre et d'épaisseur 7. Sachant que la section efficace de diffusion d'une particule sphérique varie comme son volume au carré (Sec.??), nous évaluons le diamètre équivalent au volume du plot d'or à 32 nm. Considérer un plot cylindrique comme une sphère est une approximation grossière dans la mesure où la forme du nano-objet influe grandement sur la section efficace et le diagramme de diffusion. Néanmoins, l'évaluation de ce diamètre équivalent permet de donner une idée de la sensibilité de ce dispositif. Pour des nano-objets de cette dimension, le RSB ( $=8,5$  sans unité) est correct mais il semble que, sans autre modification, il serait difficile de détecter des objets plus petits.

Il est possible d'améliorer le RSB des images en rendant le bruit de détection négligeable devant le signal et les bruits optiques liés au dispositif. Ainsi, nous pensons augmenter la puissance du signal diffusé et des signaux optiques parasites en augmentant la puissance surfacique incidente, tout en conservant une illumination de type fond noir qui permet de ne détecter que la lumière ayant interagi avec les nano-objets. Accroître la puissance surfacique incidente n'est pas envisageable en utilisant une illumination Köhler couplée à un dispositif fond noir commercial qui présente des pertes par son principe de fonctionnement. Nous proposons donc d'illuminer les nano-objets avec une lampe à arc xénon fibrée en réflexion totale interne. Cela nécessite que les nano-objets soient déposés sur un substrat transparent.

De plus, grâce aux échantillons déterministes réalisés en lithographie électronique, nous sommes assurés qu'il est possible de des nano-objets de 32 nm de diamètre équivalent. Nous envisageons donc de concevoir les échantillons à partir de nanoparticules d'or sphériques déposées aléatoirement sur une lame de verre. Le substrat étant transparent, l'illumination des particules peut alors se faire en guidant un faisceau de lumière intense dans le substrat transparent en vue d'augmenter l'intensité de lumière incidente et donc également l'intensité de lumière diffusée.

### **III.1.1.2 Echantillon à substrat transparent : Illumination incohérente guidée dans le substrat**

En vue d'augmenter la puissance surfacique incidente tout en conservant une illumination de type fond noir, nous proposons d'illuminer les nano-objets disposés de manière aléatoire sur un substrat transparent avec une lampe à arc xénon fibrée dans une configuration de lumière guidée équivalente à celle de réflexion totale interne.

#### **Echantillon**

Pour obtenir des échantillons non déterministes de nano-objets calibrés en taille, nous utilisons des nanoparticules d'or commerciales. Il est possible de laisser les particules se fixer à la lame de verre cependant cette technique nécessitant un rinçage pour éviter les agrégats ne permet pas d'obtenir une densité surfacique en nano-objet reproductible d'un échantillon à l'autre. Ainsi, nous choisissons de diluer la solution colloïdale aqueuse de particules d'or dans un milieu aqueux pour optimiser la dissolution. Par ailleurs, ce milieu initialement liquide doit pouvoir polymériser pour fixer les particules et les empêcher de se déplacer en suivant un mouvement Brownien sous l'effet de l'agitation thermique. Etant donné que nous voulons observer ces particules en lumière incohérente, il est nécessaire que le milieu de dilution soit transparent dans la gamme spectrale d'illumination, c.à.d. le visible ([400; 800] nm). Enfin, idéalement, ce milieu doit présenter un indice de réfraction proche de celui du verre de façon à ce que les particules perçoivent un milieu optiquement homogène. Divers gels ont été testés :

- Le gel d'agarose, nécessitant d'être chauffé, rend difficile la production d'échantillons ne contenant pas de diffuseurs parasites de dimension nanométriques. Par ailleurs, ce gel a de faible propriété d'adhérence vis à vis du verre ce qui rend impossible la réalisation d'échantillons de faible épaisseur calibrée à la tournette, ou "spin-coating".
- Le gel d'acrylamide polymérise sous l'effet d'un catalyseur de manière assez rapide. Il n'est donc pas possible de l'étaler de manière homogène sur une faible épaisseur de manière calibrée par "spin-coating". Par ailleurs, malgré les précautions pour éviter l'évaporation, ce gel vieillit et adopte une structure fortement diffusante en faisant apparaître les chaînes de polymère. Enfin, l'acrylamide est

cancérigène à l'état liquide et doit être manipulé sous hotte aspirante ce qui complique la réalisation des échantillons.

- Le gel d'alcool polyvinyle (PVA) polymérise par séchage en moins d'une minute lorsqu'on l'étale par "spin-coating". Il présente les caractéristique optique de transparence et d'indice de réfraction ( $n_{PVA} \approx 1,5$ ) nécessaires à notre application. Enfin le PVA présente l'avantage de se conserver plusieurs semaines à l'abri de la lumière, évitant ainsi la fabrication répétée d'échantillons présentant des caractéristiques identiques.

Les échantillons sont donc préparés par dépôt à la tournette, ou "spin-coating", d'une solution de nanoparticules d'or dans de l'alcool polyvinyle (PVA) sur une lame de verre d'1 mm d'épaisseur (voir détails Annexe V.3). La concentration de la solution en nanoparticules et la vitesse de rotation de "spin-coating" ont été choisies de façon à ce que l'échantillon contienne moins d'une particule par  $\mu\text{m}^2$ . En effet, ce dispositif de microscopie est limité par la diffraction optique. Ainsi, pour que le signal de diffusion correspondant à une particule soit détectable de manière individuelle, il est nécessaire que les particules soit espacées d'une distance supérieure à la largeur de la tache de diffraction, ou tache d'Airy.

### Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est le même que dans la section précédente, seule la configuration d'illumination change (Fig.III.5(a)). Les échantillons à substrat transparent sont éclairés en guidant la lumière dans le substrat ce qui permet d'utiliser une source d'intensité plus élevée que la lampe halogène utilisée en fond noir et de conserver une configuration d'illumination où la lumière incidente n'ayant pas interagi avec les particules n'est pas détectée par le capteur (Fig.III.5(b)). La configuration en illumination guidée est parfaitement comparable à une illumination en réflexion totale interne (RTI). Dans la mesure où les particules sont fixées dans du PVA d'indice de réfraction très proche de celui du verre, la réflexion totale a lieu à l'interface PVA-air de l'échantillon. Ainsi, contrairement à une configuration classique de RTI où les particules à la surface du substrat convertissent le champ évanescent en champ progressif qui se propage jusqu'au capteur, ici, les particules, se trouvant dans le milieu avant l'interface de réflexion totale, n'interagissent pas avec le champ évanescent mais perturbent la création de ce champ en diffusant la lumière avant que celle-ci n'atteigne la surface PVA-air où se produirait la RTI en l'absence de particules (Fig.III.5(b)).

L'illumination incohérente est obtenue à l'aide d'une lampe à arc Xénon fibrée de puissance 20 mW et l'extrémité de la fibre optique de 5 mm de diamètre est couplée à la lame de verre par de l'huile d'immersion. L'ouverture numérique de la fibre optique valant 0,2, la divergence du faisceau incohérent dans la lame est  $\approx 8^\circ$  dans le plan de l'échantillon. Toute la lumière entrant dans la lame est guidée puisque le contraste d'indice de réfraction  $n_{\text{verre}}/n_{\text{air}}$  est supérieur au contraste  $n_{\text{coeur}}/n_{\text{gaine}}$  de la fibre optique

Dans le cas de l'illumination cohérente la source est un laser de puissance 40 mW et de

longueur d'onde  $\lambda = 532$  nm, dans la bande plasmon de l'or pour maximiser l'intensité de lumière diffusée et augmenter la sélectivité envers les nanoparticules d'or.

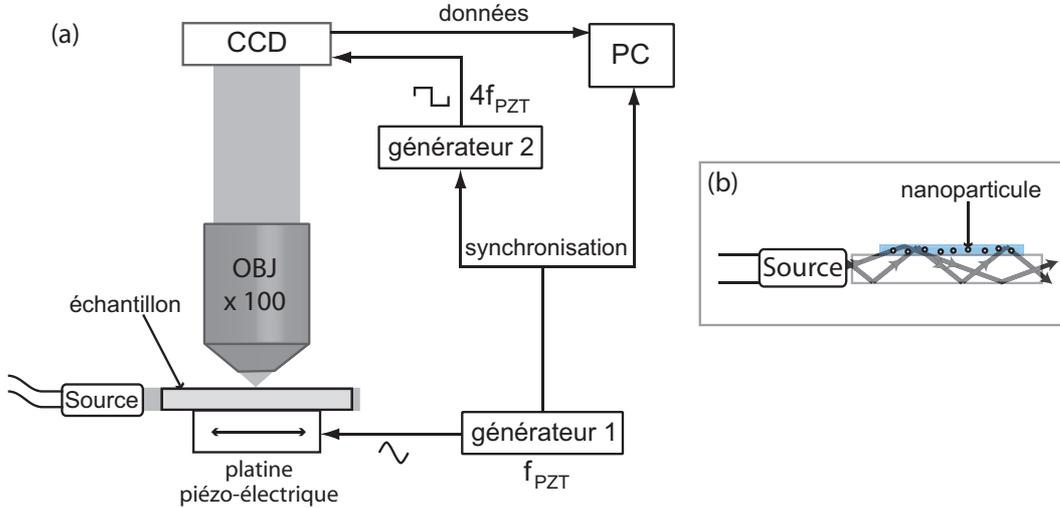


FIG. III.5 – Dispositif expérimental d'imagerie en modulation spatiale en illumination guidée (a). Illumination guidée dans le substrat (b)

### Imagerie incohérente plein champ de nanoparticules d'or

Nous avons acquis une pile de  $N$  images  $I_k$  sur  $N/4$  périodes de modulation spatiale. Les images acquises au même instant de la période de modulation sont moyennées pour obtenir quatre images  $I_n$  (Eq.III.1) qui sont ensuite démodulées pour obtenir l'image complexe  $I$  (Eq.III.2).

Les modules des images démodulées plein champ ( $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ ) non déconvoluées ( $|I|$ ) et déconvoluée ( $|I + |I||$ ) de nanoparticules de 30 nm de diamètre fixées dans du PVA sont représentés Fig.III.6(a) et (b), pour l'acquisition d'une pile de 696 images avec un temps d'intégration de 10 ms, soit un temps d'acquisition de 7 s, et une amplitude de modulation spatiale est  $1,6 \mu\text{m}$ . Les pics dédoublés et leurs images déconvoluées sont aisément visibles sur les agrandissements Fig.III.6(e) et (f) et illustrés par les profils des particules (Fig.III.6(d) et (g)). Comme le RSB de l'image démodulée est élevé (100 sans unité) la perte en RSB due au procédé de déconvolution ne perturbe pas la discrimination des nanoparticules dans l'image déconvoluée.

L'histogramme en intensité du signal (Fig.III.6(c)) est calculé en intégrant le signal (en niveaux de gris) sur la surface de 67 particules de 30 nm. D'après les données du fabricant, la distribution en taille des particules suit une loi gaussienne d'écart type inférieur à 1,2 nm et de valeur moyenne 29,6 nm. Nous retrouvons une allure gaussienne pour l'histogramme en intensité mesuré ce qui prouve l'homogénéité du

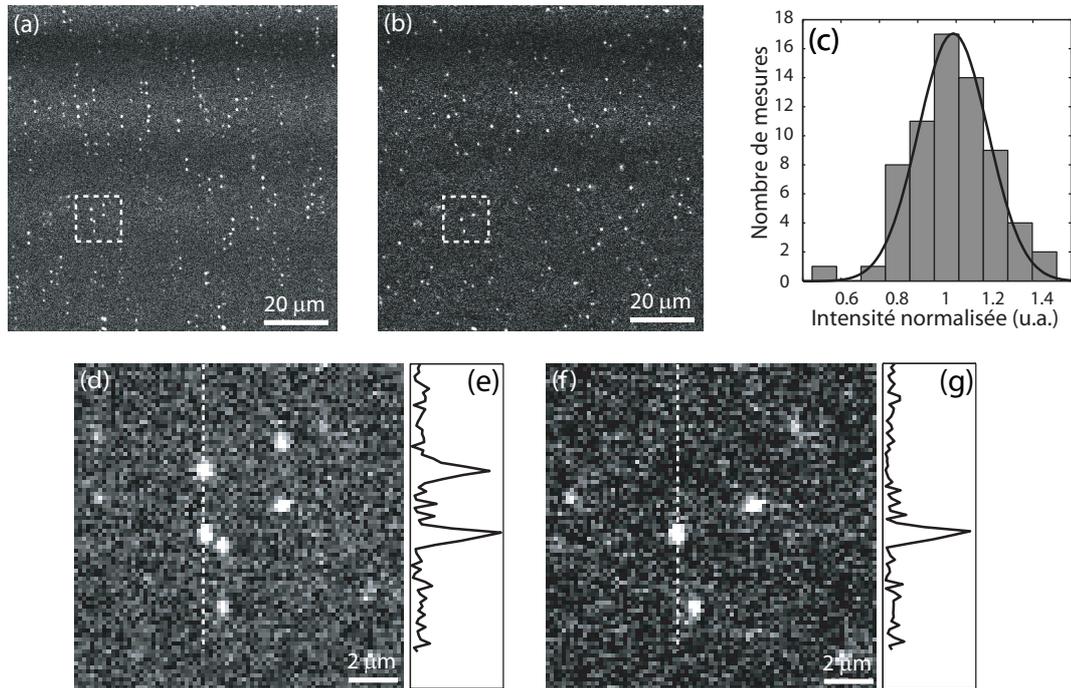


FIG. III.6 – Images plein champ ( $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ ) démodulées non déconvoluée (a) et déconvoluée (b) de particules individuelles de 30 nm de diamètre. Agrandissement de la surface encadrée de ces images ((d) et (f)) et profils respectifs d'une particule suivant la ligne pointillée ((e) et (g)). Histogramme en intensité du signal calculé pour 67 particules de 30 nm et ajustement gaussien.

signal détecté pour une taille de particule donnée et atteste qu'aucun agrégat de particules n'est détecté.

### Simulation du rapport entre les puissances diffusées mesurées en fond noir et en illumination guidée

Nous voulons calculer les puissances théoriques de lumière diffusée par un plot d'or de 40 nm et par une particule de 30 nm en vue de les comparer aux résultats expérimentaux de cette section et de la Sec.III.1.1.1. Pour cela, nous effectuons une simulation basée sur la théorie de Mie (voir Eq.I.29) permettant de déterminer le diagramme angulaire de diffusion d'une nanosphère ainsi que sa section efficace de diffusion en unités arbitraires. Pour cette simulation, nous prenons en compte le spectre de la source ainsi que le rendement quantique de la caméra en fonction de la longueur d'onde. Nous avons limité notre étude en longueur d'onde à la gamme  $\lambda = [400, 800]$  nm car l'émission des lampes halogènes et à arc xénon sont faibles en deçà de 400 nm (voir Fig.III.7) et que au delà de 800 nm les sections efficaces des nanoparticules d'or sont négligeables, comme nous l'avons vu Sec.I. Pour évaluer la puissance diffusée en unités

arbitraires, nous considérons également l'angle d'incidence de la lumière provenant de la source ainsi que l'angle solide de lumière collectée par l'objectif de microscope. Ces deux paramètres varient grandement pour la configuration en fond noir et celle d'illumination guidée dans le substrat.

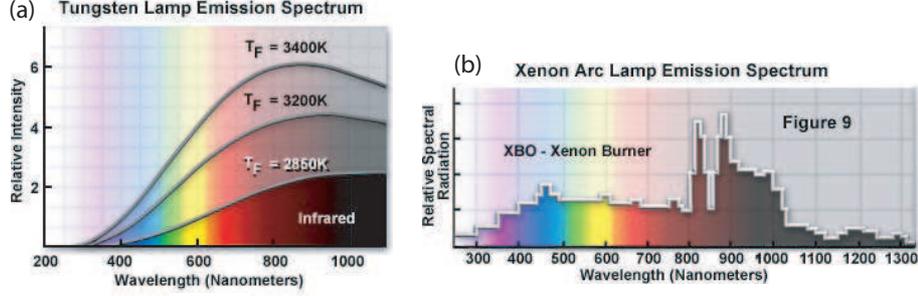


FIG. III.7 – Spectre d'une lampe tungsten-halogène (a) et d'une lampe à arc xénon (b) [95].

Dans cette simulation, le plot d'or de 40 nm ayant un volume équivalent à celui d'une particule sphérique de diamètre 32 nm est considéré comme tel. Le plot d'or étant dans l'air et posé sur un substrat de silicium oxydé sur 3 nm d'épaisseur, nous ne prenons pas en compte la présence de deux milieux distincts mais nous considérons un indice optique effectif du milieu environnant évalué par la formule :

$$n_{eff} = \alpha.n_{air} + (1 - \alpha).n_{SiO_2} \quad (III.3)$$

avec  $\alpha = 0,58$ . Pour plus de détails sur cette expression se référer à l'article [23].

Pour la particule de 30 nm, nous prenons comme diamètre pour les simulations, le diamètre "réel" donné par le fournisseur qui vaut 29,6 nm pour le flacon de colloïdes que nous avons utilisé pour fabriquer les échantillons. Le milieu environnant la particule est la PVA d'indice de réfraction  $n_{PVA} \approx 1,5$ .

Dans une première étape, pour les deux nanosphères de 32 et 29,6 nm de diamètre, nous déterminons leur diagramme angulaire de diffusion dépendant de la longueur d'onde en unités arbitraires grâce à la théorie de Mie que nous appelons  $S_{Mie}(\theta, \lambda)$ . En raison des unités arbitraires, les valeurs exposées par la suite n'ont pas de signification intrinsèque et nous ne considérerons que les rapports entre les valeurs calculées.

Ensuite, le diagramme de diffusion est intégré sur l'angle solide collecté par le microscope dépendant de la direction de la lumière incidente qui varie suivant la configuration d'illumination (voir Fig.III.8(a) et (b) pour la configuration en fond noir et l'illumination guidée dans le substrat, respectivement) :

$$S_{M\text{ collect}}(\lambda) = \int_{\text{cone de collection}} S_{Mie}(\theta, \lambda) d\theta \quad (III.4)$$

Une fois la dépendance en angle supprimée par le biais de l'intégration sur l'angle solide de collection de l'objectif, seule la dépendance en longueur d'onde persiste. Nous avons ainsi déterminé les sections efficaces de diffusion  $S_{collect}(\lambda)$  des nano-objets en fonction de la longueur d'onde pondérées suivant l'angle solide de collection de l'objectif pour les deux configurations d'illumination et de collection (en fond noir commercial et en illumination guidée dans le substrat).

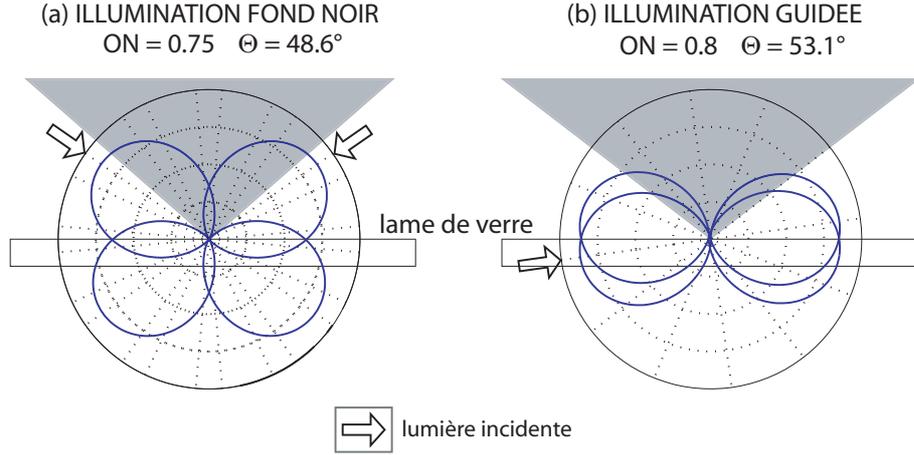


FIG. III.8 – Angle de collection de l'objectif de microscope par rapport à la direction de la lumière incidente pour les configurations d'illumination fond noir (a) et guidée (b).  $\Theta$  est le demi-angle de collection.

Pour prendre en compte les effets spectraux de la source, les sections efficaces de diffusion en fonction de la longueur d'onde sont multipliées par le spectre d'émission normalisé de la source  $S_{source}(\lambda)$ , soit celui d'une lampe halogène pour la configuration fond noir, et celui d'une lampe à arc xénon pour l'illumination guidée dans la lame :

$$S_{MC,source}(\lambda) = S_{M,collect}(\lambda) \cdot S_{source}(\lambda) \quad (III.5)$$

Ensuite, pour prendre en compte les propriétés spectrales de la caméra, les sections efficaces sont multipliées par l'efficacité quantique normalisée de la caméra en fonction de la longueur d'onde  $S_{camera}(\lambda)$  :

$$S_{MCS,camera}(\lambda) = S_{MC,source}(\lambda) \cdot S_{camera}(\lambda) \quad (III.6)$$

Nous obtenons ainsi les sections efficaces des nanosphères pondérées par les caractéristiques spectrales du dispositif expérimental  $S_{MCS,camera}(\lambda) = S_{MCSC}(\lambda)$ .

Enfin, la puissance diffusée effective est déterminée en considérant les puissances lumineuses surfaciques incidentes  $P_{inc}$  mesurées expérimentalement ( $14,2 \text{ W.cm}^{-2}$  pour l'illumination fond noir,  $195,5 \text{ W.cm}^{-2}$  pour l'illumination guidée dans la lame) :

$$P_{MCSC}(\lambda) = S_{MCSC}(\lambda) \cdot P_{inc} \quad (III.7)$$

	section efficace		puissance du signal	
	pondérée en angle intégrée en $\lambda$ : $\int S_{MC}(\lambda) d\lambda$	pondérée en angle et en $\lambda$ : $\int S_{MCSC}(\lambda) d\lambda$	simulée $\int P_{MCSC}(\lambda) d\lambda$	expérimentale
illumination fond noir	5.3	0.84	11.9	306
illumination guidée	2.3	1.70	332.35	$8.3 \cdot 10^3$

TAB. III.1 – Tableau récapitulatif des données simulées (bleu) et expérimentales (rouge, puissance en niveaux de gris) pour les configurations d'illumination fond noir et guidée. Ces valeurs sont données en unités arbitraires. Seuls les rapports entre ces valeurs ont une signification physique.

La puissance diffusée théorique pour l'illumination guidée est 28 fois supérieure à celle de la configuration fond noir (Tab.III.1, troisième colonne). Cela est dû principalement aux différences de puissance de lumière incidente (facteur 13,8) mais également à une meilleure adéquation spectrale entre la source et la caméra dans le cas de l'illumination guidée. En effet, quand on observe les résultats du tableau récapitulatif Tab.III.1, on remarque que la section efficace pondérée en angle de collection et en longueur d'onde est plus élevée (facteur 2,0, deuxième colonne) pour l'illumination guidée que pour la configuration fond noir alors que l'efficacité de collection angulaire est meilleure pour la configuration fond noir (facteur 2,3, première colonne).

La simulation permet d'évaluer que la puissance du signal diffusé devrait être 28 fois supérieure pour une illumination guidée que dans une configuration fond noir. Pour les images démodulés (Tab.III.1, quatrième colonne), ce rapport vaut 27 ce qui est en très bon accord avec les données simulées.

### Loi de variation de puissance du signal mesuré en fonction du diamètre de la particule

À présent, nous voulons déterminer la loi de variation de puissance du signal mesuré en fonction du diamètre de la particule. Pour cela, nous avons acquis trois piles de 696 images sur 174 périodes de modulation spatiale d'amplitude  $1,6 \mu\text{m}$  avec un temps d'intégration de 10 ms, soit un temps d'acquisition de 7 s, pour imager des échantillons de particules de 30, 40 et 50 nm de diamètre fixées dans du PVA.

Les intensités du signal sont mesurées en intégrant le signal (en niveaux de gris) sur la surface d'une trentaine de billes pour chaque taille de particule. Les valeurs moyennes de l'intensité sont représentées Fig.III.9, les barres d'erreur verticales correspondant à l'écart type de la distribution d'intensité déterminée pour chaque diamètre de particule. Les barres d'erreur horizontales correspondent à l'écart type de la distribution en taille des particules donné par le fournisseur (4% du diamètre moyen). Comme la puissance diffusée par une sphère varie comme son diamètre à la puissance six

( $d^6$ ), nous avons représenté Fig.III.9 une courbe pleine variant en  $d^6$  que nous avons ajustée par rapport à l'amplitude du signal mesuré (en niveaux de gris). Ainsi, nous notons que l'intensité du signal détecté en modulation spatiale par illumination guidée incohérente varie bien comme le diamètre de la particule à la puissance six.

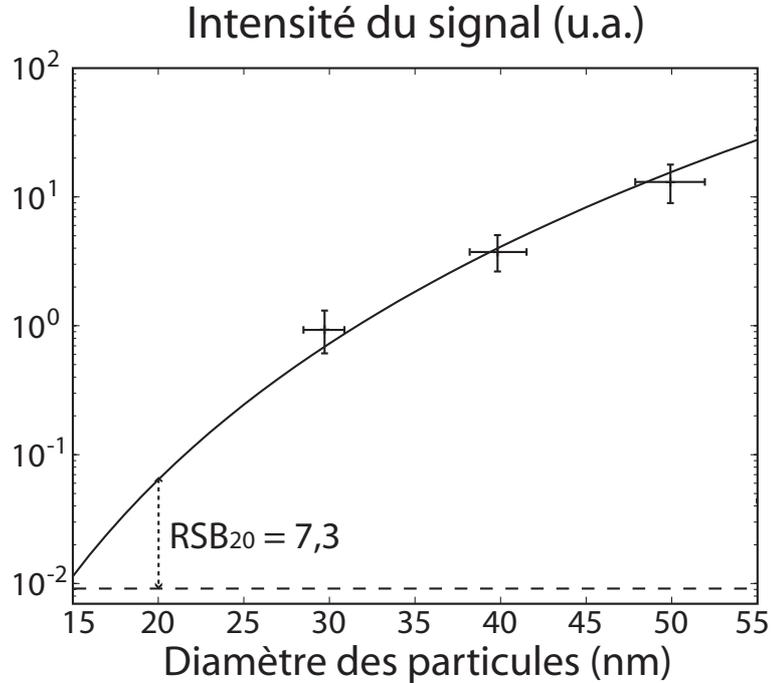


FIG. III.9 – Intensité du signal en fonction du diamètre de la particule. Les barres d'erreurs verticales et horizontales correspondent aux écarts type de la dispersion en intensité du signal (niveaux de gris) et de la dispersion en taille des particules respectivement. La courbe pleine varie comme le diamètre à la puissance six et est ajustée en amplitude par rapport au signal. La ligne horizontale pointillée correspond à la puissance du bruit. Le RSB pour une particule de 20 nm est évalué à partir de la courbe en  $d^6$  et de la puissance du bruit.

A présent, nous connaissons la loi de variation de puissance du signal en fonction du diamètre de la particule. Si l'on considère que le bruit reste constant, nous pouvons évaluer le RSB pour une particule de 20 nm à partir de la courbe en  $d^6$  ( $S_{20} = 7.10^{-2}$  en niveaux de gris) et de la puissance du bruit ( $B = 9,5.10^{-3}$  en niveaux de gris). On obtient un RSB (sans unité) :

$$RSB_{20} = 7,3 \quad (\text{III.8})$$

Ainsi, en illumination guidée incohérente, strictement dans les mêmes conditions expérimentales, des particules de diamètre aussi petit que 20 nm seraient détectables avec un RSB supérieur à 7 (sans unité).

Dorénavant, nous savons qu'il serait difficile de détecter des particules de diamètre inférieur à 20 nm avec le dispositif de modulation spatiale couplée à une détection

synchrone multiplexée dans le cas d'une illumination guidée incohérente. Pour détecter des particules de diamètre inférieur, nous proposons d'utiliser une source cohérente car, comme nous allons le montrer dans la prochaine section, l'imagerie cohérente de petits objets est bien plus sensible que l'imagerie incohérente. Le choix d'une source laser semble donc adapté. Pour choisir la longueur d'onde du laser qui remplacera la lampe à arc xénon, nous nous sommes basés sur l'allure des sections efficaces de diffusion de particules d'or dans du PVA. Nous avons noté Sec.I que ces sections efficaces présentent un accroissement local dans la bande  $\lambda = [500, 600]$  nm en raison de la résonance de plasmons de surface. Par ailleurs, l'utilisation d'une source de longueur d'onde dans la bande de résonance plasmon devrait augmenter la sélectivité de la mesure envers les nanoparticules d'or puisqu'il n'y a aucune raison pour que les nano-diffuseurs parasites présentent le même type d'accroissement local de leur section efficace ce qui permet de maximiser la puissance guidée dans la lame.

Ainsi, nous proposons de garder le même dispositif expérimental en ne modifiant que la source, c.à.d en remplaçant la lampe à arc xénon fibrée par un laser à  $\lambda = 532$  nm en vue de faire de l'imagerie cohérente sensible, d'augmenter la quantité de lumière guidée dans la lame ainsi que la puissance incidente surfacique et d'accroître la sélectivité de la détection envers les nanoparticules d'or.

### III.1.2 Imagerie en illumination cohérente laser

Dans cette section, nous montrons l'intérêt théorique d'utiliser une source cohérente pour imager de petites particules, puis nous vérifions cela expérimentalement en comparant des images en illuminations cohérente et incohérente et en déterminant expérimentalement la loi de variation du signal détecté en fonction du diamètre de la particule.

#### III.1.2.1 De l'intérêt de l'imagerie cohérente par rapport à l'imagerie incohérente

Comme nous l'avons affirmé, l'imagerie cohérente de nano-objets est plus sensible que l'imagerie incohérente. Pour montrer cela nous étudions plus en détail les composantes du signal détecté. Deux types de champs électromagnétiques parviennent jusqu'à la caméra : D'une part le champ que nous voulons détecter, c.à.d celui qui est diffusé par les nanoparticules ; et d'autre part, le faible champ parasite provenant d'une réflexion totale imparfaite en raison de la légère différence d'indice de réfraction entre le PVA et le verre.

Ainsi, le signal détecté est l'interférence du champ diffusé par les particules  $E_d$  et du champ parasite  $E_p$  [27,66]. L'intensité détectée au niveau du détecteur vaut donc :

$$\begin{aligned} I_{\text{detect}} &= (E_d + E_p) \cdot (E_d + E_p)^* \\ &= E_p^2 + E_d^2 + E_d \cdot E_p^* + E_d^* \cdot E_p \end{aligned} \quad (\text{III.9})$$

où \* représente le complexe conjugué. Dans cette expression,

- le terme  $E_p^2$  correspond au fond constant qui est supprimé grâce à la modulation spatiale et la détection synchrone multiplexée.
- Le second terme  $E_d^2$  est une intensité de diffusion pure directement proportionnelle à la section efficace de diffusion qui varie comme le diamètre de la particule à la puissance six ( $d^6$ ).
- Enfin, les deux termes croisés  $E_d.E_p^*$  et  $E_d^*.E_p$ , correspondant au phénomène d'interférence, sont proportionnels à l'amplitude du champ diffusé qui varie comme la racine de la section efficace de diffusion et donc comme le diamètre de la particule au cube ( $d^3$ ).

En illumination incohérente, les interférences sont brouillées en raison de la présence de multiples longueurs d'onde. Autrement dit, les termes croisés s'annulent. Ainsi le signal détecté est composé uniquement du fond constant et du terme de diffusion pure variant en  $d^6$ , comme nous l'avons vérifié dans la section précédente lors de l'étude de la loi de variation du signal en fonction de  $d$ .

Par contre, en illumination cohérente, les interférences ne se brouillent pas et les termes croisés persistent. Le signal détecté est donc composé de termes en  $d^3$  et d'un terme en  $d^6$ . Ainsi, pour les petites particules, typiquement de diamètre inférieur à 100 nm, les termes croisés dominent et la diffusion pure est négligeable. Ce qui signifie que le signal détecté varie donc comme  $d^3$  pour de petites particules illuminées en lumière cohérente et qu'il décroît donc beaucoup moins rapidement que dans le cas d'une illumination incohérente où il varie en  $d^6$ .

### III.1.2.2 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est le même que précédemment (Fig.III.5) à ceci près que la source est désormais un laser à  $\lambda = 532$  nm, dans la bande de résonance plasmon en vue d'accroître la sélectivité de la détection. En effet, les nanoparticules d'or ont des propriétés de diffusion et d'absorption bien spécifiques en raison de l'oscillation cohérente des électrons de conduction induite par un champ électrique incident, comme nous l'avons vu au Chap.I. Ce phénomène de résonance, illustré Fig.III.10 via la section efficace de diffusion d'une particule de 10 nm de diamètre fixée dans du PVA, se traduit par un accroissement significatif des sections efficaces de diffusion et d'absorption dans une gamme de longueur d'onde donnée dépendant des permittivités diélectriques complexes de la particule et de son milieu environnant. Ainsi, en illuminant les particules d'or avec une source émettant dans leur bande de résonance plasmon, comme un laser à 532 nm, la sélectivité de la détection est accrue d'un facteur 3,5 dans la mesure où les objets nanométriques parasites ne présentent pas de propriétés de diffusion ou d'absorption particulières en fonction de la longueur d'onde d'illumination.

Dans ce dispositif, le faisceau laser de 3 mm de diamètre n'est pas focalisé et pour maximiser l'intensité de lumière guidée dans l'échantillon, une lamelle est couplée à la tranche non polie de la lame de verre par de l'huile d'immersion.

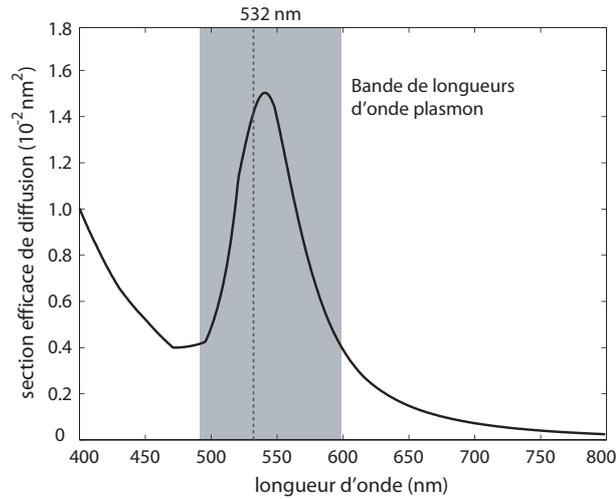


FIG. III.10 – Section efficace de diffusion d'une particule d'or de 10 nm de diamètre fixée dans du PVA.

### III.1.2.3 Comparaison des puissances des signaux en fonction de la source utilisée en illumination guidée

En vue de comparer les caractéristiques des détecteurs en illumination guidée laser et blanche, nous avons acquis deux piles de  $N$  images de la même zone d'un échantillon de particules de 30 nm de diamètre fixées dans du PVA et illuminées soit en lumière verte, soit en lumière blanche.

Nous présentons Fig.III.11 les modules des images démodulées de particules de 30 nm illuminées par le laser à 532 nm (a) et en lumière blanche (b) avec des puissances surfaciques respectives de  $2 \text{ kW.cm}^{-2}$  et  $1 \text{ W.cm}^{-2}$ . Pour chacune de ces images, une pile de 120 images a été acquise sur 30 périodes de modulation spatiale d'amplitude  $1,6 \mu\text{m}$  avec un temps d'intégration de 180 ms, soit un temps d'acquisition de 22 s. Les différences d'intensité du signal détecté d'une particule à l'autre résultent de la dispersion en position des billes dans l'épaisseur de l'échantillon évaluée expérimentalement à 200 nm. Ainsi, les particules hors du plan focal image présentent une intensité plus faible.

Pour les deux images présentées Fig.III.11, nous avons déterminé la puissance moyenne du champ diffusé par une particule individuelle (voir Tab.III.2). Dans le cas de l'imagerie incohérente, la puissance du champ diffusé est égale au signal détecté. Par contre, pour l'imagerie en illumination cohérente, la puissance du champ diffusé correspond au carré du signal détecté (voir Sec.III.1.2.1). La différence de signal entre les deux images est due principalement à la meilleure sensibilité de l'imagerie cohérente par rapport à l'imagerie incohérente, mais aussi à la différence de densité de puissance incidente en fonction de la source utilisée ainsi qu'à la variation de section efficace en fonction de la longueur d'onde.

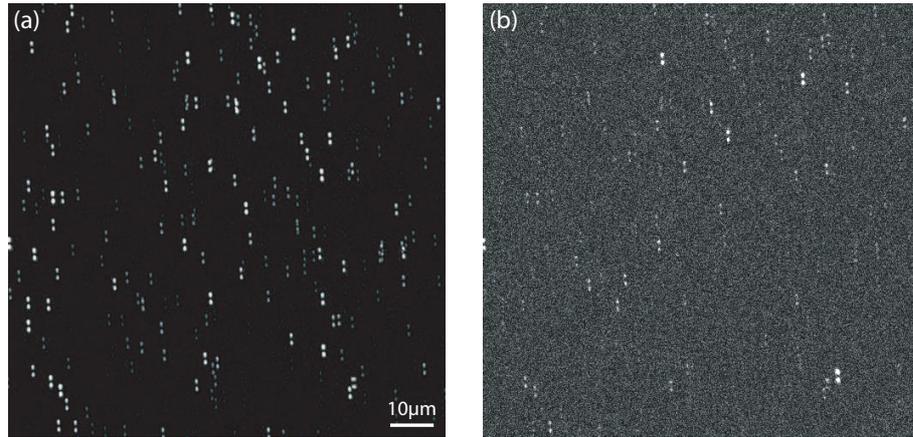


FIG. III.11 – Images démodulées de particules d'or de 30 nm de diamètre en illumination guidée avec la source laser (a) ou la source à arc xénon fibrée (b).

Les densités de puissance ont été déterminées expérimentalement en divisant la puissance mesurée à la sortie de la lame par la surface éclairée. Les sections efficaces de diffusion sont calculées à partir de l'Eq.I.41 pour une particule d'or de 30 nm de diamètre dans du PVA. Pour la source laser, nous avons calculé la section efficace à  $\lambda = 532$  nm ; pour la lampe à arc xénon, dont le spectre d'émission est à peu près plat de 400 à 800 nm, nous avons déterminé les sections efficaces pour toutes les longueurs d'onde  $\lambda = [400; 800]$  nm avec un pas de 1 nm puis nous les avons sommées et divisées par le nombre de longueurs d'onde intégrées pour obtenir un section efficace effective présentée Tab.III.2.

Ainsi, lorsqu'on observe les rapports entre les valeurs de ce tableau suivant le type de source utilisé, on note que le signal mesuré pour la source laser est  $7,4 \cdot 10^3$  fois supérieur à celui obtenu avec la source incohérente. Cela s'explique par le fait que la densité de puissance du laser est  $2 \cdot 10^3$  supérieure à celle de la source incohérente et que la section efficace de diffusion à  $\lambda = 532$  nm est 3,2 fois supérieure à la section efficace de diffusion effective calculée pour  $\lambda = [400; 800]$  nm. Le gain théorique apporté par l'utilisation de la source laser vaut donc  $2 \cdot 10^3 \times 3,2 = 6,5 \cdot 10^3$  ce qui est tout à fait du même ordre de grandeur que la valeur trouvée expérimentalement ( $7,4 \cdot 10^3$ ).

#### III.1.2.4 Limite de sensibilité du dispositif : Images de particules de 10 nm de diamètre

Pour évaluer les limites de détection de l'illumination guidée avec un laser vert, nous avons imagé un échantillon de particules de 10 nm de diamètre fixées dans du PVA.

Avec ce dispositif en lumière cohérente, nous pouvons ainsi détecter des particules de diamètre aussi petit que 10 nm avec un bon RSB (= 10 sans unité) comme l'atteste

	puissance diffusée	puissance (W/cm <sup>2</sup> )	C <sub>diff</sub> (m <sup>2</sup> )	RSB
arc xénon fibrée	$7,3 \cdot 10^8$	1	$5,3 \cdot 10^{-18}$	$7,3 \cdot 10^3$
laser 532nm	$5,4 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^{-17}$	$3,6 \cdot 10^6$

TAB. III.2 – Tableau récapitulatif de la puissance du signal en niveaux de gris et du RSB sans unité mesurés sur les modules des images démodulées de particules d'or de 30 nm de diamètre ainsi que de la puissance optique incidente et de la section efficace de diffusion suivant la nature de la source d'illumination guidée.

l'image démodulée et déconvoluée présentée Fig.III.12(a) et l'image agrandie d'une particule Fig.III.12(b). Cette image est obtenue en acquérant une pile de 120 images sur 30 périodes de modulation spatiale d'amplitude  $1,6 \mu\text{m}$  avec un temps d'intégration de 180 ms, soit un temps d'acquisition de 22 s. Néanmoins, avec une source cohérente, un effet de speckle apparaît dans l'image ce qui constitue une nouvelle limitation physique de ce dispositif.

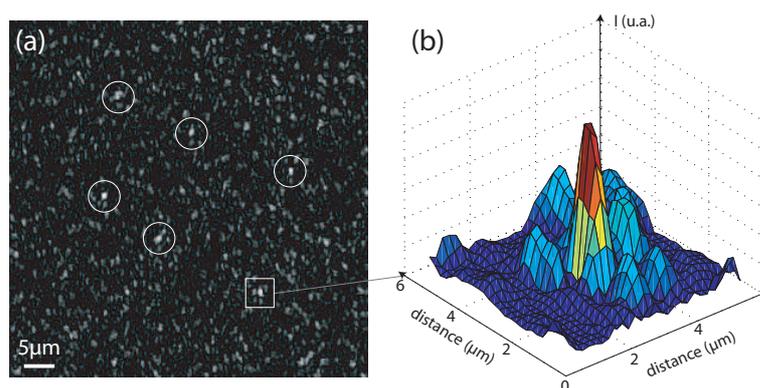


FIG. III.12 – Agrandissement du module de l'image démodulée déconvoluée de 6 particules d'or de 10 nm de diamètre (a). Image en surface de la particule encadrée (b).

### III.1.2.5 Loi de variation de puissance du signal mesuré en fonction du diamètre de la particule

À présent, nous voulons déterminer la loi de variation de puissance du signal mesuré en fonction du diamètre de la particule pour une illumination cohérente. Pour cela, nous avons acquis trois piles de 120 images sur 30 périodes de modulation spatiale d'amplitude  $1,6 \mu\text{m}$  avec un temps d'intégration de 180 ms, soit un temps d'acquisition de 22 s, pour imager des échantillons de particules de 10, 20 et 30 nm de diamètre fixées dans du PVA.

L'amplitude du signal est mesurée en intégrant le signal (en niveaux de gris) d'une trentaine de billes différentes pour chaque taille de particule. Les valeurs moyennes du signal sont représentées Fig.III.13, les barres d'erreur verticales correspondant à l'écart type de la distribution d'intensité déterminée pour chaque diamètre de particule. Les barres d'erreur horizontales correspondent à l'écart type de la distribution en taille des particules donné par le fournisseur (4% du diamètre moyen pour les particules de 20 et 30 nm de diamètre et 3% pour celle de 10 nm). Comme nous avons montré Sec.III.1.2.1 que le signal détecté en imagerie cohérente varie comme le diamètre de la particule au cube, nous avons représenté Fig.III.13 une courbe pleine variant en  $d^3$  et normalisée par rapport au signal (en niveaux de gris) qui permet d'identifier que le signal détecté en modulation spatiale par illumination guidée cohérente varie bien comme le diamètre de la particule à la puissance trois.

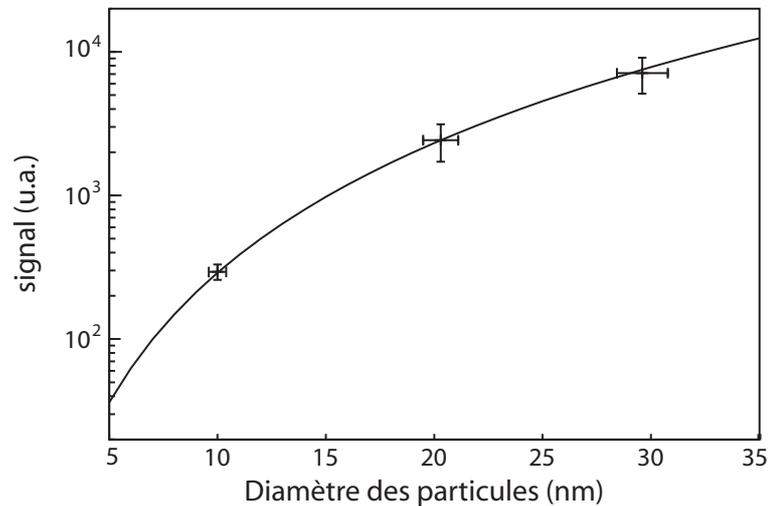


FIG. III.13 – Signal en fonction du diamètre de la particule. Les barres d'erreurs verticales et horizontales correspondent aux écarts type de la dispersion en intensité du signal (en niveaux de gris) et de la dispersion en taille des particules respectivement. La courbe pleine varie comme le diamètre à la puissance trois et est ajustée par rapport au signal.

Comme nous voulions un excellent RSB, nous avons imagé des particules de dimensions relativement grandes, c.à.d. des particules de 10 nm de diamètre avec un  $RSB = 10$  (sans unité). Ainsi, si l'on accepte un RSB inférieur (de l'ordre de 1, sans unité) et que l'on considère que le niveau de bruit est constant, nous déterminons à partir de la loi de variation du signal en fonction du diamètre de la particule, qu'il est possible de détecter des particules de diamètre aussi petit que 5 nm en combinant une illumination guidée cohérente à une modulation spatiale de l'échantillon et une détection synchrone multiplexée.

### III.1.3 Conclusion sur l'imagerie

Dans cette section, nous souhaitons détecter le signal de diffusion de nano-objets métalliques en microscopie optique plein champ. Comme ce signal de diffusion est très faible, il est indispensable de filtrer les signaux parasites. Pour ce faire, nous avons adapté le type d'illumination des échantillons ainsi que le processus de détection du champ diffusé par les nano-objets.

En effet, les échantillons sont illuminés dans des configuration permettant de ne détecter que la lumière ayant interagi avec les nano-objets, en évitant de collecter une partie du flux incident sur l'échantillon. Suivant les propriétés optiques du substrat des échantillons à imager, le dispositif d'illumination a été adapté.

De plus, pour éliminer au maximum les signaux parasites, aussi bien optiques que dus aux bruits de détection, nous avons conçu un dispositif permettant de moduler la position de l'échantillon dans le plan perpendiculaire à l'axe optique et de détecter le signal via un processus de détection synchrone multiplexée.

Pour évaluer les performances de ce dispositif expérimental, nous avons d'abord choisi d'étudier un échantillon déterministe où la disposition matricielle des nano-objets est parfaitement connue. Pour cet échantillon, les nano-objets sont des plots d'or dont les dimensions sont calibrées par des mesures en microscopie électronique à balayage (MEB) et en microscopie à force atomique (AFM). Cet échantillon, réalisé en lithographie électronique sur un substrat opaque, était illuminé en lumière incohérente via un dispositif fond noir commercial ne détectant que la lumière diffusée par les plots. Des plots de volume équivalent à une sphère de diamètre  $d = 32$  nm ont ainsi été observés.

Une fois que nous étions sûr de pouvoir détecter des objets de dimensions nanométriques, nous avons conçu des échantillons non déterministes constitués de nanoparticules d'or de taille variable et connue, réparties aléatoirement sur un substrat transparent. Ce type de substrat donne, en effet, la possibilité d'illuminer les nano-objets dans une configuration de réflexion totale interne, permettant ainsi d'accroître la puissance surfacique de lumière incidente en changeant de type de source, tout en ne détectant que la lumière diffusée par l'échantillon, le fort flux incident étant totalement réfléchi.

Dans un premier temps, ces échantillons ont été illuminés en lumière incohérente afin de d'avoir des données comparables avec celles de l'échantillon de plots d'or sur silicium. Nous avons ainsi montré que la configuration d'illumination en réflexion totale interne permet d'obtenir, pour des objets équivalents, un signal de diffusion de puissance 28 fois supérieure à celle du signal mesuré via un dispositif d'éclairage en fond noir.

Pour de petites particules, le signal détecté varie comme  $d^6$  pour une mesure en illumination incohérente alors qu'il décroît comme  $d^3$  lorsque la source est cohérente, en raison des interférences entre la lumière diffusée par les particules et celle du faible fond parasite.

Sachant cela, en vue d'imager des particules de diamètre inférieur à 20 nm, nous remplaçons la source incohérente du dispositif en RTI par une source laser. Outre le fait qu'elle est cohérente, cette source présente l'avantage de fournir un faisceau de puissance surfacique plus élevé que la source incohérente précédemment utilisée. Enfin, nous avons choisi une source laser de longueur d'onde située dans la bande de résonance plasmon où les sections efficaces sont localement accrues afin de maximiser la puissance du champ diffusé par les nanoparticules d'or. Malgré le fond de speckle dû à la cohérence de la source, nous avons imagé des particules de 10 nm de diamètre avec un bon RSB.

Expérimentalement, nous avons vérifié que le signal détecté varie bien en  $d^6$  pour une illumination incohérente et en  $d^3$  pour une illumination cohérente.

Dans le premier chapitre, nous avons montré que, en raison de la résonance de plasmons de surface, les spectres de diffusion de nanoparticules d'or présentent des caractéristiques particulières en fonction du diamètre de la particule, de sa forme, de sa composition et de son milieu environnant. En effet, la longueur d'onde de résonance plasmon se décale et l'amplitude du pic varie quand les paramètres liés à la particule et à son milieu sont modifiés. Ces dernières années, de nombreuses études en bio-imagerie tendent à exploiter ce phénomène. Pour ce faire, des nano-objets sont fonctionnalisés et leurs caractéristiques spectrales sont observées pour déterminer s'il y a eu ou non modification de l'environnement, c.à.d. interaction avec une molécule cible. Pour que ce type d'études soit efficaces, il est donc nécessaire de pouvoir détecter le spectre de diffusion de nano-objets et de connaître l'influence des différents paramètres que sont la taille, la forme et la composition de la particule ainsi que son milieu environnant.

Ainsi, maintenant que nous avons réussi à détecter le signal de diffusion de nanoparticules d'or, nous souhaitons observer leurs propriétés spectrales spécifiques. Pour ce faire, nous nous proposons de modifier le dispositif d'imagerie en illumination guidée basé sur une modulation spatiale de l'échantillon couplée à une détection synchrone multiplexée afin de faire la spectroscopie de nano-objets en parallèle de la détection.

## III.2 Spectroscopie de nanoparticules individuelles

Ces dernières années, a été développée une méthode de spectroscopie, appelée SMS (Spatial Modulation Spectroscopy), basée sur une modulation spatiale d'un échantillon composé de nanoparticules déposées sur un substrat ou fixées dans un film mince. Les particules sont placées dans le plan focal d'un faisceau de lumière très focalisé. Pour des échantillons dilués, typiquement moins d'une particule par  $\mu\text{m}^2$ , seulement une particule est au point focal. En raison de la modulation de position, la particule se trouve alternativement dans et hors du point focal ce qui engendre une modulation de l'énergie transmise qui est directement proportionnelle à la section efficace d'extinction de la particule à la longueur d'onde d'illumination. Cette lumière est analysée en longueur d'onde par un spectrophotomètre puis démodulée via une détection synchrone.

Nous proposons d'adapter le dispositif d'imagerie basé sur un modulation spatial de l'échantillon et une détection synchrone multiplexée où les particules sont illuminées en lumière guidée pour mesurer le spectre de plusieurs particules en une seule acquisition tout en conservant la capacité de faire l'imagerie de l'échantillon en parallèle.

### III.2.1 Dispositif expérimental

Pour combiner la spectroscopie et l'imagerie, le dispositif expérimental est très semblable à celui d'imagerie en lumière guidée à ceci près qu'il permet d'utiliser alternativement, sans modification du montage expérimental, les deux sources cohérente (laser à 532 nm) et incohérente (lampe à arc xénon fibrée), comme on le voit Fig.III.14 (a).

Ainsi, comme nous l'avons montré dans la section précédente, la source cohérente permet une détection optimum des nanoparticules et un positionnement de l'échantillon approprié pour l'analyse spectrale de plusieurs particules en parallèle. Une fois l'échantillon correctement positionné, les particules sont illuminées par la source incohérente qui permet de mesurer le spectre complet de nanoparticules individuelles.

Pour extraire l'information spectrale de la lumière incohérente diffusée par les nanoparticules, un spectromètre imageur (Inspector V8E, Specim) est inséré entre le microscope et la caméra. Ce spectromètre, constitué d'une fente de  $80\mu\text{m}$  de large et d'un réseau de diffraction (voir Fig.III.14 (b)), permet de sélectionner, à l'aide de la fente, une zone d'extension spatiale verticale de l'image plein champ à analyser spectralement puis de séparer par diffraction suivant la direction horizontale (perpendiculaire à la fente) les différentes longueurs d'onde constitutives du champ diffusé par les particules. Ainsi, en plaçant plusieurs particules dans la zone de sélection de la fente, il est possible d'observer les spectres de plusieurs particules en parallèle.

Pour la détection des particules en imagerie plein champ, le processus d'acquisition est identique à celui utilisé dans la section précédente, soit l'acquisition de quatre images par périodes de modulation spatiale. Les particules sont plongées dans un milieu

présentant sa propre réponse spectrale. Ainsi lors de l'acquisition d'une image spectroscopique, les spectres du milieu et de la particule s'additionnent. Pour n'extraire que l'information spectrale liée à la nanoparticule, il est nécessaire d'isoler ces deux réponses spectrales. Pour ce faire, la position de l'échantillon est modulée pendant l'acquisition et deux images, correspondant aux positions extrêmes du déplacement, sont acquises par périodes de modulation spatiale. Ainsi, les particules à analyser se trouvent alternativement au centre de la zone de sélection de la fente et hors de cette zone et l'on acquiert en alternance les spectres des particules et du milieu additionnés et celui du milieu environnant : Pour séparer le spectre des particules de celui du milieu environnant, il suffit de soustraire le spectre du milieu.

(a)

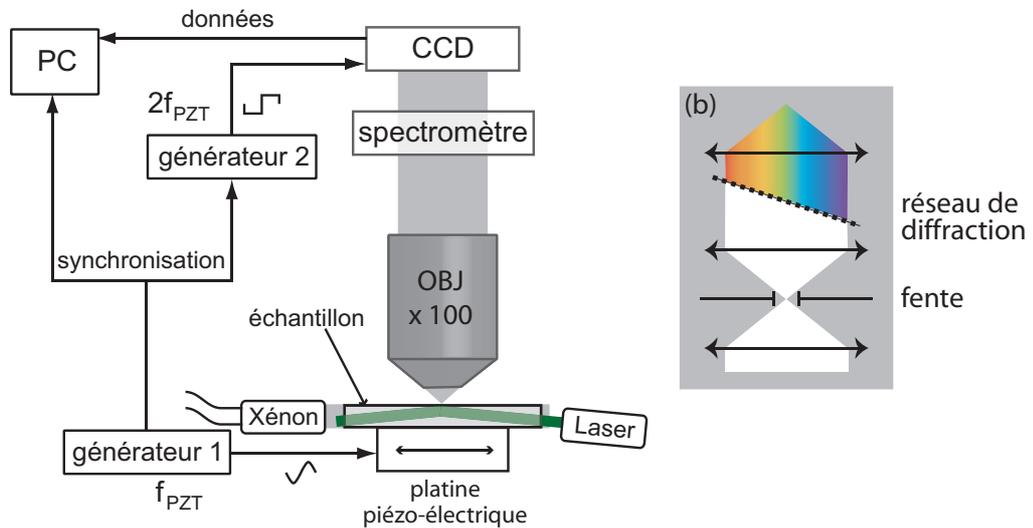


FIG. III.14 – Dispositif expérimental couplant la spectroscopie et l'imagerie en modulation spatiale sous illumination guidée alternativement cohérente (laser) ou incohérente (xénon) (a). Pour les mesures de spectres, un spectromètre imageur, sélectionnant une colonne de l'image et en diffractant le spectre (b), est inséré entre le microscope et la caméra.

### III.2.2 Spectres expérimentaux et comparaison avec les sections efficaces simulées

Dans cette sous section, nous calibrons en longueur d'onde avec une source de spectre d'émission connu les images spectrales obtenues avec notre dispositif. Puis nous mesurons le spectre de la lampe à arc xénon fibrée avec laquelle seront mesurés les spectres des particules d'or. Enfin, nous présentons les spectre normalisés en longueur d'onde de particules de 100, 50 et 40 nm de diamètre.

### III.2.2.1 Etalonnage en longueur d'onde du dispositif expérimental

Pour étalonner le dispositif en longueur d'onde, une image du spectre d'une lampe à vapeur de mercure, présentant plusieurs raies spectrales connues, est acquise. Comme la lumière est diffractée par un réseau, il existe une relation affine liant la position dans l'image spectrale à la longueur d'onde. Ainsi, en identifiant trois pics caractéristiques dans l'image spectrale, la correspondance entre le numéro de colonne  $col$  et la longueur d'onde  $\lambda$  est établie :

$$\lambda = -1,1844.col + 899 \quad (\text{III.10})$$

### III.2.2.2 Spectre de la lampe à arc xénon

Les mesures de spectre de particules sont effectuées avec la lampe arc xénon fibrée. En vue de normaliser les spectres de diffusion des particules en longueur d'onde par rapport aux caractéristiques spectrales de la lampe, une image spectrale de la lampe seule est acquise (Fig.III.15(a)). Le spectre expérimental  $S_0$  de la lampe à arc xénon convolué avec l'efficacité quantique de la caméra en fonction de la longueur d'onde est extrait de l'image spectrale en sommant l'ensemble des lignes de l'image (Fig.III.15(b)).

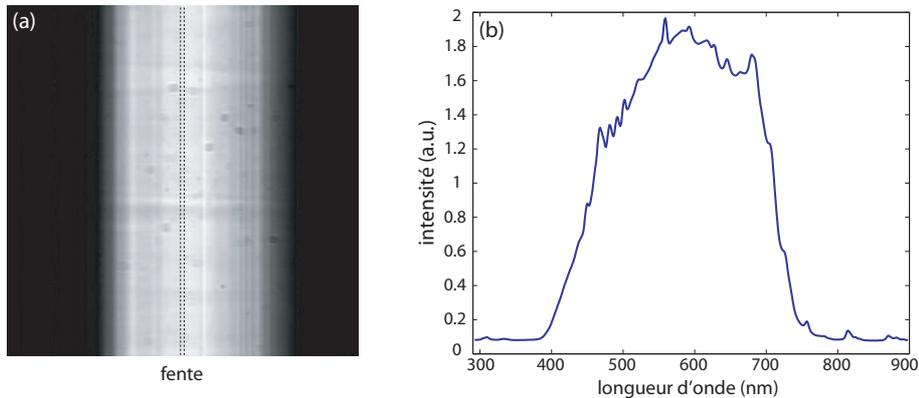


FIG. III.15 – Image spectrale  $I$  de la lampe à arc xénon (a). La zone délimitée en pointillés correspond à la position de la fente du spectromètre imageur. (b) Spectre  $S_0$  de la lampe à arc xénon convolué à l'efficacité quantique de la caméra, extrait de l'image spectrale par intégration de l'ensemble des lignes.

### III.2.2.3 Spectres de nanoparticules d'or individuelles

Pour obtenir des spectres de particules de 100, 50 et 40 nm, nous avons acquis trois piles de  $N = 64$  images sur 16 périodes de modulation spatiale d'amplitude  $1,8 \mu\text{m}$ , aux position extrêmes, avec un temps d'intégration de 300 ms, soit un temps

d'acquisition de 5 s, pour détecter les spectre de particules de 100, 50 et 40 nm de diamètre fixées dans du PVA en illumination guidée en lumière blanche.

### **Procédé d'extraction du spectre d'une nanoparticule individuelle**

A partir d'une pile d'images  $I_k$ , deux images spectrales  $I_1$  et  $I_2$  contenant respectivement les spectre de la particule et du milieu environnant sont obtenues de la manière suivante :

$$I_1 = \sum_{k=1}^{N/2} I_{2k-1} \quad \text{et} \quad I_2 = \sum_{k=1}^{N/2} I_{2k} \quad (\text{III.11})$$

Dans un premier temps, la réponse spectrale d'une particule et de son milieu environnant  $S_1$  est extraite de l'image  $I_1$  en sélectionnant les quelques lignes correspondant à l'extension spatiale de la tache de diffraction générée par la particule sur quelques lignes (ici trois, voir Fig.III.16(a)). Ces trois lignes correspondent numériquement à trois vecteurs de même longueur qui sont sommés terme à terme pour concentrer l'information spectrale sur un vecteur unique  $S_1$ . Pour extraire le spectre du milieu environnant  $S_2$ , le même procédé est appliqué à l'image spectrale du milieu  $I_2$ .

Pour ne conserver que l'information spectrale sur la particule  $S$ , le spectre du milieu  $S_2$  est soustrait à celui de la particule et du milieu  $S_1$ . Puis, le résultat de cette soustraction est divisé par le spectre de la lampe  $S_0$ , précédemment mesuré, en vue d'obtenir un spectre de diffusion de la particule normalisé en longueur d'onde  $S$  :

$$S = \frac{S_1 - S_2}{S_0} \quad (\text{III.12})$$

Pour réduire le bruit spectral engendré par le bruit temporel de la source et par les inhomogénéités de la caméra, le spectre  $S$  subit un filtrage à moyenne glissante sur cinq pixels adjacents. Ce filtrage, moyennant le spectre sur 4,7 nm de largeur, ne modifie pas la résolution de la mesure puisque la résolution spectrale du spectromètre imageur est de 5,3 nm.

### **Spectres expérimentaux**

Les spectres de particules de 100, 50 et 40 nm de diamètre sont présentés Fig.III.16(b). Pour les particules de diamètre  $\geq 50$  nm, les spectres mesurés avec nos échantillons sont difficilement comparables aux spectres obtenus par la théorie de Mie et sont donc sujets à caution. En effet, les particules étant proches de l'interface PVA-air, le milieu environnant ne présente pas une permittivité diélectrique homogène ce qui perturbe fortement l'allure du spectre. Néanmoins, nous présentons de manière comparative les spectres de particules de 100, 50 et 40 nm pour observer que la longueur d'onde de résonance plasmon décroît quand le diamètre de la particule diminue, comme nous l'avons montré théoriquement Sec.I.5.

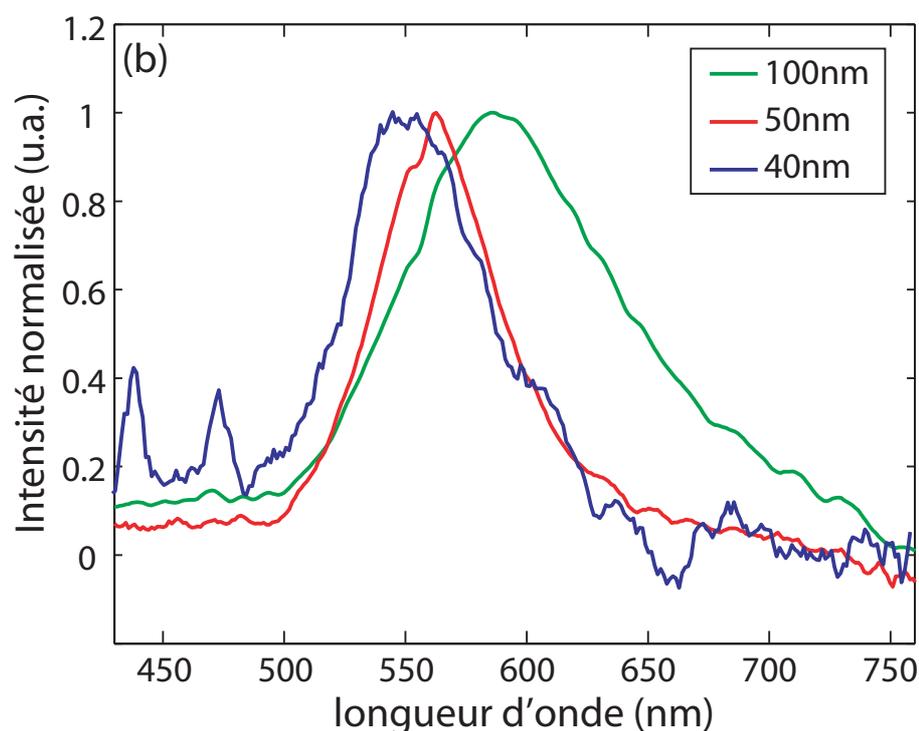


FIG. III.16 – Image spectrale d'une particule de 100 nm de diamètre (a). La zone délimitée en pointillé correspond aux lignes intégrées pour obtenir le spectre de la particule. Spectres de particules de 100 nm (vert), 50 nm (rouge) et 40 nm (bleu)(b).

### Comparaison d'un spectre expérimental avec le spectre obtenu par la théorie de Mie

Le spectre d'une particule de 40 nm de diamètre est représenté Fig.III.17 et comparé au spectre théorique obtenu par la théorie de Mie (courbe en pointillés). Le spectre théorique est déterminé par le calcul de la section efficace de diffusion de Mie. Le diamètre de la particule étant faible devant l'épaisseur de l'échantillon, nous considérons dans cette simulation que le milieu environnant est homogène. À partir de cette considération, nous avons calculé, suivant la théorie de Mie, la section efficace de diffusion normalisée d'une particule d'or fixée dans du PVA pour une lumière incidente non polarisée, la permittivité diélectrique de en fonction de la longueur d'onde étant calculée à partir de l'indice de réfraction complexe de l'or massif [69]. Dans cette simulation, les caractéristiques spectrales de la lampe et de la caméra ne sont pas prises en compte car le spectre mesuré a été normalisé en longueur d'onde via la division par  $S_0$ . On observe Fig.III.17 que les spectres de la particule de 40 nm de diamètre mesuré et calculé sont en parfait accord.

En augmentant le temps d'intégration, nous devrions détecter le spectre de particules de diamètre inférieur à 40 nm.

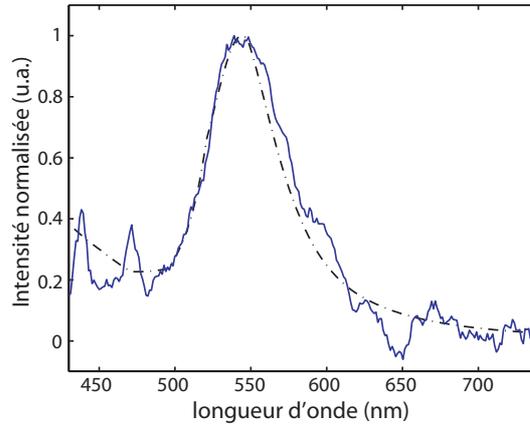


FIG. III.17 – Spectre de diffusion normalisé d'une particule de 40 nm de diamètre (ligne pleine). La ligne pointillée représente la section efficace de diffusion normalisée d'une particule de 40 nm de diamètre dans du PVA calculée via la théorie de Mie pour la lumière non polarisée en utilisant la permittivité diélectrique de l'or massif.

### III.2.3 Conclusion sur la spectroscopie

La technique de spectroscopie en détection synchrone multiplexée réalisée à l'aide d'une simple source incohérente (et non d'un super continuum beaucoup plus complexe et coûteux) permet d'acquérir des spectres de nanoparticules individuelles avec un court temps d'intégration (5 s, typiquement), rendant cette méthode compatible avec la plupart des applications actuelles des nanoparticules métalliques.

## III.3 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté deux dispositifs d'imagerie de nanoparticules basés sur une modulation spatiale de l'échantillon permettant de supprimer la composante continue des images détectées. Suivant les propriétés optiques du substrat de l'échantillon, une illumination fond noir ou guidée permet d'éclairer les nano-objets. Le dispositif en fond noir permet de collecter angulairement de manière optimale la lumière diffusée par les nanoparticules. Néanmoins, en lumière incohérente le dispositif en illumination guidée a une meilleure sensibilité car la puissance surfacique incidente est plus élevée. Avec une illumination guidée laser, la puissance surfacique est encore accrue par rapport à la lampe à arc xénon fibrée (incohérente) ce qui permet d'imager en plein champ ( $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ ) des particules de 10 nm de diamètre.

Pour mieux situer les performances de notre dispositif d'imagerie et de spectroscopie de nanoparticules dans le contexte scientifique international, nous comparons notre technique à deux autres dispositifs ayant un potentiel similaire au notre et décrits de manière assez complète en introduction de ce chapitre. Ces dispositifs sont ici

appelés de manière concise "Billaud 2008" [31] et "Curry 2005" [23] en référence au premier auteur et à l'année de publication des articles desquels ont été extraites les informations répertoriées dans le tableau récapitulatif Tab.III.3.

(a) IMAGERIE	modulation spatiale	plein champ	Tacq	surface imagée	diamètre particule	diffusion/absorption	source
Billaud (2008)	O	N	>70 s	36 $\mu\text{m}^2$	5 nm	absorption	cohérente
Curry (2005)	N	O	30 s	10 <sup>4</sup> $\mu\text{m}^2$	75 nm	diffusion	incohérente
guidée	O	O	22 s	10 <sup>4</sup> $\mu\text{m}^2$	10 nm	diffusion	cohérente

(b) SPECTROSCOPIE	instrument de spectroscopie	résolution spectrale	diamètre particule	source
Billaud (2008)	spectrophotomètre	3 nm	45.5 nm	incohérente
Curry (2005)	spectro-imageur	1 nm	75 nm	incohérente
guidée	spectro-imageur	5.3 nm	40 nm	incohérente

TAB. III.3 – Tableau récapitulatif des principaux paramètres caractéristiques d'imagerie (a) et de spectroscopie (b) de notre dispositif ("guidée") et de deux autres dispositifs potentiellement similaires ("Billaud 2008" et "Curry 2005") développés ces dernières années.

Sur les trois dispositifs présentés, deux sont basés sur une modulation spatiale de l'échantillon ("Billaud 2008" et "guidée") et deux autres permettent de faire de l'imagerie plein champ ("Curry 2005" et "guidée"). Comme on le voit aux colonnes 3 et 4 Tab.III.3(a), l'intérêt majeure de l'imagerie plein champ par rapport à l'imagerie par balayage point à point de l'échantillon est de réduire significativement le temps d'acquisition ( $T_{acq}$ ) par unité de surface.

Comme notre dispositif permet d'utiliser en parallèle une source laser et une source incohérente pour éclairer l'échantillon, la source cohérente fournissant une puissance surfacique incidente élevée est choisie pour la détection, permettant ainsi de détecter des objets de diamètre bien inférieur aux autres techniques (voir Tab.III.3(a), colonne 5).

Suivant que l'imagerie se fait en transmission ou en réflexion, on parle de détection et de spectroscopie des particules en absorption ou en diffusion respectivement. Sachant que pour les particules de diamètre  $d$  inférieur à 100 nm, le phénomène d'absorption ( $d^3$ ) domine sur celui de diffusion ( $d^6$ ), les techniques en transmission sont plus sensibles que celles en réflexion, toutes choses égales par ailleurs. Ainsi, des deux dispositifs utilisant une source incohérente de puissance surfacique incidente équivalente, "Billaud 2008" permet de voir de plus petits objets que "Curry 2005" (Tab.III.3(a), colonne 5) car cette technique est basée sur l'absorption de la lumière par les nanoparticules.

Pour les trois dispositifs, la spectroscopie est réalisée en illuminant les particules avec une simple lampe blanche (Tab.III.3(b), colonne 4). On note que, pour notre technique en mode spectroscopique, le fait de passer en illumination incohérente et de disperser la lumière diffusée en fonction de la longueur rend difficile la mesure de spectre de particules de diamètre inférieur à 40 nm alors qu'il nous est possible d'imager des particules de 10 nm.

La résolution spectrale de notre dispositif liée au spectro-imageur utilisé est moins bonne que celle des autres dispositif (Tab.III.3(b), colonne 2). En effet, pour notre dispositif, le réseau de diffraction dispersant la lumière diffusée par les particules comporte moins de lignes par unités de longueur. Ainsi, la dispersion angulaire de la lumière en fonction de la longueur est plus faible dans notre cas et le spectre moins étalé spatialement ce qui permet de mesurer le spectre de particules moins diffusantes, c.à.d. de diamètre inférieur (Tab.III.3(b), colonne 3).

En conclusion, dans le contexte scientifique international, notre dispositif expérimental basé sur une modulation spatiale de l'échantillon couplée à une détection synchrone multiplexée en illumination guidée (cohérente et incohérente en parallèle) permet une imagerie sensible et rapide en plein champ et une spectroscopie de plusieurs nanoparticules individuelles de faible diamètre simultanément en parallèle de l'imagerie.

Cette technique est toutefois limitée à une détection des nano-objets en deux dimensions dans l'épaisseur de la profondeur de champ et il serait intéressant d'avoir accès à une localisation suivant l'axe optique. Cela a été réalisé en microscopie de fluorescence par F. Chasles au cours de son travail de thèse au sein du laboratoire d'Optique Physique par le biais d'une modulation en  $z$  de l'objectif [96]. Cette technique permet d'obtenir des coupes optiques de l'échantillon suivant l'axe optique avec une très bonne résolution moyennant un balayage ligne à ligne de l'échantillon, incompatible avec une imagerie rapide en volume. En vue d'acquérir le diagramme de diffusion en trois dimensions de particules individuelles et d'avoir la possibilité d'imager des objets en mouvement, nous nous sommes tournés vers l'holographie qui est une technique classique d'imagerie en volume et qui présente l'avantage d'utiliser une source cohérente qui, comme nous l'avons vu dans ce chapitre, permet d'accroître la sensibilité de la détection.



---

## Chapitre IV

# Holographie numérique hétérodyne : principes

---

### Sommaire

---

IV.1 Holographie analogique . . . . .	94
IV.1.1 Enregistrement d'un hologramme . . . . .	95
IV.1.2 Reconstruction holographique . . . . .	96
IV.1.3 Holographie hors axe . . . . .	97
IV.1.4 Conclusion sur l'holographie analogique . . . . .	101
IV.2 Holographie numérique . . . . .	101
IV.2.1 Effet de la discrétisation du support d'enregistrement . . . . .	102
IV.2.2 Principe d'enregistrement et de lecture de l'hologramme . . . . .	104
IV.2.3 Suppression des ordres de diffraction parasites . . . . .	106
IV.2.4 Conclusion sur l'holographie numérique . . . . .	114
IV.3 Conclusion . . . . .	114

---

Après le dispositif d'imagerie en deux dimensions de nanoparticules basé sur une modulation spatiale de l'échantillon couplée à une détection synchrone multiplexée, nous souhaitons développer un autre instrument permettant une imagerie en trois dimensions des nano-

L'holographie a été découverte en 1947 par le physicien hongrois Denis Gabor [97] qui reçut, pour ce travail, le prix Nobel de physique en 1971. Cette découverte se fit par hasard, alors que M Gabor travaillait à l'amélioration de microscopes électroniques. Ce n'est qu'après le développement des lasers en 1960 que l'holographie prit son essor dans le domaine optique [98].

L'holographie est une technique combinant les processus d'interférence et de diffraction : Les interférences codent l'amplitude et la phase de l'onde provenant d'un objet tridimensionnel et la diffraction agit comme un décodeur en reconstruisant une onde qui semble provenir de l'objet précédemment éclairé. Cette technique a été appelée holographie, littéralement "tout écrire" du grec *ολος γραφειν*, car elle permet d'enregistrer la totalité des informations caractérisant une onde, c.à.d. son amplitude et sa phase. Pour comprendre la différence entre l'holographie et la photographie il suffit de considérer une photographie en noir et blanc. Dans ce cas, en chaque point, on enregistre l'intensité (c'est-à-dire l'amplitude du champ électrique au carré) des rayons lumineux qui constituent l'image. En holographie, on parvient à enregistrer sur l'hologramme une information riche, sous forme de franges, à la fois liée à l'amplitude et à la phase du champ électrique provenant de l'objet. Grâce à l'information de phase, il est notamment possible de reconstruire une image en trois dimensions de cet objet. En effet, la connaissance de l'amplitude et de la phase d'une onde en un plan donné de l'espace donne accès à son amplitude et sa phase en tout plan de l'espace.

En pratique, le procédé analogique de l'holographie se décompose en trois étapes :

- la première est l'enregistrement des interférences sur un support photosensible ;
- la deuxième implique un procédé chimique de développement du support ;
- la dernière est le processus de reconstruction physique de l'onde objet par diffraction de la lumière sur le réseau codé dans le support photosensible.

Compte tenu des contraintes liées au traitement des hologrammes (développement de l'hologramme principalement) qui rend leur utilisation industrielle difficile, il est envisagé dès 1972 [99] d'abandonner le support argentique de l'hologramme pour une matrice de valeurs discrètes. L'idée est de remplacer le procédé enregistrement/reconstruction analogique par un enregistrement/reconstruction numérique simulant la diffraction sur le réseau digital enregistré. On parle alors d'holographie "numérique". En pratique, pour des raisons techniques (informatique, microtechnologies), il faut attendre les années 1990 pour que l'holographie numérique se concrétise [100].

Dans cette section, nous aborderons dans un premier temps l'holographie dite "analogique" ou "classique", puis nous nous intéresserons à l'holographie dite "numérique". Ces deux parties traiteront de l'enregistrement d'un hologramme ainsi que de la reconstruction de l'onde objet.

## IV.1 Holographie analogique

Nous considérons dans cette section la lumière de manière ondulatoire puisque l'holographie est basée sur les principes de diffraction et d'interférences lumineuses.

L'hologramme se définit comme étant le motif interférentiel résultant des interférences entre deux ondes, une première dite "objet" ou "signal" et une seconde appelée "onde de référence". Ce motif contient l'information, en terme d'amplitude complexe, du champ objet étudié. Ainsi, il est possible de restituer le champ objet dans son intégralité, amplitude et phase, à partir du support holographique. C'est l'information de

phase qui, en complétant l'amplitude, permet de restituer le relief de l'objet, et de recréer la parallaxe.

Nous allons d'abord étudier le procédé d'enregistrement d'un hologramme puis celui de restitution hologramme dans une configuration dite "dans l'axe". Après avoir pointé les inconvénients de cette configuration, nous présentons la configuration dite "hors axe" pour l'enregistrement d'un hologramme.

### IV.1.1 Enregistrement d'un hologramme

Pour enregistrer un hologramme qui permette de reconstruire un objet en relief, l'objet est éclairé et le champ provenant de l'objet est combiné, au niveau du film photographique, avec un champ de référence provenant de la même source cohérente (en général, un laser). Cela produit une figure d'interférences composée de franges qu'on appelle hologramme.

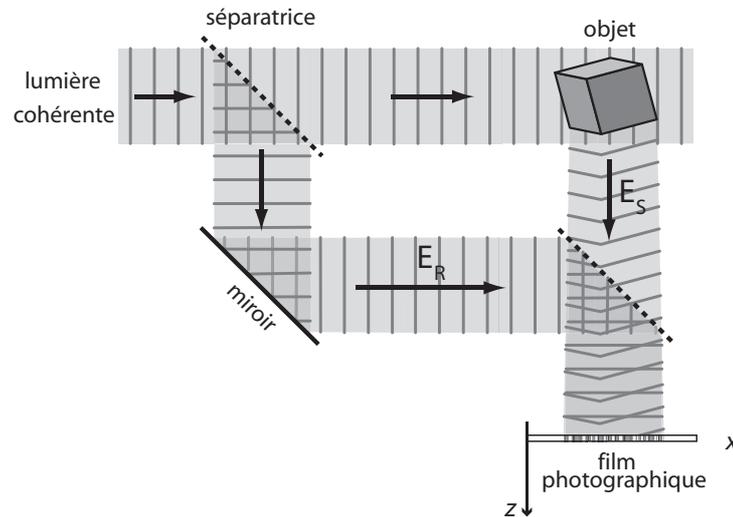


FIG. IV.1 – Dispositif d'enregistrement d'un hologramme.

En holographie analogique, on place un film photographique dans le plan  $(\vec{x}, \vec{y}, 0)$  et on enregistre l'intensité  $I(x, y, 0)$  résultant de l'interférence entre le champ complexe  $E_S(x, y, z) = A_S(x, y, z) \exp(i \cdot \Phi_S(x, y, z))$ , où  $A_S(x, y, z)$  est l'amplitude et  $\Phi_S(x, y, z)$  la phase, et une onde de référence  $E_R(x, y, z)$  (Fig.IV.1) [101]. Ces amplitudes complexes s'ajoutent, dans le plan du film photographique, de sorte que l'intensité prend la forme :

$$I(x, y, 0) = (E_S(x, y, 0) + E_R(x, y, 0)) \cdot (E_S(x, y, 0) + E_R(x, y, 0))^* \quad (\text{IV.1})$$

où \* représente le complexe conjugué.

En développant, on peut décomposer l'intensité lumineuse en trois termes :

$$\begin{aligned}
 I(x, y, 0) &= I_S(x, y, 0) + I_R(x, y, 0) \\
 &\quad + E_S(x, y, 0) \cdot E_R^*(x, y, 0) \\
 &\quad + E_S^*(x, y, 0) \cdot E_R(x, y, 0)
 \end{aligned} \tag{IV.2}$$

où  $I_S(x, y, 0) = |E_S(x, y, 0)|^2$  et  $I_R(x, y, 0) = |E_R(x, y, 0)|^2$ . Les premiers termes correspondent à la somme des intensités diffractées par l'objet,  $I_S$ , et par la référence,  $I_R$ , dans le plan  $z = 0$ . Ces termes, ne contenant pas d'information de phase, ne permettent pas de reconstruction de l'objet. Par contre, les deux autres termes sont proportionnels soit au champ signal, soit à son complexe conjugué, et vont être utiles pour la reconstruction de l'objet.

Ainsi,  $I(x, y, 0)$  représente l'intensité lumineuse dans le plan du film photographique. Lorsque la caractéristique liant la transmission en amplitude en fonction de l'exposition du support photosensible est linéaire dans la gamme d'intensité d'éclairément utilisée, alors la transmission en amplitude du négatif est proportionnelle à l'intensité lumineuse reçue. Une fois l'exposition achevée, le support photosensible est développé, généralement par bain chimique, afin d'obtenir un positif appelé "hologramme" codant la phase et l'amplitude de l'onde objet étudié. A la fin du processus d'enregistrement, la transmittance en chaque point  $(x, y)$  de l'hologramme est donc proportionnelle à l'intensité  $I(x, y, 0)$  du diagramme d'interférence engendré par la superposition des ondes objet et référence.

### IV.1.2 Reconstruction holographique

La restitution du champ objet codé dans l'hologramme est fondée sur le principe de diffraction de la lumière. En pratique, l'hologramme porteur de l'information  $I(x, y, 0)$  sous la forme de la transmission d'une plaque photographique développée est illuminé par le champ de référence  $E_R(x, y, z)$  qu'il diffracte en un champ reconstruit  $E_H(x, y, z)$  (Fig.IV.2) :

$$\begin{aligned}
 E_H(x, y, z) &\propto (I_S(x, y, 0) + I_R(x, y, 0))E_R(x, y, z) && \text{ordre } 0 \\
 &\quad + E_S(x, y, 0) \cdot E_R^*(x, y, 0) \cdot E_R(x, y, z) && \text{ordre } +1 \\
 &\quad + E_S^*(x, y, 0) \cdot E_R(x, y, 0) \cdot E_R(x, y, z) && \text{ordre } -1
 \end{aligned} \tag{IV.3}$$

Quand observe cette equation, chaque terme a la dimension d'une intensité multipliée par un champ. L'intensité correspond à l'information enregistrée sur l'hologramme et peut être considérée comme un terme multiplicatif du champ.

Quand l'hologramme est illuminé par le champ de référence [102], celui-ci est diffracté par le réseau de franges du film de manière à reconstruire le champ objet d'origine en amplitude et en phase. L'observateur perçoit alors un objet virtuel en 3D.

Dans l'Eq.IV.3 :

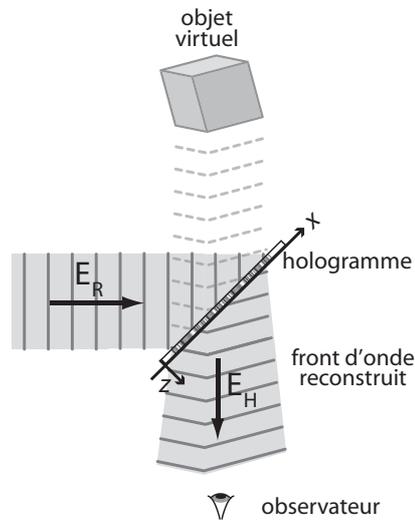


FIG. IV.2 – Dispositif de reconstruction holographique.

- Le premier terme, qui correspond à l'ordre 0 de diffraction, restitue essentiellement l'onde de référence et ne porte aucune information directement utilisable.
- Le deuxième terme correspond à l'ordre +1 de diffraction et est proportionnel à l'onde diffractée par l'objet lors de l'enregistrement à un facteur d'amplitude  $I_R = E_R^* \cdot E_R$  près. C'est ce terme qui correspond à l'objet virtuel en 3D perçu par l'observateur à la position initialement occupée par l'objet. Le facteur d'amplitude qui lui est associé peut être considéré comme un facteur d'amplification du champ signal.
- Le troisième terme correspond à l'ordre -1 de diffraction et donne une image réelle de l'objet. Spatialement, il est le symétrique de l'objet virtuel (ordre +1) par rapport au plan de l'hologramme.

Le terme qui nous intéresse pour reconstruire l'objet virtuel est celui d'ordre +1. Il faut donc supprimer les termes d'ordres 0 et -1 qui parasitent l'objet dans l'image reconstruite. Dans une configuration d'enregistrement de l'hologramme telle que celle présentée Fig.IV.1, les trois ordres de diffraction se superposent. Pour pouvoir séparer ces ordres de diffraction en vue de ne conserver que l'ordre +1, nous présentons une configuration d'enregistrement de l'hologramme hors axe.

### IV.1.3 Holographie hors axe

Pour que les trois ondes diffractées n'interfèrent pas les unes avec les autres lors de la reconstruction de l'objet, E. Leith et J. Upatnieks [98, 103] ont proposé, dès 1962, une configuration expérimentale particulière où la direction de propagation de l'onde de référence est inclinée d'un angle  $\theta_R$  par rapport à la direction moyenne de propagation de l'onde signal. Cette géométrie d'enregistrement d'un hologramme est

appelée holographie hors axe (Fig.IV.3).

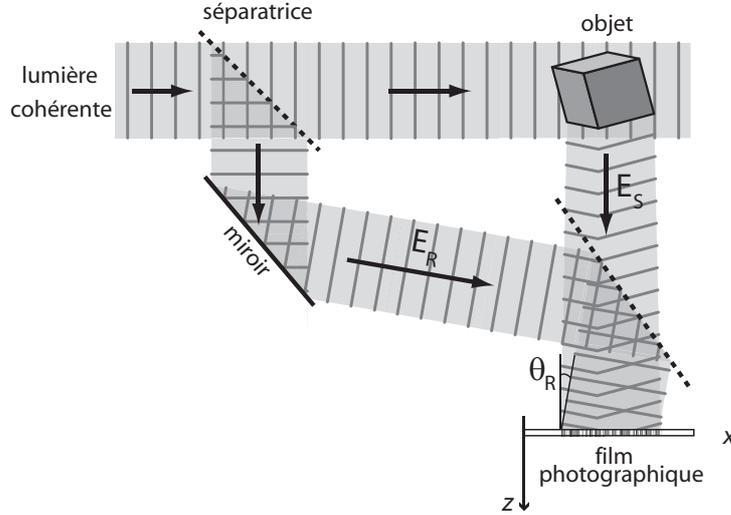


FIG. IV.3 – Dispositif d'enregistrement hors l'axe d'un hologramme.

Dans l'espace de Fourier, on peut définir une condition angulaire simple de séparation des trois ordres de diffractions. Lors de l'enregistrement, l'onde de référence est une onde plane et inclinée de façon à ce que son vecteur d'onde soit égal à  $\vec{k}_R = (k_{Rx}, 0, k_{Rz})$ . Cette onde interfère avec l'onde objet dans le plan du film photographique ( $z = 0$ ) et peut s'écrire dans ce plan :

$$E_R(x, y, 0) \propto A_R \cdot \exp(-ik_{Rx}x) \quad (\text{IV.4})$$

avec  $k_{Rx} = -k_R \sin(\theta_R)$  sa pulsation spatiale suivant l'axe  $x$  (Fig.IV.3), correspondant à une fréquence spatiale  $u_{Rx} = k_{Rx}/2\pi$ .

A la lecture de l'hologramme, l'onde de référence est une onde plane se propageant dans la direction moyenne de propagation de l'onde signal et peut s'écrire au terme propagatif près :

$$E_R(x, y, z) \propto A_R \quad (\text{IV.5})$$

En insérant les expressions IV.4 et IV.5 dans l'eq.IV.3, l'onde diffractée par l'hologramme devient :

$$\begin{aligned} E_H(x, y, z) \propto & A_R(E_S(x, y, 0) \cdot E_S^*(x, y, 0) + A_R^2) \\ & + A_R^2 \cdot E_S(x, y, 0) \cdot \exp(+ik_{Rx}x) \\ & + A_R^2 \cdot E_S^*(x, y, 0) \cdot \exp(-ik_{Rx}x) \end{aligned} \quad (\text{IV.6})$$

### Espace virtuel et espace de Fourier

La décomposition en fréquences spatiales  $\tilde{E}(u_x, u_y, z)$  du champ  $E(x, y, z)$  se propageant suivant l'axe  $z$  est obtenue par transformation de Fou-

rier [104] du champ suivant les variables  $x$  et  $y$  :

$$\tilde{E}(k_x, k_y, z) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} E(x, y, z) \cdot \exp(-i2\pi(u_x x + u_y y)) \, dx \, dy \quad (\text{IV.7})$$

où  $\vec{u} = (u_x, u_y, u_z)$  est le vecteur des fréquences spatiales et est lié au vecteur d'onde de propagation du champ  $\vec{k} = (k_x, k_y, k_z)$  par la relation  $\vec{u} = \vec{k}/2\pi$ . Le champ  $E(x, y, z)$  représente alors le coefficient associé à la décomposition du champ  $\tilde{E}(u_x, u_y, z)$  sur la fonction périodique  $\exp(-i2\pi(u_x x + u_y y))$  dans l'espace des fréquences spatiales. Le champ  $\tilde{E}(u_x, u_y, z)$  est aussi appelé spectre du champ  $E(x, y, z)$ . Cette décomposition est locale au plan  $z$  considéré.

De la même manière, grâce à la transformée de Fourier inverse, le champ  $E(x, y, z)$  peut être décomposé sur la fonction périodique  $\exp(i2\pi(u_x x + u_y y))$  avec  $\tilde{E}(u_x, u_y, z)$  comme coefficient associé :

$$E(x, y, z) = \frac{1}{4\pi^2} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{E}(u_x, u_y, z) \cdot \exp(i2\pi(u_x x + u_y y)) \, du_x \, du_y \quad (\text{IV.8})$$

Grâce à ces transformations, pour un plan  $z$  donné, le champ  $E(x, y, z)$  peut être décrit dans l'espace virtuel de propagation  $(x, y)$  ou dans l'espace des fréquences spatiales  $(u_x, u_y)$  aussi appelé espace de Fourier.

Le spectre du champ holographique est obtenu par transformation de Fourier :

$$\begin{aligned} \tilde{E}_H(u_x, u_y, 0) \quad \propto \quad & A_R(\tilde{E}_S(u_x, u_y, 0) * \tilde{E}_S^*(u_x, u_y, 0) + A_R^2 \cdot \delta(u_x, u_y)) & \text{ordre } 0 \\ & + A_R^2 \cdot \tilde{E}_S(u_x, u_y, 0) * \delta(u_x - u_{Rx}, u_y) & \text{ordre } +1 \\ & + A_R^2 \cdot \tilde{E}_S^*(u_x, u_y, 0) * \delta(u_x + u_{Rx}, u_y) & \text{ordre } -1 \end{aligned} \quad (\text{IV.9})$$

où  $*$  et  $\delta$  sont respectivement le produit de convolution et la fonction de dirac à deux dimensions. Les trois termes correspondent aux trois ordres diffractés par l'hologramme :

- L'ordre 0 est centré en  $(0, 0)$  dans l'espace de Fourier et correspond à la partie du champ holographique non déviée par rapport à la direction du faisceau de référence qui éclaire l'hologramme.
- L'ordre +1 est centré en  $(u_{Rx}, 0)$ . Il est proportionnel au champ signal et permet donc la reconstruction de l'objet réel.
- L'ordre -1 est centré en  $(-u_{Rx}, 0)$ .

Par définition, la décomposition du champ signal dans l'espace des fréquences est symétrique et limitée par une fréquence de coupure  $u_S$  liée notamment à la taille des éléments photosensibles (molécules pour les films photographiques ou pixels pour les ca-

méras). Par définition du produit de convolution, le terme  $\tilde{E}_S(u_x, u_y, 0) * \tilde{E}_S^*(u_x, u_y, 0)$  est limité par une fréquence de coupure  $2u_S$ .

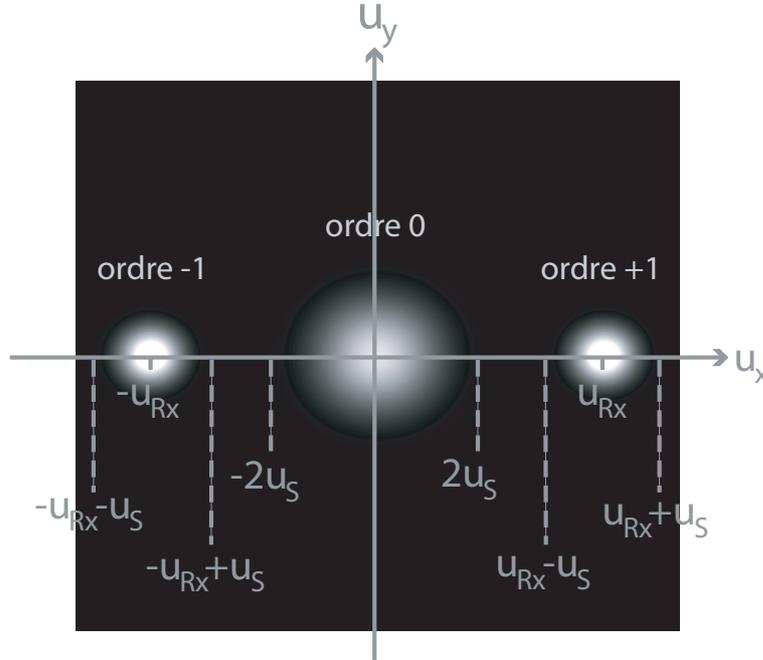


FIG. IV.4 – Représentation de  $\tilde{E}_H(u_x, u_y, 0)$  hors axe dans l'espace des fréquences spatiales.

La Fig.IV.4 illustre la décomposition dans l'espace des fréquences de  $E_H(x, y, z)$  quand l'hologramme a été enregistré dans une configuration hors axe. Il apparaît clairement que l'onde de référence doit faire un angle  $\theta_R$  grand avec l'onde signal pour que le décalage en fréquence spatiale soit grand et que la séparation physique des différents ordre de diffraction soit possible. Ainsi, pour séparer ces trois ordres, il faut que, à l'enregistrement de l'hologramme, la fréquence spatiale de l'onde de référence vérifie la condition :

$$|u_{Rx}| > 3\Delta u_S \quad (\text{IV.10})$$

Pour les petits angles, on fait les approximations suivantes :  $\sin(\theta_R) = \frac{k_{Rx}}{k} = \frac{u_{Rx}}{u} \approx \theta_R$  et  $\sin(\theta_S) = \frac{k_{Sx}}{k} = \frac{u_{Sx}}{u} \approx \theta_S$ , avec  $2\theta_S$  l'angle au sommet du cône angulaire dans lequel est émis le champ signal  $E_S(x, y, z)$  autour de la direction de propagation  $z$ . On obtient alors la valeur minimale de l'angle  $\theta_R$  qui sépare la direction de propagation de la référence et la direction moyenne de propagation du signal :

$$|\theta_R| > 3\theta_S \quad (\text{IV.11})$$

Ainsi, pour une référence plane suffisamment inclinée, on obtient, grâce à l'holographie hors axe, une image virtuelle de l'objet sans aucun recouvrement avec les autres ondes issues de la relecture de l'hologramme. Cependant, comme nous le verrons dans la sous section sur l'holographie numérique (Sec.IV.2), ce type d'holographie implique d'utiliser un support d'enregistrement ayant une très bonne résolution dans la direction d'inclinaison de la référence.

#### IV.1.4 Conclusion sur l'holographie analogique

Tout au long de la Sec.IV.1, nous avons montré les capacités de l'holographie analogique pour l'enregistrement et la visualisation d'objets en 3D. Nous avons mis en avant la configuration hors axe du dispositif expérimental qui permet d'isoler le front d'onde reconstruit correspondant à l'objet des deux autres ondes diffractées par l'hologramme lors de la relecture par l'onde de référence.

En holographie analogique le support d'enregistrement de l'hologramme est un film photographique qui est constitué de fins cristaux photosensibles à base d'argent, dispersés dans un gel. La finesse de ces cristaux permet d'avoir une haute résolution lors de l'enregistrement de l'hologramme, ce qui permet une reconstruction de l'image virtuelle de l'objet en haute résolution en augmentant la fréquence de coupure. Néanmoins, ce type de support impose la contrainte expérimentale de devoir développer le film par différents procédés chimiques.

Afin de se libérer de cette contrainte expérimentale, ralentissant la cadence d'analyse des images, un nouveau type de support a été proposé : une matrice de pixels. Certes, la résolution de ce type de support est nettement moins bonne, puisque la taille d'un pixel est grande devant celle d'un grain d'argent, mais elle apporte d'autres avantages comme nous allons le montrer dans la Sec.IV.2.

## IV.2 Holographie numérique

On parle d'holographie numérique dès que l'on introduit des procédés numériques dans l'enregistrement et/ou la lecture de l'hologramme. Dès 1967, J.W. Goodman et R.W. Laurence numérisent des hologrammes enregistrés sur plaque photographique pour reconstruire numériquement l'objet [105]. L'holographie numérique prend son essor à partir de 1994, quand U. Schnars et W. Jüptner remplacent le film photographique, jusqu'alors utilisé comme support d'enregistrement, par une caméra CCD (charge coupled device) [100].

Autrement dit, l'holographie "numérique" diffère de l'holographie "analogique" telle que décrite dans la sous-section précédente par les supports d'enregistrement utilisés et par la mise en oeuvre du procédé de restitution de l'image de l'objet étudié. La restitution des informations de phase et d'amplitude de l'objet est assurée par la simulation numérique de la diffraction de l'onde de référence sur la matrice "hologramme numérique".

Comme en holographie analogique, il est possible d'enregistrer un hologramme numérique dans l'axe ou hors axe. Quel que soit l'angle  $\theta$  entre les ondes objet et référence au niveau du capteur, deux configurations sont envisageables : La configuration de Fresnel, où la distance séparant l'objet et le support d'enregistrement est finie, qui est la plus répandue pour l'enregistrement de motifs interférentiels [75, 106] ; ou bien, la configuration de Fraunhofer, où cette distance est rendue infinie grâce à une lentille qui collimate le faisceau diffracté par l'objet [107]. Dans cette dernière configuration, l'hologramme est appelé "hologramme de Fourier" puisqu'une simple transformée de Fourier de la transmittance permet de reconstruire le champ objet.

Par ailleurs, lors de l'enregistrement dans la configuration de Fresnel, la reconstruction du champ objet se fait par une simulation numérique issue de l'intégrale de diffraction de Fresnel-Kirchhoff [108]. Cette reconstruction peut être basée : soit sur la transformée de Fresnel discrète qui impose des contraintes en terme de bande passante spatiale sur la distance de reconstruction (le pas d'échantillonnage du champ objet reconstruit dépend de la distance de reconstruction) ; soit sur un algorithme de convolution qui présente l'avantage de rendre le pas d'échantillonnage dans le plan image identique au pas des pixels, c.à.d. indépendant de la distance de reconstruction.

Enfin, en vue de supprimer, lors de la reconstruction, les ordres parasites (0 et -1) et de ne conserver que l'ordre permettant la reconstruction de l'objet virtuel (+1), Yamaguchi propose en 1997 d'appliquer les techniques de démodulation de franges par décalage de phase à l'hologramme numérique [109]. L'idée est que, l'hologramme étant une composition interférométrique à deux ondes, il est possible d'extraire l'ordre utile par application d'un décalage de phase à l'onde de référence. Cette technique est comparable à la détection synchrone multiplexée présentée Sec.II.2.

Nous allons d'abord analyser l'effet de la discrétisation du support d'enregistrement sur l'hologramme et sa restitution. Puis, nous expliquons le principe d'enregistrement et de restitution d'un hologramme enregistré sur un support numérique. Enfin, nous présenterons deux techniques permettant de supprimer les ordres de diffraction parasites (0 et -1) en holographie numérique

#### IV.2.1 Effet de la discrétisation du support d'enregistrement

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'holographie numérique prend ses origines dans les années 1970, et devient réellement accessible à partir des années 1990.

Comme nous l'avons déjà souligné, le principal avantage des supports numériques est l'acquisition rapide d'une image sans avoir à passer par un développement chimique, ce qui représente un gain de temps considérable. Un autre avantage est que ces supports sont réutilisables une fois les données stockées. Néanmoins, les matrices de pixels utilisées comme support d'enregistrement offrent une moins bonne résolution que les supports analogiques.

La procédure qui consiste à enregistrer un hologramme numérique est semblable à celle de l'holographie classique (Fig.IV.1) : l'objet diffracte une onde qui interfère avec une onde de référence dans le plan d'enregistrement. Seul le support photosensible analogique est remplacé par un capteur numérique composé de pixels utilisant l'effet photoélectrique. En holographie numérique, non seulement l'hologramme enregistré se trouve discrétisé spatialement, mais le support numérique intègre, dans le temps et dans l'espace, le flux de lumière reçue.

Quelle que soit la technologie utilisée, le support numérique d'enregistrement comporte, respectivement aux directions  $x$  et  $y$  du plan d'enregistrement,  $N \times M$  pixels de pas  $p_x \times p_y$  et de dimension  $\Delta_x \times \Delta_y$ , comme illustré Fig.IV.5 [110].

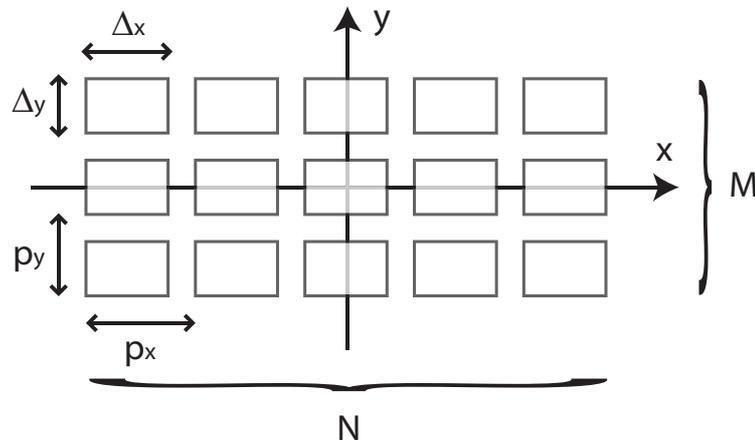


FIG. IV.5 – Représentation de la matrice de pixels et de ses différents paramètres.

Du fait de l'extension spatiale des pixels, l'hologramme en un point  $(x, y, 0) = (kp_x, lp_y, 0)$  du plan d'enregistrement peut s'écrire [111] :

$$\begin{aligned}
 I_{pix}(kp_x, lp_y, 0) &= \int_{kp_x - \Delta_x/2}^{kp_x + \Delta_x/2} \int_{kp_y - \Delta_y/2}^{kp_y + \Delta_y/2} I(kp_x, lp_y, 0) dx dy \\
 &= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} I(x, y, 0) \cdot \Pi_{\Delta_x, \Delta_y}(x - kp_x, y - lp_y) dx dy
 \end{aligned} \tag{IV.12}$$

avec la fonction porte à deux dimensions correspondant à l'extension spatiale d'un pixel :

$$\Pi_{\Delta_x, \Delta_y}(x, y) = \begin{cases} 1/(\Delta_x \Delta_y) & \text{si } |x| \leq \Delta_x/2 \text{ et } |y| \leq \Delta_y/2 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \tag{IV.13}$$

La fonction porte étant paire, le motif d'interférences enregistré par un pixel situé aux coordonnées  $(kp_x, lp_y, 0)$  est mathématiquement représenté par un produit de convolution de l'hologramme analogique par la fonction porte d'un pixel :

$$I_{pix}(kp_x, lp_y, 0) = [I(kp_x, lp_y, 0) * \Pi_{\Delta_x, \Delta_y}(kp_x, lp_y)](kp_x, lp_y) \tag{IV.14}$$

L'hologramme numérique enregistré comme une image est une juxtaposition, selon les deux dimensions, de toutes les surfaces d'intégrations correspondant aux différents pixels. Cette image est mathématiquement représentée par la relation suivante :

$$I_{num}(x, y, 0) = \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{M-1} I_{pix}(kp_x, lp_y, 0) \delta(x - kp_x, y - lp_y) \quad (\text{IV.15})$$

La fonction porte due à l'extension spatiale des pixels a donc un effet de lissage, c.à.d. de filtrage passe-bas sur l'hologramme brut. Ainsi, l'enregistrement d'un hologramme numérique peut être qualifié d'enregistrement "basse résolution" par opposition à l'enregistrement sur un support analogique de type plaque argentique qui est qualifié de "haute résolution".

*Remarque : L'effet de filtrage passe bas de la discrétisation du support d'enregistrement ayant été mis en avant et en vue de simplifier les notations, l'hologramme numérique enregistré  $I_{num}(x, y, 0)$  sera noté par la suite simplement  $I(x, y, 0)$ .*

## IV.2.2 Principe d'enregistrement et de lecture de l'hologramme

Comme nous l'avons dit précédemment, le dispositif d'enregistrement d'un hologramme numérique est similaire à celui utilisé en holographie analogique (Fig.IV.1) : Le champ signal  $E_S$ , diffusé par l'objet, interfère avec l'onde de référence  $E_R$  ; Le diagramme d'interférence entre les deux ondes  $I(x, y, 0)$  est enregistré par un détecteur électronique matriciel comme une caméra CCD. L'image numérique en trois dimensions de l'objet est reconstruite par propagation numérique de la lumière à travers l'hologramme par le biais de transformations de Fourier (méthode de convolution standard [75, 110, 112, 113] permettant d'obtenir un pas d'échantillonnage de l'image reconstruite indépendant de la distance de reconstruction) qui permettent de simuler la diffraction de l'onde de référence incidente par l'hologramme.

À l'aide d'un ordinateur, l'image reconstruite  $I(x, y, z)$  est calculée à partir de l'hologramme enregistré  $I(x, y, 0)$  dans le plan  $z = 0$  du détecteur suivant la méthode de convolution standard [46, 114].

L'hologramme dans l'espace des fréquences spatiales en  $z = 0$  est obtenu par transformation de Fourier :

$$\tilde{I}(k_x, k_y, 0) = TF[I(x, y, 0)] \quad (\text{IV.16})$$

Il est aisé de calculer l'hologramme dans l'espace de Fourier à une distance  $z$  de la caméra CCD en multipliant l'hologramme en  $z = 0$  (plan du détecteur) par un terme propagatif :

$$\tilde{I}(k_x, k_y, z) = \tilde{I}(k_x, k_y, 0) \cdot \exp\left(i \frac{k_x^2 + k_y^2}{k} z\right) \quad (\text{IV.17})$$

où  $k = 2\pi/\lambda$  est le vecteur d'onde et  $\lambda$  la longueur d'onde de la source lumineuse. Le terme  $\exp(i(k_x^2 + k_y^2)z/k)$  décrit la propagation lumineuse du plan  $z = 0$  à un plan  $z$  quelconque : Il correspond à l'équivalent numérique de l'onde de référence.

L'image reconstruite, correspondant à l'hologramme propagé jusqu'au plan de l'objet, est alors obtenue par transformation de Fourier inverse :

$$I(x, y, z) = TF^{-1}[\tilde{I}(k_x, k_y, z)] \quad (IV.18)$$

On obtient ainsi la reconstruction de l'objet dans un plan  $z$  donné. Un schéma de cette procédure est représenté Fig.IV.6.

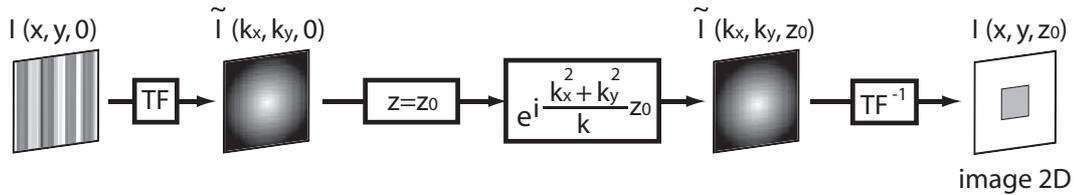


FIG. IV.6 – Reconstruction du champ objet à une distance  $z = z_0$  à partir d'un hologramme numérique enregistré en  $z = 0$ .

Pour avoir une image en trois dimensions à partir d'un hologramme, on peut répéter ce procédé de reconstruction pour tous les plans contenant l'objet (de  $z_i$  à  $z_f$  avec un pas  $\Delta z$ ) comme illustré Fig.IV.7. Quelle que soit la configuration d'enregistrement, l'image à deux dimensions reconstruite contient les trois ordres de diffractions. Pour une distance de reconstruction  $z_0$  appropriée, il est possible de reconstruire le plan de l'objet virtuel (ordre +1) de manière nette. Dans ce cas l'objet réel (ordre -1), symétrique de l'objet virtuel par rapport au plan de l'hologramme, est "flou". Ainsi, pour ce  $z_0$ , l'ordre +1 "net" est parasité par les ordres -1 et 0.

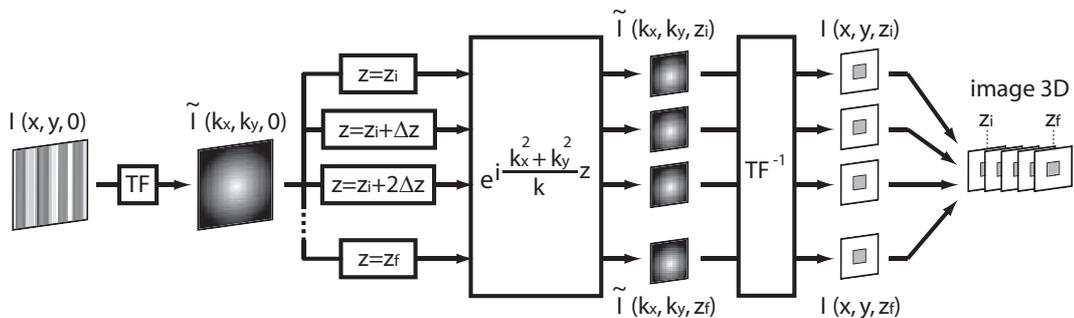


FIG. IV.7 – Reconstruction d'une image 3D à partir d'un hologramme numérique.

*Remarque : La méthode de convolution standard présentée ici offre l'avantage, contrairement à la transformée de Fresnel, de conserver un pas d'échantillonnage de l'image reconstruite identique à celui de l'image acquise puisque, par définition de la transformée de Fourier, le pas d'échantillonnage est inchangées lors de deux transformées de Fourier successives.*

### IV.2.3 Suppression des ordres de diffraction parasites

Nous présentons ici deux techniques permettant de supprimer les ordres -1 et 0 de l'image reconstruite en holographie. La première consiste à enregistrer l'hologramme dans une configuration hors axe puis effectuer un filtrage spatial dans l'espace de Fourier. Pour la deuxième technique qui est basée sur une démodulation des franges d'interférences, il est nécessaire de décaler la phase de l'onde de référence par rapport à celle du signal.

#### IV.2.3.1 Holographie numérique hors axe et filtrage spatial

Considérons une acquisition de l'hologramme  $I(x, y, 0)$  dans une configuration de Fresnel hors axe (cas le plus fréquent). Pour améliorer la qualité de l'image finale, nous voulons ne reconstruire que l'onde objet, c.à.d. ne conserver que l'ordre +1 de diffraction. Pour cela, on commence le processus de reconstruction par la méthode de convolution standard en effectuant une première transformée de Fourier afin d'obtenir l'hologramme  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  dans l'espace des fréquences spatiales. Grâce à l'enregistrement dans une configuration hors axe, les trois ordres de diffractions ne sont pas concentriques. Il est alors possible de ne conserver que l'ordre +1 de diffraction et de filtrer les ordres 0 et -1 dans l'espace des fréquences spatiales suivant deux méthodes :

- En utilisant un masque numérique comme l'ont proposé Cuche *et al.* [115], on obtient un hologramme filtré  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)$  par une simple multiplication dans l'espace de Fourier de l'hologramme  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  par le masque  $M(k_x, k_y)$ , valant 0 en tout point de l'espace des fréquences spatiales sauf dans la zone où se situe l'ordre +1 (voir FigIV.8) :

$$\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0) = \tilde{I}(k_x, k_y, 0) \cdot M(k_x, k_y) \quad (\text{IV.19})$$

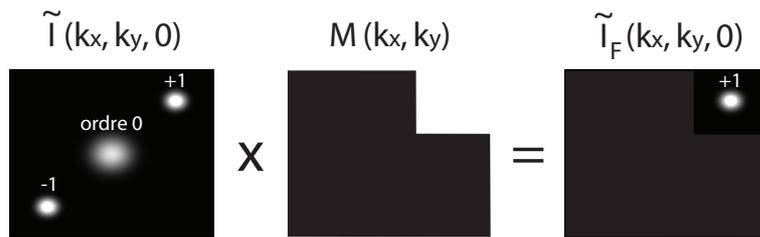


FIG. IV.8 – Filtrage spatiale des ordres 0 et -1 de l'hologramme par un masque numérique dans l'espace de Fourier.

- On peut obtenir l'hologramme filtré  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)$  en extrayant de l'hologramme de Fourier  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  la zone d'intérêt contenant l'ordre +1 par une sélection de pixels. En général, pour éviter une perte de définition de l'image (voir *zéro padding*), lorsqu'on extrait une zone d'intérêt pour le filtrage dans l'espace de

Fourier, la zone sélectionnée est placée dans une matrice de zéro de même dimension que l'image enregistrée. Lorsque l'on place la zone d'intérêt au centre de l'espace de Fourier, la position de l'objet dans l'image reconstruite filtrée en fonction de la distance de reconstruction implémentée varie peu. Pour supprimer totalement cette dépendance en position de l'objet reconstruit en fonction de la distance de reconstruction, il suffit d'ajouter un terme de phase à  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)$  dans l'espace de Fourier compensant le terme de phase dû à la différence d'inclinaison ( $\theta$ ) des ondes objet et de référence au niveau du capteur.

Ensuite, pour obtenir l'image reconstruite filtrée  $I(x, y, z)$  en un plan  $z$  donné, l'hologramme filtré  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)$  subit la fin du processus de reconstruction décrit Sec.IV.2.2 : la propagation numérique dans l'espace de Fourier (eq.IV.17) se fait en multipliant  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)$  par le terme propagatif  $\exp(i(k_x^2 + k_y^2)z/k)$  pour obtenir l'hologramme filtré propagé  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, z)$  dans l'espace de Fourier ; L'image  $I_F(x, y, z)$  dans le plan objet filtrée, ne contenant que l'ordre +1 de diffraction, est alors obtenue par une transformation de Fourier inverse afin revenir dans l'espace réel (eq.IV.18).

*Remarque : Ces procédés de filtrage dans l'espace de Fourier peuvent aussi bien s'effectuer avant (c.à.d. sur  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$ ) ou après (c.à.d. sur  $\tilde{I}(k_x, k_y, z)$ ) la propagation sur une distance  $z$  obtenue par multiplication par le terme de propagation  $\exp(i(k_x^2 + k_y^2)z/k)$ .*

### Effet du zéro padding

Le *zéro padding* consiste à modifier le nombre totale de pixels de l'image en ajoutant des pixels fictifs de valeur nulle, ceci ayant pour effet de modifier la définition de l'image.

En effet, lors de l'enregistrement, le pas des pixels de l'image  $I(x, y, 0)$  ( $N \times M$  pixels) d'une région de dimensions  $X \times Y$  est :

$$\begin{aligned} \Delta X &= X/N \quad \text{suivant } x \\ \Delta Y &= Y/M \quad \text{suivant } y \end{aligned} \quad (\text{IV.20})$$

Après un *zéro padding* dans l'espace de Fourier, la matrice  $\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)$  contient  $L \times K$  pixels. On effectue ensuite la propagation ( $\tilde{I}_F(k_x, k_y, z)$ ) dans l'espace de Fourier et le retour dans l'espace réel ( $I_F(x, y, z)$ ) par le biais d'une transformée de Fourier inverse. Dans le plan reconstruit, la zone imagée a des dimensions identiques à celle de l'image acquise ( $X \times Y$ ) mais elle est discrétisée sur un nombre de pixels différent ( $L \times K$  pixels). Ainsi le nouveau pas des pixels est :

$$\begin{aligned} \Delta X_{zp} &= X/L \quad \text{suivant } x \\ \Delta Y_{zp} &= Y/K \quad \text{suivant } y \end{aligned} \quad (\text{IV.21})$$

En général, on choisit  $(L, K) > (N, M)$  pour améliorer la définition de l'image. Néanmoins, comme le *zéro padding* n'apporte pas d'information supplémentaire, la résolution intrinsèque, imposée par le dispositif imageur via le nombre de pixels du détecteur et leur taille, reste inchangée.

Un exemple de l'intérêt d'augmenter la définition est illustré sur la Fig.IV.9 [116, 117] qui montre l'image d'une pièce de 2 euros reconstruite avec un nombre de points variable (512, 1024, 2048 et 4096).

Lorsque  $K = L = 512$ , on effectue une forte troncature de l'hologramme puisque le nombre de points conservés est très inférieur à la matrice initiale ( $1360 \times 1024$ ). Dans ce cas la résolution diminue et l'image reconstruite semble avoir un moins bon rapport signal à bruit en raison de l'effet de *binning* [118]. Lorsque  $K = L = 1024$ , le nombre de points conservés est à peu près égal à celui fourni par le capteur (1024 contre 1360 suivant  $x$ ) donc l'échantillonnage de l'image correspond à la résolution intrinsèque donnée par la matrice de pixels d'enregistrement : l'image est "pixelisée". Pour  $K = L = 2048$ , le *zéro padding* est effectif et le pas d'échantillonnage du plan image est deux fois plus petit que la résolution ce qui permet de mettre en évidence la texture fine de l'image. Pour  $K = L = 4096$ , le pas d'échantillonnage du plan image est maintenant quatre fois plus petit que la résolution. La définition du plan image en est d'autant meilleure mais sa granularité ne varie pas puisqu'elle est imposée par les dimensions du capteur et son nombre de pixels.

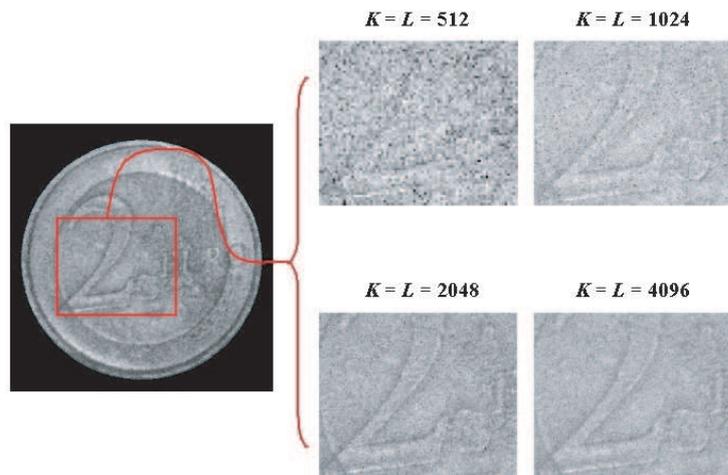


FIG. IV.9 – Effet du *zéro padding* : Image d'une pièce de 2 euros reconstruite avec un nombre de points variable (512, 1024, 2048 et 4096).

#### IV.2.3.2 Décalage de phase de la référence, Détection hétérodyne

Pour ne conserver que l'ordre de diffraction permettant de reconstruire l'objet virtuel (+1), il est nécessaire de pouvoir le discriminer des ordres parasites -1 et 0. Dans la Sec.IV.2.3.1, nous avons vu que l'ordre +1 se différencie des ordres parasites par sa position dans l'espace des fréquences spatiales lorsque l'enregistrement de l'hologramme est effectué dans une configuration hors axe. Ensuite, un simple filtrage dans l'espace de Fourier permet de supprimer les ordres de diffraction parasites et d'obte-

nir uniquement l'ordre de diffraction d'intérêt dans le plan reconstruit ce qui améliore grandement la qualité de l'image finale. Ce filtrage dans l'espace des fréquences spatiales est possible uniquement dans le cas d'un enregistrement de l'hologramme dans une configuration hors axe qui présente l'inconvénient de réduire l'interfrange de la figure d'interférence dans le plan du capteur. Pour l'holographie numérique où le détecteur est discrétisé, cela correspond à une perte d'information par le biais d'une perte de résolution des franges.

Pour éviter cette perte de résolution, un procédé physique ayant un effet variable suivant l'ordre de diffraction est envisageable en vue de discriminer les ordres de diffraction et de ne conserver que l'ordre +1. Ainsi, en 1997, Yamaguchi propose d'appliquer les techniques de démodulation de franges par décalage de phase à l'hologramme numérique [109]. L'idée est que, l'hologramme résultant d'une interférence à deux ondes, il est possible d'extraire l'ordre utile par application d'un décalage de phase à l'onde de référence.

D'un point de vue pratique, ce type de filtrage par démodulation de phase des franges d'interférence est réalisable aussi bien dans une configuration dans l'axe que hors axe.

La phase de l'onde de référence s'écrivant  $\exp(i(\omega t - kz))$ , on peut choisir de moduler soit la pulsation  $\omega$  soit le chemin optique  $z$ . Pour chacun de ces types de modulation de phase de la référence, nous présentons un dispositif de réalisation de la modulation fréquemment utilisé et la théorie associée :

- La solution historiquement la plus courante est de moduler le chemin optique  $z$ . Cette technique consiste à placer un miroir monté sur un transducteur piézoélectrique sur le trajet de l'onde de référence (Fig.IV.10).

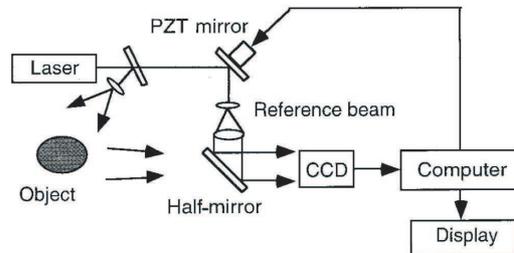


FIG. IV.10 – Montage d'holographie à décalage de phase utilisant un miroir monté sur une platine piézoélectrique (PZT) [111].

Un champ électrique sinusoïdal dans le temps est appliqué au matériau qui se déforme alors et déplace le miroir. Ainsi, le chemin optique parcouru par l'onde de référence, et donc la phase de cette onde, varie au cours du temps :  $\exp(-ik\Delta z(t))$  avec  $\Delta z(t) = \alpha \cos(\omega_{mod}t)$ .

L'onde de référence s'écrit alors :

$$\begin{aligned} E_{Rmod} &= A_R \cdot \exp(i(\omega t - k \cdot (z + \Delta z(t)))) \\ &= A_R \cdot \exp(i(\omega t - k \cdot z - k \cdot \alpha \cos(\omega_{mod}t))) \end{aligned} \quad (IV.22)$$

avec  $\alpha$ , l'amplitude de la modulation,  $\omega_{mod}$ , la pulsation de modulation,  $\omega$ , la pulsation du laser, et  $k$ , le vecteur d'onde de la référence. Pour avoir un déphasage balayant les valeurs de 0 à  $2\pi$ , l'amplitude de modulation  $\alpha$  de la platine piézo-électrique doit être de l'ordre de la longueur d'onde ( $\alpha \approx \lambda$ ). Quant à la pulsation de modulation, elle est de quelques Hz.

En considérant le développement en série de Bessel  $\exp(iz \cos \phi) = \sum_{n=-\infty}^{+\infty} i^n J_n(z) \cdot \exp(in\phi)$  à l'ordre 1 ( $n = 1$ ), l'onde de référence devient :

$$E_{Rmod} = A_R \cdot J_1(-k \cdot \alpha) \cdot \exp(i((\omega + \omega_{mod})t - kz + \pi/2)) \quad (IV.23)$$

- Une autre solution pour moduler la phase de la référence, plus récemment développée [101,119], consiste à moduler la pulsation optique  $\omega$  de l'onde de référence à l'aide d'un modulateur acousto-optique (MAO).

Le fonctionnement d'un MAO, ou cellule de Bragg, est basé sur l'effet acousto-optique qui permet de diffracter et de changer la fréquence de l'onde incidente par le biais d'une onde ultra sonore se propageant dans un cristal. Le schéma d'un MAO est représenté Fig.IV.11 [120] : Une céramique piézoélectrique collée sur un cristal vibre sous l'effet d'un signal électrique sinusoïdal appliqué. Elle génère ainsi une onde acoustique progressive de pulsation  $\omega_{mod}$  dans le cristal. On peut alors se représenter le cristal comme un ensemble de plans de dilatation et de compression perpendiculaires à la direction de propagation de l'onde. Ces plans se déplacent périodiquement et forment un réseau d'indice de réfraction épais, comparable à un réseau de Bragg [121] en mouvement.

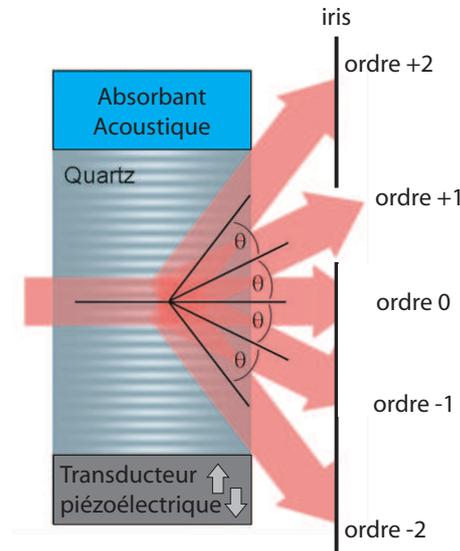


FIG. IV.11 – Représentation d'un modulateur acousto-optique.

Les faisceaux diffractés d'ordre  $m$  sortent du MAO avec un angle  $\theta$  qui dépend du rapport de la longueur d'onde de la lumière  $\lambda$  sur la longueur d'onde du son

$\Lambda$  [122] :

$$\sin \theta = \left( \frac{m\lambda}{2\Lambda} \right) \quad (\text{IV.24})$$

Par ailleurs, en raison de la variation de position des plans d'indice au cours du temps, la pulsation lumineuse du faisceau diffracté d'ordre  $m$  est translaté d'une pulsation  $m\omega_{mod}$  par effet Doppler [123] :

$$\omega \rightarrow \omega + m\omega_{mod} \quad (\text{IV.25})$$

Suivant le type de MAO, la valeur de la pulsation  $\omega_{mod}$  varie de quelques dizaines de MHz à plusieurs centaines de MHz.

En pratique, à l'aide d'un iris, on sélectionne l'ordre  $+1$  diffracté par le MAO comme nouvelle onde de référence. L'onde de référence s'écrit alors de manière comparable au résultat obtenu pour une modulation du chemin optique IV.23 :

$$E_{Rmod} = A_R \cdot \exp(i((\omega + \omega_{mod})t - kz)) \quad (\text{IV.26})$$

Une fois la phase de la référence modulée, soit par le chemin optique, soit par la pulsation, pour former l'hologramme, l'onde signal  $E_S \simeq A_S \exp(i\omega t)$  et l'onde de référence  $E_{Rmod} \simeq A_R \cdot \exp(i((\omega + \omega_{mod})t))$  interfèrent et l'intensité lumineuse résultante est :

$$\begin{aligned} I &= (E_S + E_R)(E_S + E_R)^* \\ &= I_S + I_R \quad \text{ordre 0} \\ &\quad + A_S \cdot A_R^* \cdot \exp(-i\omega_{mod}t) \quad \text{ordre +1} \\ &\quad + A_S^* \cdot A_R \cdot \exp(i\omega_{mod}t) \quad \text{ordre -1} \end{aligned} \quad (\text{IV.27})$$

Ainsi, en modulant la phase de la référence, il est possible de moduler de manière différente la phase des trois ordres de diffraction et donc de les discriminer.

Pour annuler les ordres de diffraction parasites -1 et 0 de l'hologramme et ne conserver que l'ordre  $+1$  grâce à une démodulation des franges par décalage de phase [109,114], il faut enregistrer un nombre pair  $M$  d'hologrammes pour des décalages de phase de la référence  $\omega_{mod}t$  différents, c.à.d. à des instants différents. Plus précisément, il est nécessaire que l'onde de référence soit décalée d'une phase  $\omega_{mod}t = \frac{\pi}{2}$  entre deux images consécutives et donc que la pulsation de la caméra soit quatre fois plus élevée que celle du décalage de phase :  $\omega_{mod} = \omega_{camera}/4$ . Avec ces conditions d'acquisitions, on obtient une série de  $M$  images d'indice  $m = 0$  à  $M - 1$  définies ainsi :

$$\begin{aligned} I_m &= I_S + I_R \\ &\quad + A_S \cdot A_R^* \cdot \exp(-im\frac{\pi}{2}) \\ &\quad + A_S^* \cdot A_R \cdot \exp(im\frac{\pi}{2}) \end{aligned} \quad (\text{IV.28})$$

Soit :

$$\begin{aligned} I_m &= I_S + I_R \\ &\quad + A_S \cdot A_R^* \cdot (-i)^m \\ &\quad + A_S^* \cdot A_R \cdot i^m \end{aligned} \quad (\text{IV.29})$$

Dans le cas d'une modulation du chemin optique par le déplacement d'un miroir,  $\omega_{mod}$  est de l'ordre de quelques Hertz. Il est donc possible d'acquérir les images à l'aide d'une caméra à la fréquence  $\omega_{camera} = 4\omega_{mod}$ . Par contre, dans le cas de la pulsation optique par un MAO,  $\omega_{mod}$  varie de quelques dizaines à quelques centaines de MHz. Les caméras les plus rapides ne permettant pas d'acquisition avec une pulsation au delà de quelques dizaines de Hertz, il n'est pas envisageable d'effectuer une acquisition caméra à une pulsation quatre fois plus élevée que la fréquence de modulation. On choisit alors de faire une détection hétérodyne, c.à.d. de transporter l'énergie du spectre vers les basses fréquences ( $\Delta\omega/2\pi$ ) avant de la détecter. Pour cela, la pulsation optique du faisceau signal est également translatée à l'aide d'un MAO d'une pulsation  $\omega_{mod} + \Delta\omega$  (FigIV.12). Dans le plan du détecteur, on observe donc un battement de la figure d'interférences à la pulsation  $\Delta\omega$ . En choisissant une fréquence de modulation des franges d'interférences  $\Delta\omega$  de quelques Hertz, il est alors possible d'acquérir les images tel que  $\omega_{camera} = 4\Delta\omega$ .

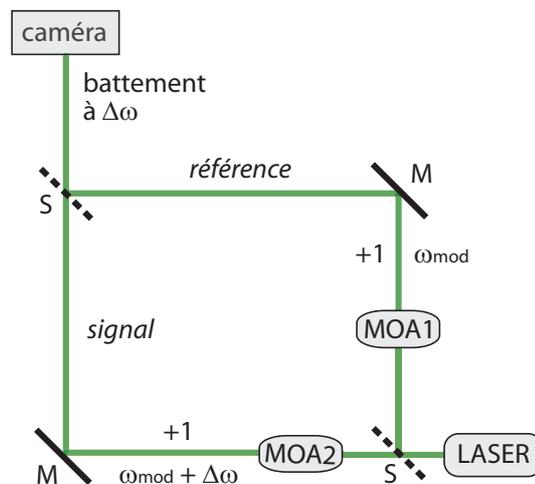


FIG. IV.12 – Montage de détection holographique hétérodyne. M : miroir, S : séparatrice

Pour obtenir l'hologramme ne contenant que l'ordre +1 de diffraction, les  $M$  images  $I_m$  sont sommées en attribuant à chacune un décalage de phase  $\Delta\phi_m = m\frac{\pi}{2}$  suivant

la méthode de la détection synchrone multiplexée (voir Eq.II.49) :

$$\begin{aligned}
 I &= \sum_{m=0}^{M-1} i^m \cdot I_m \\
 &= \sum_{m=0}^{M-1} i^m (I_S + I_R) && \text{ordre 0} \\
 &+ \sum_{m=0}^{M-1} (+1)^m \cdot A_S \cdot A_R^* && \text{ordre +1} \\
 &+ \sum_{m=0}^{M-1} (-1)^m \cdot A_S^* \cdot A_R && \text{ordre -1}
 \end{aligned} \tag{IV.30}$$

Ainsi, comme le nombre d'images acquises  $M$  est pair, le premier et le troisième terme, correspondant respectivement aux ordres de diffractions 0 et -1, s'annulent lors de la somme permettant le calcul de l'hologramme  $I$ .

Pour obtenir l'image dans un plan  $z$  quelconque, l'hologramme démodulé, ne contenant que l'ordre +1, est soumis au procédé de reconstruction par la méthode de convolution standard décrite Sec.IV.2.2 par les équations IV.16 à IV.18 :  $I$  est soumis à une transformation de Fourier, puis multiplié par un terme de phase propagatif, et enfin soumis à une transformée de Fourier inverse pour obtenir le plan reconstruit dans l'espace réel.

### IV.2.3.3 Bruit des deux techniques et conclusion

Nous avons présenté deux techniques (filtrage spatial dans une géométrie hors axe et décalage en phase) permettant de supprimer les ordres de diffractions indésirables lors de la reconstruction d'un hologramme numérique. En pratique, ces deux techniques présentent des défauts :

- Le filtrage spatial en holographie hors axe ne permet pas de supprimer la totalité des ondes diffractées d'ordre 0 et -1. En effet, dans l'espace de Fourier, les différents ordres de diffraction sont centrés en différentes position et ont une extension spatiale infinie car, en pratique, l'onde de référence n'est pas parfaitement plane. Après le filtrage spatiale, il persiste une faible partie de l'ordre -1 et une partie relativement importante de l'ordre 0.
- Pour l'holographie décalée en phase ou filtrage temporel, la moindre variation de phase non désirée lors de l'acquisition, pouvant être provoquée par une vibration du dispositif expérimental par exemple, rend le calcul de l'eq.IV.30 moins efficace. Le premier et le troisième terme correspondant respectivement aux ordres de diffraction 0 et -1 ne sont plus parfaitement nuls.

Comme nous l'avons montré dans [114], la solution optimale est de combiner le filtrage spatial et le filtrage temporel. D'une part, le décalage en phase permet de réduire de manière très significative l'amplitude des ordres 0 et -1 ; et, d'autre part, le filtrage spatial permet d'annuler complètement les ordres 0 et -1 dans les régions de l'espace de Fourier où leurs amplitudes sont maximales.

En vue d'optimiser la qualité des images reconstruites, pour nos expériences, nous avons choisi un montage combinant les deux techniques de filtrage dans l'espace et dans le temps. Nous appelons ce dispositif "holographie numérique hétérodyne hors axe".

#### IV.2.4 Conclusion sur l'holographie numérique

Dans cette section, nous avons présenté l'holographie numérique en montrant que la discrétisation du support d'enregistrement entraîne une perte de résolution par intégration spatiale du signal équivalente à un filtrage passe bas. En holographie numérique, le principe d'enregistrement d'un hologramme est le même qu'en holographie classique, seule la reconstruction de l'objet virtuel diffère. Pour reconstruire le plan image, nous avons présenté en détail la méthode de convolution standard. Cette méthode offre la possibilité de visualiser l'objet virtuel en volume par reconstruction de plans images adjacents (matrices) et assemblage de ces matrices en un cube de données contenant l'objet en trois dimensions. Enfin, nous avons montré comment supprimer les ordres de diffraction parasites lors de la reconstruction du plan image de deux manières différentes : La première technique est basée sur un filtrage spatial dans l'espace de Fourier alors que la deuxième consiste à décaler physiquement la phase de l'onde de référence en vue de créer un battement de l'hologramme dans le plan du détecteur et d'effectuer une démodulation des franges d'interférences à l'aide de la méthode de détection synchrone multiplexée.

### IV.3 Conclusion

Dans ce chapitre, dans un premier temps, dans le cadre de l'holographie analogique, nous avons détaillé les principes d'enregistrement et de reconstruction d'un hologramme basés sur l'interférométrie et la diffraction de la lumière. Nous avons montré que ces procédés donnaient la possibilité d'enregistrer et de restituer en volume les informations lumineuses concernant l'objet imagé. Par la suite, nous avons exposé la technique d'enregistrement de l'hologramme hors axe permettant de séparer physiquement les trois ordres de diffraction produits lors de la reconstruction de l'objet virtuelle.

Dans une deuxième partie, nous avons introduit l'holographie numérique permettant une fréquence d'acquisition bien plus élevée que l'holographie analogique. Nous avons ensuite exposé le principe de restitution de l'hologramme par la méthode de convolution standard basée sur une propagation numérique de la lumière dans l'espace de Fourier par la multiplication de l'hologramme par un terme de phase. Enfin, en vue de filtrer les ordres de diffraction parasites (-1 et 0), nous avons détaillé deux techniques : l'une basée sur le filtrage spatial de l'ordre +1 dans l'espace de Fourier combiné à un enregistrement de l'hologramme numérique hors axe ; l'autre permettant de moduler la figure d'interférence dans le plan du capteur par décalage de phase de l'onde

de référence et d'effectuer ainsi une détection hétérodyne. Nous sommes arrivés à la conclusion que, pour supprimer au mieux les ordres de diffraction parasites, la solution la plus efficace est de combiné les deux techniques de filtrage spatial et de détection hétérodyne.



---

## Chapitre V

# Imagerie 3D de nanoparticules d'or par holographie numérique

---

### Sommaire

---

V.1	Imagerie 3D de nanoparticules en holographie numérique hétéro- dyne hors axe . . . . .	118
V.1.1	Schéma et principe de l'instrument . . . . .	119
V.1.2	Etude de la reconstruction d'une image . . . . .	122
V.1.3	Etude du diagramme de diffusion en volume d'une particule de 200 nm . . . . .	127
V.1.4	Performances du dispositif . . . . .	129
V.1.5	Conclusion sur l'holographie hétérodyne hors axe . . . . .	135
V.2	Imagerie holographique photothermique 3D de nano-particules . . .	137
V.2.1	Effet photothermique . . . . .	138
V.2.2	Dispositif expérimental d'holographie numérique photother- mique . . . . .	140
V.2.3	Imagerie 3D de nanoparticules d'or de 50 nm . . . . .	142
V.2.4	Performances du dispositif . . . . .	151
V.2.5	Conclusion sur l'holographie photothermique . . . . .	153
V.3	Conclusion . . . . .	153

---

Nous choisissons maintenant de développer un instrument permettant basé sur le principe de l'holographie afin de faire de l'imagerie rapide en trois dimensions d'échantillons de nanoparticules.

Par ailleurs, différentes techniques de détection interférométriques de nano objets [27,37–40,44] ont vue le jour récemment, tirant avantage en terme de rapport signal à bruit (RSB) des interférences entre la lumière diffusée par les particules et la lumière incidente, sont apparues. En effet, en interférométrie le signal détecté par le capteur est proportionnel au champ diffusé par la particule (variant en  $d^3$ ), alors qu'il est proportionnel à son intensité (variant en  $d^6$ ) en en microscopie conventionnelle. Ainsi, pour les techniques interférométriques, le signal est proportionnel au volume de la particule et non plus à son volume au carré.

Généralement, les dispositifs interférométriques sont combinés à des systèmes de perturbations de phase engendrées par une modulation spatiale [34,124] ou photothermique [36]. Grâce aux interférences, ces perturbations de phase sont traduites en variation d'intensité. L'interférométrie n'utilisant qu'un seul faisceau incident, fréquemment usitée, a été suggéré pour la première fois par Batchelder et Taubenblatt [125] et peut être réalisée aussi bien dans une configuration en réflexion qu'en transmission. Ce type de dispositif contraint à l'utilisation d'un détecteur unique qui balaye point à point l'échantillon. Le bruit temporel de la lumière incidente est alors converti en bruit spatial dans l'image [44]. Pour éviter ce problème nous proposons une détection interférométrique plein champ.

Après avoir développé la théorie sur l'holographie hétérodyne hors axe dans le chapitre précédent, nous montrons ici son application dans le cadre de la détection de nanoparticules d'or. Ainsi, nous présentons le dispositif expérimental, nous analysons les images en volume obtenues et nous définissons les avantages et les limites de cette technique. Comme l'imagerie photothermique hétérodyne (IPH) présente une grande sensibilité et une très bonne sélectivité vis à vis des particules d'or, dans une seconde section, nous nous proposons de coupler cette technique avec l'holographie hétérodyne hors axe pour faire de l'imagerie ultra sensible et sélective en volume de nanoparticules. Pour cela, nous introduisons l'effet photothermique puis nous présentons le dispositif expérimental d'holographie photothermique. Ensuite, nous comparons les caractéristiques d'images en volume de particules de 50 nm acquises en holographie photothermique et non photothermique. Enfin nous évaluons les performances de ce dispositif en le comparant à l'IPH.

## V.1 Imagerie 3D de nanoparticules en holographie numérique hétérodyne hors axe

Dans cette section, nous appliquons les principes d'holographie numérique hétérodyne hors axe, développés au chapitre précédent, à la détection en volume de nanoparticules d'or. En vue d'intégrer le dispositif d'holographie hétérodyne hors axe dans un microscope pour permettre une visualisation directe des échantillons, nous avons choisi une configuration d'enregistrement holographique de Fresnel [75,106] plutôt que de Fraunhofer [107] car celle-ci ne nécessite pas de modification interne du microscope. Pour optimiser la sensibilité et la précision de l'holographie, nous avons choisi de faire

de l'holographie hétérodyne hors axe qui permet une suppression efficace des ordres de diffraction parasites [46, 126], comme nous l'avons vu à la Sec.IV.2.3. Pour avoir un pas d'échantillonnage, dans le plan reconstruit, indépendant de la distance de reconstruction nous avons choisi de reconstruire nos images par la méthode de convolution standard plutôt que la transformée de Fresnel.

Nous présentons d'abord le dispositif expérimental de manière détaillée, puis un hologramme de particules de 200 nm est reconstruit pas à pas dans plusieurs plans. Le diagramme de diffusion en trois dimensions de la particule ainsi obtenu est analysé. Enfin, les performances du dispositif d'holographie numérique hétérodyne hors axe sont évaluées, d'une part en mettant en avant ses avantages par rapport à la microscopie classique et d'autre part en déterminant ses limites en terme de sensibilité.

### V.1.1 Schéma et principe de l'instrument

Nous voulons imager des distributions de particules d'or. L'échantillon étudié est constitué d'une fine couche de nanoparticules d'or (de 50 à 200 nm de diamètre) immobilisées dans une matrice d'alcool polyvinyle (PVA) étalée par spin coating sur une lame de verre de même nature que ceux utilisé Chap.III (voir description détaillée Annexe V.3).

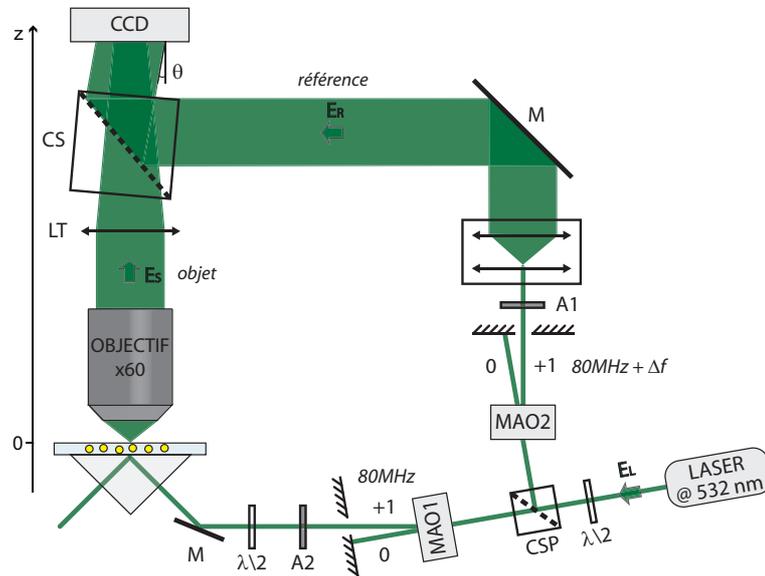


FIG. V.1 – Dispositif expérimental d'holographie numérique hétérodyne hors axe. CSP : cube séparateur de polarisation ; MAO : modulateur acousto-optique ; A1, A2 : atténuateurs ; M : miroir ; LT : lentille de tube ; CS : cube séparateur.

### V.1.1.1 Ajustement en puissance des ondes signal et de référence

Pour former un interféromètre de Mach Zehnder [127] avec une répartition de puissance contrôlable entre les bras référence (champ  $E_R$ ) et objet (champ  $E_S$ ), le faisceau laser principal  $E_L$  est polarisé linéairement suivant un axe ajustable par une lame demi-onde ( $\lambda/2$ ), puis divisé en deux par un cube séparateur de polarisation (CSP). L'orientation de la polarisation de  $E_L$  permet donc d'ajuster la répartition de puissance entre les faisceaux référence et objet, présentant alors des polarisations perpendiculaires. Pour pouvoir interférer, ces deux polarisations sont ensuite rendues colinéaires à l'aide d'une seconde lame  $\lambda/2$  insérée dans le bras objet. Les atténuateurs A1 et A2 placés dans chaque bras permettent un contrôle supplémentaire de la puissance optique de chaque faisceau.

### V.1.1.2 Holographie

Le dispositif expérimental, présenté Fig.V.1, est constitué d'un système d'holographie numérique utilisant une illumination laser de 50 mW à  $\lambda = 532$  nm intégré dans un microscope optique. Nous choisissons une configuration d'enregistrement de Fresnel, où la distance séparant l'objet et le support d'enregistrement est finie, car elle s'adapte bien à l'intégration du dispositif d'holographie dans un microscope.

Comme pour tout montage d'holographie, les ondes signal et référence interfèrent dans le plan de l'élément photosensible. Ici, le capteur utilisé est une caméra CCD (Charge Coupled Device, PCO pixelfly QE camera,  $1392 \times 1024$  pixels carrés de  $6,7 \mu\text{m}$  de côté) qui acquiert les images à la fréquence  $f_{CCD} = 12$  Hz.

Avant d'atteindre la camera, le faisceau de référence (champ  $E_R$ ) est élargi par un étendeur de faisceau pour former une onde plane qui couvre la totalité de la surface du capteur de manière homogène.

L'échantillon est illuminé dans une configuration de réflexion totale interne (RTI) [24] pour éviter de collecter la lumière directe et obtenir ainsi une image de type fond noir : Un champ évanescent est présent à la surface de l'échantillon couplé au prisme de réflexion totale interne par une huile d'indice afin d'assurer une bonne transmission de la lumière à l'interface. La présence de particules dans le PVA perturbe la RTI à l'interface PVA-air ce qui engendre une conversion du champ évanescent en onde progressive (champ  $E_S$ ). Cette onde objet est alors collectée par un objectif de microscope (grandissement  $\times 60$ , ON=0,9, air) puis envoyée vers la caméra CCD pour interférer avec l'onde de référence.

*Remarque : Le dispositif d'illumination en réflexion totale interne utilisant un prisme n'avait pas été implémenté sur l'instrument basé sur une modulation spatiale de l'échantillon pour des raisons techniques de matériel manquant, l'illumination en lumière guidée utilisant le même principe.*

### V.1.1.3 Configuration hors axe et filtrage spatial dans l'espace de Fourier

Le dispositif d'holographie utilisé présente une configuration hors axe. En effet, les directions principales de propagation des champs objet  $E_S$  et référence  $E_R$  forment un angle  $\theta \approx 1^\circ$  dans le plan du détecteur matriciel où ils interfèrent. Comme nous l'avons vu Sec.IV.2.3.1, ce type de configuration permet un filtrage spatial des ordres de diffraction parasites dans l'espace de Fourier lors de la reconstruction.

### V.1.1.4 Modulation de la figure d'interférence et détection synchrone multiplexée

Afin de moduler la figure d'interférence dans le plan du capteur et faire une détection hétérodyne du signal, la fréquence optique des deux faisceaux est décalée autour de 80 MHz par deux modulateurs acousto-optiques (MAO1 et MAO2) pilotés par deux générateurs radio fréquences (RF) fournissant des ondes sinusoïdales de fréquences respectives  $f_{MAO1} = 80 \text{ MHz}$  et  $f_{MAO2} = 80 \text{ MHz} + \Delta f$ . Ces deux générateurs RF ont une horloge commune pour éviter les dérives de phases entre les deux MAO. En effet, de telles dérives diminueraient grandement l'efficacité de l'annulation des signaux parasites permise par la détection hétérodyne [119].

Pour effectuer la démodulation de l'hologramme présentée Sec.IV.2.3.2, la caméra acquiert quatre images par période de modulation de la figure d'interférences. Ainsi, la fréquence d'acquisition de la caméra étant  $f_{CDD} = 12 \text{ Hz}$ , le décalage relatif des fréquences optiques des ondes signal et référence est  $\Delta f = f_{CDD}/4 = 3 \text{ Hz}$ .

Cette technique utilisant une détection synchrone multiplexée, encore appelée détection 4 phases, permet d'annuler tous les signaux parasites ne variant pas à la fréquence de modulation, et notamment les composantes continues du bruit dues aux inhomogénéités d'illumination (interférences dans les optiques du microscope) et aux défauts de la caméra (pixels défectueux, par exemple).

### V.1.1.5 Utilité de la défocalisation de l'onde signal

En pratique, l'onde signal est défocalisée : l'hologramme est enregistré hors du plan de l'objet à imager de façon à étaler le signal correspondant à un objet sur un grand nombre de pixels. Ainsi, on s'affranchit d'une partie du bruit technique lié à la caméra (pixels défectueux, par exemple). De plus, comme la quantité de signal par pixel est plus faible, l'amplitude de l'onde de référence peut être augmentée pour que l'intensité lumineuse totale  $I$  arrivant sur la caméra atteigne une valeur légèrement en dessous de la limite de saturation.

L'intensité lumineuse enregistrée par la caméra, décrite en Sec.IV.1.1, est :

$$I = \underbrace{(I_S + I_R)}_{\text{ordre 0}} + \underbrace{(E_S \cdot E_R^*)}_{\text{ordre +1}} + \underbrace{(E_S^* \cdot E_R)}_{\text{ordre -1}} \quad (\text{V.1})$$

Le champ signal  $E_S$ , contenu dans le terme objet (ordre +1), est multiplié par le facteur  $E_R^*$  qui correspond alors à un facteur d'amplification du signal. Ainsi, en défocalisant l'objet à imager, il est possible d'augmenter l'amplitude de l'onde de référence pour utiliser toute la dynamique de la caméra et par là-même d'accroître le gain holographique  $E_R^*$ .

### V.1.2 Etude de la reconstruction d'une image

Nous avons acquis  $N$  images  $I_m$  sur  $N/4$  périodes de battement de l'hologramme. Comme nous l'avons vu Sec.IV.2.3.2, pour démoduler cet hologramme, il suffit de sommer les images en leur affectant un coefficient de phase approprié (Eq.IV.30) :

$$I(x, y, 0) = \sum_{m=0}^{N-1} i^m I_m \quad (\text{V.2})$$

Un hologramme démodulé de particules de 200 nm de diamètre est représenté Fig.V.2 pour  $N = 128$ . Pour cette mesure, les particules sont en dehors du plan focal du microscope et l'intensité lumineuse provenant d'une particule est étalée sur un grand nombre de pixels (anneaux de diffraction).

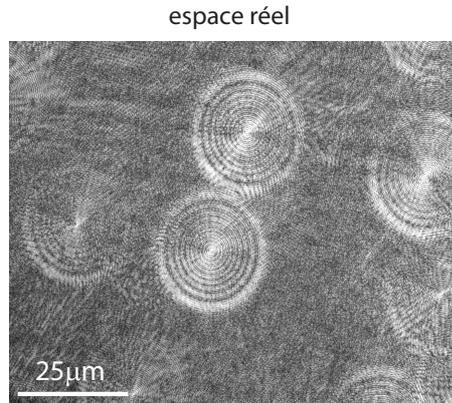


FIG. V.2 – Hologramme hétérodyne démodulé dans l'espace réel enregistré hors du plan des particules ( $|I(x, y, 0)|^2$ ) représenté en intensité (échelle logarithmique).

Une fois démodulé, l'hologramme est reconstruit à l'aide de la méthode de convolution standard que nous avons exposée Sec.IV.2.2. Contrairement à la transformée de Fresnel, cette technique de reconstruction permet d'obtenir un pas d'échantillonnage spatial indépendant de la distance de reconstruction dans le plan reconstruit.

La méthode de convolution standard consiste à simuler la propagation de la lumière dans l'espace de Fourier. Pour cela, l'hologramme dans l'espace des fréquences spatiales  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  est calculé numériquement à l'aide d'une transformée de Fourier

discrète à deux dimensions. Comme l'hologramme est enregistré dans une configuration hors axe, les résidus des ordres de diffraction parasites subsistant après la démodulation sont supprimés par filtrage spatial. Nous obtenons ainsi un hologramme de Fourier filtré  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  à partir duquel la lumière est propagée numériquement dans l'espace de Fourier jusqu'à la distance de reconstruction  $z$  désirée. Pour ce faire, chaque pixel de l'hologramme filtré  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  est multiplié par le terme de phase :

$$\exp\left(i\frac{k_x^2 + k_y^2}{k}z\right) \quad (\text{V.3})$$

Ce terme de phase est calculé pour chacune des valeurs pertinentes de  $k_x$  et  $k_y$  (pour  $z$  et  $k$  donnés) et correspond donc à une matrice à deux dimensions de mêmes dimensions que  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$ . Enfin, l'image reconstruite dans l'espace réel  $I(x, y, z)$  est obtenue en effectuant une transformée de Fourier discrète inverse à deux dimensions de l'hologramme propagé filtré  $\tilde{I}(k_x, k_y, z)$ .

Dans cette sous section, nous détaillons les étapes du procédé de reconstruction en les étayant par des résultats expérimentaux.

### V.1.2.1 Analyse de l'image dans l'espace de Fourier

L'hologramme en intensité dans l'espace de Fourier  $|\tilde{I}(k_x, k_y, 0)|^2$  est représenté Fig.V.3 en échelle logarithmique.

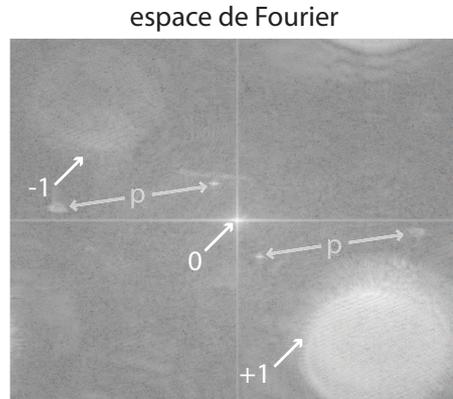


FIG. V.3 – Transformée de Fourier 2D de l'hologramme ( $|\tilde{I}(k_x, k_y, 0)|^2$ ) représentée en intensité suivant une échelle logarithmique arbitraire. Les flèches -1, 0 et 1 désignent les différents ordres de diffraction contenus dans l'hologramme démodulé..

Comme l'onde de référence  $E_R$  est plane et parallèle au plan du détecteur, sa transformée de Fourier (ordre 0), située au centre de l'espace des fréquences spatiales en  $(k_x, k_y) \approx (0, 0)$  (flèche 0), se présente sous la forme d'une tâche peu étendue. L'hologramme ayant été enregistré dans une configuration hors axe, les ordres +1 (flèche

+1) et -1 (flèche -1) sont décentrés et leur position peut être ajustée en modifiant l'angle  $\theta$  entre les faisceaux objet et référence. Dans la mesure où ces deux ordres de diffraction portent une information spatialement riche, ils sont plus étendus que la référence. Ils présentent une symétrie circulaire dont l'extension spatiale correspond au cône de vecteurs d'onde que de l'objectif de microscope, d'ouverture numérique donnée, est capable de collecter.

En théorie (Sec.IV.2.3.2), après la démodulation, les ordres de diffraction parasites 0 et -1 sont nuls et seul l'ordre +1 est non nul ce qui permet de ne reconstruire que l'objet virtuel, améliorant ainsi la qualité de l'image finale. Cependant, comme on peut le voir Fig.V.3, les ordres 0 ( $(I_S + I_R)$ , flèche 0) et -1 ( $(E_S^*.E_R)$ , flèche -1) persistent. Cela est dû aux très légères mouvements du dispositif expérimental ou de l'échantillon et aux variations aléatoires d'intensité d'émission de la source laser. La variation d'intensité de la source lumineuse se répercute aussi bien sur le bras référence que sur le bras objet. En raison de la faiblesse de l'intensité lumineuse diffusée par des nanoparticules et de l'ajustement du gain holographique par le biais de l'intensité de la référence, dans le plan du détecteur, l'onde de référence a une intensité bien plus élevée que celle du signal. Ainsi, les variations d'amplitude de la référence sont plus grandes que celles du signal, ce qui explique d'une part que l'intensité résiduelle  $|E_R|^2$  (ordre 0) soit nettement plus importante que celle de l'ordre -1 ( $(E_S^*.E_R)$ ) et d'autre part que le terme  $|E_S|^2$ , qui devrait apparaître sous la forme d'un disque centré dans l'espace de Fourier, ne soit pas visible. La quasi absence de ce terme direct est d'ailleurs une bonne illustration du fort gain permis par l'amplification interférométrique. Enfin, grâce à la détection hétérodyne et à la démodulation de l'hologramme, l'ordre +1 ( $(E_S.E_R^*)$ , flèche +1), signal pertinent permettant la reconstruction de l'image virtuelle, est très intense comparé l'ordre -1.

Sur la Fig.V.3, on observe également un signal parasite en croix sur les axes  $k_x = 0$  et  $k_y = 0$ . Ce signal parasite dans l'espace de Fourier est dû en partie aux dimensions finies du capteur qui engendrent un fenêtrage spatial du signal : La matrice CCD ne capte les ondes signal et référence que sur une partie restreinte de l'espace. Soient  $\text{Int}(x, y)$  et  $\text{Int}_{fen}(x, y)$  l'intensité de la lumière dans tout l'espace et celle reçue par le capteur. Dans l'espace réel, la relation qui lie ces deux quantités est :

$$\text{Int}_{fen}(x, y) = \text{Int}(x, y) \cdot \text{Fen}(x, y); \quad (\text{V.4})$$

où la fonction  $\text{Fen}(x, y)$  vaut 1 sur la surface du capteur et est nulle ailleurs. Elle définit les dimensions du capteur de longueur  $L_x$  et de largeur  $L_y$  :

$$\text{Fen}(x, y) = \Pi_{\frac{L_x}{2}, \frac{L_y}{2}}(x, y) \quad (\text{V.5})$$

Ainsi, dans l'espace de Fourier, l'intensité lumineuse fenêtrée  $\tilde{\text{Int}}_{fen}(k_x, k_y) = TF[\text{Int}_{fen}(x, y)]$  est :

$$\tilde{\text{Int}}_{fen}(k_x, k_y) = \tilde{\text{Int}}(k_x, k_y) \otimes \tilde{\text{Fen}}(k_x, k_y) \quad (\text{V.6})$$

où  $\otimes$  est le produit de convolution et la fenêtre spatiale dans l'espace de Fourier  $\tilde{\text{Fen}}(k_x, k_y)$  est définie par :

$$\tilde{\text{Fen}}(k_x, k_y) = L_x L_y \text{sin}_c(\pi k_x L_x) \text{sin}_c(\pi k_y L_y) \quad (\text{V.7})$$

L'allure de la transformée de Fourier de la fenêtre est représenté Fig.V.4. L'effet du fenêtrage spatial dû aux dimensions finies du capteur se traduit par un signal en croix, plus intense au centre, suivant les axes  $k_x = 0$  et  $k_y = 0$  dans l'espace de Fourier.

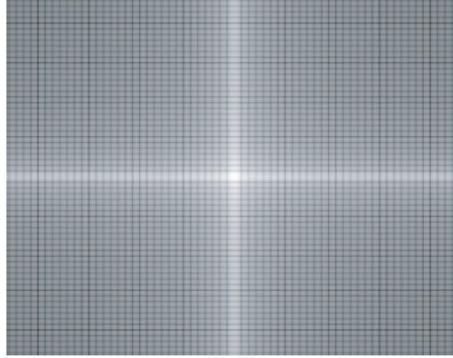


FIG. V.4 – Effet du fenêtrage spatial lié aux dimensions du capteur dans l'espace de Fourier (échelle logarithmique).

Le signal parasite en croix dépend donc des dimensions du capteur mais aussi du bruit de lecture pixel à pixel. Suivant les mesures, l'intensité relative de ce signal parasite varie par rapport à celle des trois ordres diffractés par l'hologramme. Par conséquent, il apparaît plus ou moins intense d'une mesure à l'autre.

Enfin, nous remarquons la présence de signaux parasites dans les deuxième et quatrième quadrants de l'image Fig.V.3 (flèches p). Ceux-ci sont liés à la présence de franges parasites dans l'hologramme  $I(x, y, 0)$ , fréquent en imagerie cohérente lorsque se produisent des réflexions parasites dans le dispositif expérimental.

### V.1.2.2 Filtrage spatial et *zero padding*

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que, malgré la détection hétérodyne et la démodulation, des signaux parasites, tels que des résidus de la référence (0) et de l'image réelle (-1), ainsi que les réflexions parasites dans le montage et le signal "en croix", persistent. Néanmoins, comme nous allons le voir dans cette section, la contribution de ces signaux parasites bien localisés dans l'espace de Fourier peut être grandement diminuée grâce à un filtrage spatial.

En vue de sélectionner l'image virtuelle du 1<sup>er</sup> ordre et de supprimer totalement les ordres -1 et 0, l'hologramme  $\tilde{I}(k_x, k_y, 0)$  est filtré spatialement dans l'espace de Fourier, comme nous l'avons expliqué Sec.IV.2.3.1. Ainsi, dans la matrice  $1392 \times 1024$  de l'espace des fréquences spatiales  $|\tilde{I}(k_x, k_y, z = |^2$ , une région d'intérêt centrée sur

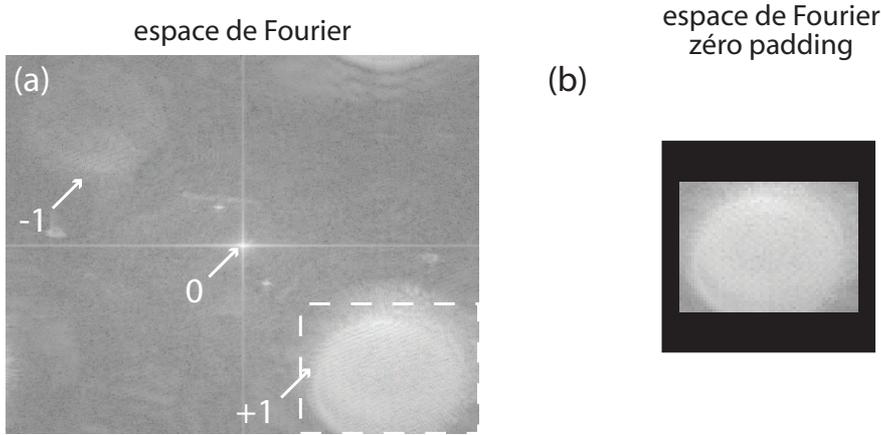


FIG. V.5 – Transformée de Fourier 2D de l'hologramme ( $|\tilde{I}(k_x, k_y, 0)|^2$ ) représentée en échelle logarithmique (a). Filtrage spatial de la zone encadrée en (a) et *zero padding* dans l'espace des fréquences spatiales ( $|\tilde{I}_F(k_x, k_y, 0)|^2$ ) (b).

l'ordre +1 (zone encadrée en pointillés Fig.V.5 (a)) est sélectionnée puis copiée au centre d'une matrice nulle  $512 \times 512$  (*zero padding*) comme on peut le voir Fig.V.5 (b). Remarquons que cette sélection est possible grâce à la configuration hors axe qui excentre l'image virtuelle dans l'espace des fréquences spatiales. En pratique, l'intérêt du *zero padding* est de placer la zone sélectionnée dans une matrice dont les dimensions en nombre de pixels sont des puissances de 2, ce qui rend le calcul numérique des transformées de Fourier discrètes beaucoup plus rapide. Dans ce cas précis, le *zero padding* a également pour effet de réduire la résolution de l'image reconstruite puisque le nombre de points de la matrice de *zero padding* est inférieur à celui de la matrice d'acquisition (voir Sec.IV.2.3.1). Pour la détection d'objets sub-longueur d'onde telles que les nanoparticules, cette perte de résolution est peu importante puisque la principale limitation dans l'imagerie de nano-objets est la diffraction optique et non l'échantillonnage par le capteur. Pour éviter cette perte de résolution, il faudrait insérer la zone sélectionnée dans une matrice de *zero padding* de plus grandes dimensions, au prix d'un temps de calcul accru.

Enfin, la translation de l'ordre +1 au centre du domaine des fréquences spatiales permet de placer l'image virtuelle au centre de l'image reconstruite. Malgré le centrage de l'ordre +1 dans l'espace de Fourier, on observe une translation des objets dans l'image reconstruite en fonction de la distance de reconstruction. Il s'agit d'un effet indésirable lié à la configuration d'enregistrement hors axe qui peut être supprimé en multipliant l'hologramme dans l'espace réel, avant reconstruction, par un terme de phase compensant la variation de chemin optique de l'onde signal en fonction de la position sur la matrice de pixels. En effet, l'onde signal est inclinée d'un angle  $\theta$  par rapport à l'onde de référence se propageant suivant l'axe  $z$ . Dans le plan du capteur  $(x, y)$ , l'expression du déphasage de l'onde signal dû à la différence de chemin optique

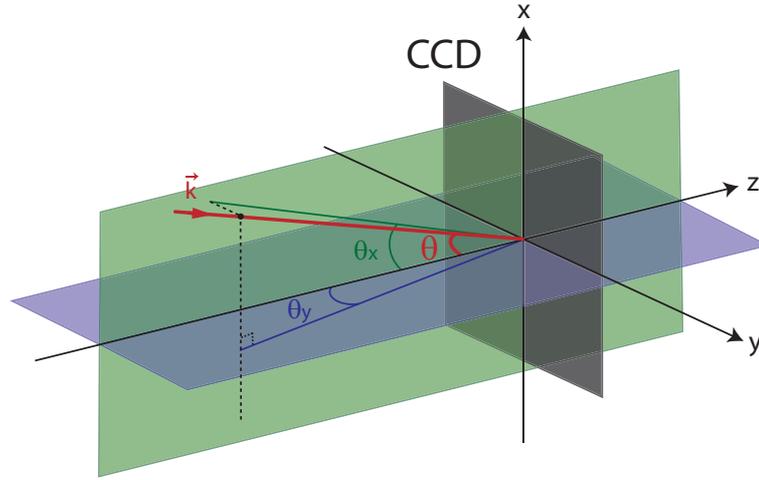


FIG. V.6 – Représentation de l'angle  $\theta$  entre les ondes signal et référence et de ses projections  $\theta_x$  et  $\theta_y$  sur les plans  $(x, z)$  et  $(y, z)$  respectivement.

est :

$$\exp\left(-i\frac{2\pi}{\lambda}[\sin(\theta_x)x + \sin(\theta_y)y]\right) \quad (\text{V.8})$$

où  $\theta_x$  et  $\theta_y$  sont respectivement les angles que forme l'onde signal avec l'axe  $z$  dans les plans  $(x, z)$  et  $(y, z)$  (voir Fig.V.6). Ainsi, en multipliant l'image dans l'espace réelle par le terme de phase opposé  $\exp\left(+i\frac{2\pi}{\lambda}[\sin(\theta_x)x + \sin(\theta_y)y]\right)$ , on compense les variations de chemin optique et, lorsqu'on reconstruit l'image propagée, on n'observe plus de translation des objets dans l'image en fonction de la distance de reconstruction.

*Remarque : Les angles  $\theta_x$  et  $\theta_y$  sont déterminés à l'aide de la formule des interférences  $\sin(\theta_\alpha) = \frac{\lambda}{i_\alpha}$  en mesurant les interfranges  $i_x$  et  $i_y$  de la figure d'interférence (espace réel) suivant les axes  $x$  et  $y$  respectivement.*

### V.1.3 Etude du diagramme de diffusion en volume d'une particule de 200 nm

Comme nous l'avons vu à la fin de la Sec.IV.2.2, pour reconstruire un objet en trois dimensions à partir d'un hologramme numérique, il suffit de reconstruire le plan image pour différentes distances de reconstruction. Nous avons effectué ce processus pour observer le diagramme de diffusion d'une particule de 200 nm en trois dimensions.

Nous présentons d'abord une zone d'intérêt centrée sur une particule 200 nm sélectionnée dans les images reconstruites dans plusieurs plans transverses d'intérêt pour les distances de reconstruction  $z = (-22, -20, -17, -8, 0, 8) \mu\text{m}$  Fig.V.7.

En reconstruisant numériquement les images dans un grand nombre de plans transverses, on peut reconstituer une image en volume du champ diffusé par la particule

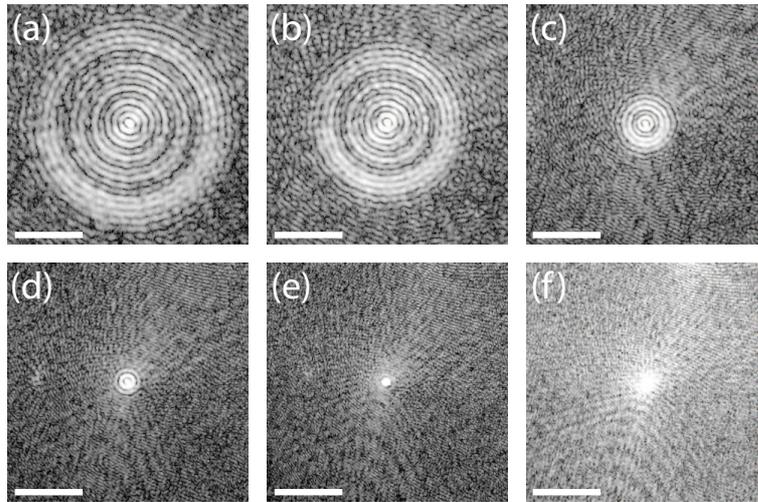


FIG. V.7 – Images reconstruites d'une particule de 200 nm à différentes positions axiales :  $z = -22 \mu\text{m}$  (a),  $z = -20 \mu\text{m}$  (b),  $z = -17 \mu\text{m}$  (c),  $z = -8 \mu\text{m}$  (d),  $z = 0 \mu\text{m}$  (e) et  $z = 8 \mu\text{m}$  (f). Les barres d'échelle correspondent à  $5 \mu\text{m}$ . Les images reconstruites sont représentées en intensité suivant une échelle logarithmique arbitraire.

(Fig.V.8 (a)) à partir de l'acquisition d'un hologramme unique. Nous avons ainsi accès à son diagramme de diffusion en 3 dimensions par l'intermédiaire de coupes longitudinales (Fig.V.8 (b)).

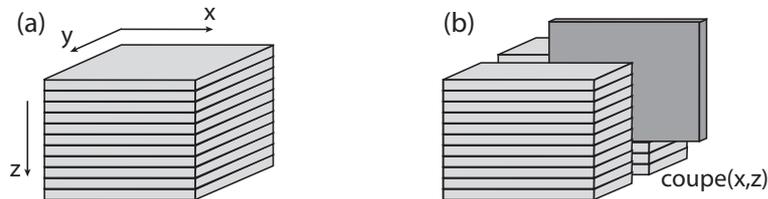


FIG. V.8 – Obtention d'une image en volume à partir de reconstructions dans différents plan transverses (a). Coupe longitudinale de l'image en volume (b)

Le profil et la coupe longitudinale dans le plan de la bille sont extraits de l'image reconstruite en 3 dimensions et sont représentés Fig.V.9.

Nous observons un signal asymétrique suivant  $z$  de largeur à mi-hauteur  $7 \mu\text{m}$  et formant des anneaux dans le plan  $(x, y)$ . De tels anneaux ont été observés dans le cas d'émission de lumière par des *quantum dots* [128,129] via des acquisitions successives. Pour une étude plus quantitative de cet effet, on pourra se référer à [126,130].

Cette figure nous rappelle la PSF du dispositif que nous avons présentée Sec.II.1.3 et dont nous rappelons l'allure Fig.V.10. Cependant, il est important de noter que l'extension axiale de ces deux images n'est pas du tout comparable :  $47 \mu\text{m}$  pour la particule de 200 nm et moins d'un micron pour la PSF.

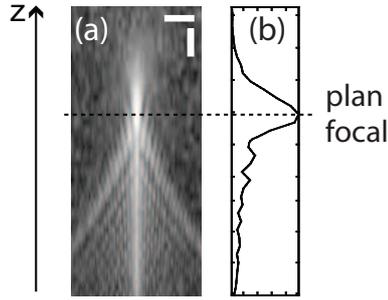


FIG. V.9 – Image reconstruite en intensité dans le plan axial suivant une échelle logarithmique (a). Profil moyenné sur 10 pixels en échelle linéaire (b). La profondeur axiale varie de  $z = -29$  à  $16 \mu\text{m}$  avec un pas axial de  $250 \text{ nm}$ , les barres d'échelle représentant  $5 \mu\text{m}$ .

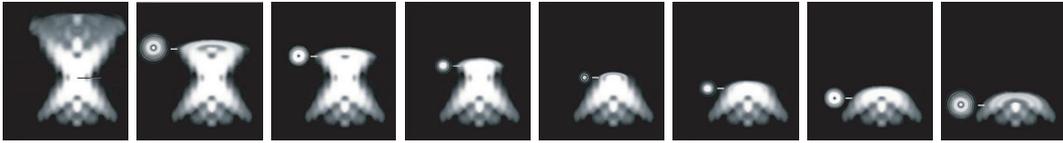


FIG. V.10 – PSF en trois dimensions : Représentation dans le plan  $(x, z)$  avec des coupes dans le plan  $(x, y)$  pour différentes altitudes  $z$  [131].

Si on considère que notre dispositif optique est dépourvu d'aberrations, la coupe axiale d'une particule devrait être symétrique par rapport au plan focal, ce qui n'est pas le cas Fig.V.9. En effet, le demi espace situé sous le plan de focalisation est constitué de PVA et de verre d'indices optiques proches, environ 1,5. Il y a donc continuité d'indice optique sur la profondeur imagée et la coupe axiale de la particule est identique à la réponse axiale du microscope. Par contre, dans le demi espace situé au dessus du plan focal se trouve l'interface entre le PVA et l'air, d'indice optique  $\approx 1$ . Ici, la rupture d'indice optique est forte, ce qui explique que la coupe axiale de l'image de la particule ne soit pas identique à la réponse axiale du microscope.

#### V.1.4 Performances du dispositif

Nous allons montrer expérimentalement l'intérêt de l'hétérodynage et du filtrage spatial que nous avons présenté Sec.IV.2.3.2 et Sec.IV.2.3.1 respectivement. Puis, nous comparons des images de particules de  $200 \text{ nm}$  en holographie et en microscopie classique afin de mettre en avant les apports de la microscopie holographique hétérodyne hors axe. Puis, nous évaluons la limite de sensibilité de ce dispositif en imageant des particules de  $200$ ,  $100$  et  $50 \text{ nm}$ .

V.1.4.1 De l'intérêt de la modulation de la figure d'interférence

Nous allons comparer les résultats obtenus pour des hologrammes enregistrés avec ou sans hétérodynage en vue de montrer expérimentalement l'apport de cette disposition.

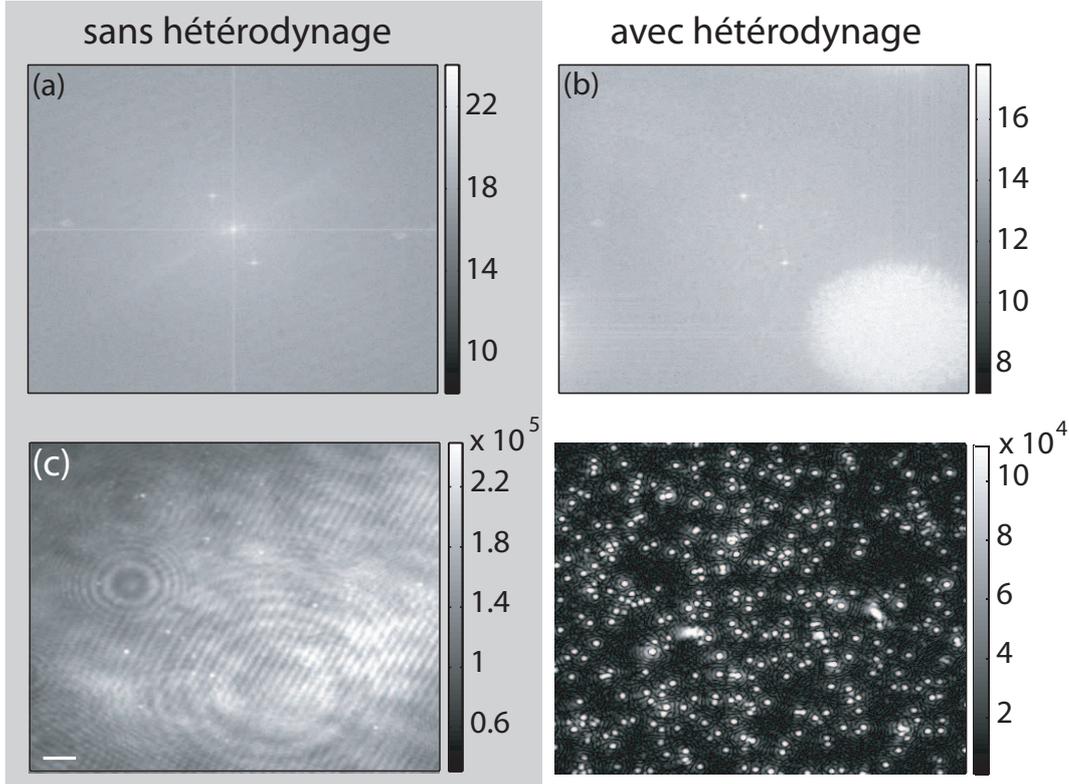


FIG. V.11 – Espaces de Fourier associés aux hologrammes 1-phase (a) et 4-phases (b) représentés en échelle logarithmique. Hologrammes reconstruits 1-phase (c) et 4-phases (d) pour une distance de reconstruction  $z = 0,1 \mu\text{m}$  représentés en échelle linéaire. Les barres d'échelle représentent  $10 \mu\text{m}$ .

Pour les images présentées Fig.V.11, nous avons acquis 128 images  $I_m$  sur 32 périodes de battement de l'hologramme pour un échantillon dense de particules de  $200 \text{ nm}$  lorsque l'échantillon est quasiment dans le plan focal du microscope. A partir de cette pile d'images, nous pouvons calculer deux types d'hologrammes dans l'espace réel :

- un hologramme non modulé, appelé  $I_{1-phase}(x, y, 0)$ , qui correspond à la figure d'interférence statique, en l'absence de modulation, et qui est extrait de la pile d'images, en effectuant une sommation sur 32 images identiques, de la manière suivante :

$$I_{1-phase} = \sum_{k=0}^{31} I_{4k} \quad (\text{V.9})$$

- un hologramme démodulé  $I_{4-phases}$  obtenu en sommant les images affectées du coefficient de phase approprié, comme nous l'avons fait jusqu'à présent :

$$I_{4-phases} = \sum_{m=0}^{31} i^m I_m \quad (\text{V.10})$$

Pour que les deux images obtenues  $I_{1-phases}$  et  $I_{4-phases}$  soient parfaitement comparables en terme d'intensité, nous les avons calculées en sommant le même nombre d'images.

	$RSB_{1-phase}$	$RSB_{4-phases}$
image reconstruite	668	$1,5 \cdot 10^3$

TAB. V.1 – Tableau comparatif des RSB 1-phase et 4-phases (sans unité) pour les images reconstruites.

Les hologrammes dans l'espace de Fourier  $|\tilde{I}_{1-phase}|$  et  $|\tilde{I}_{4-phases}|$  sont représentés en échelle linéaire Fig.V.11(a) et (b) respectivement. En 1-phase, seuls les parasites décrits précédemment sont visibles car le signal (ordre de diffraction -1 et +1) est relativement faible. L'intensité maximale de l'hologramme de Fourier correspond au signal de l'onde de référence positionné en  $(k_x = 0, k_y = 0)$  et est moins élevée pour l'hologramme 4-phases (voir échelles en intensité). En effet, l'ordre 0 de diffraction est continu dans le temps (aux fluctuations de l'intensité de la source près) et est donc filtré par le procédé modulation/démodulation.

En comparant les hologrammes reconstruits 1-phase et 4-phases, représentés en échelle linéaire Fig.V.11(c) et (d) respectivement, on remarque que, en filtrant temporellement les signaux modulés, l'hétérodynage et la démodulation permettent d'augmenter significativement le RSB de l'image reconstruite (voir Tab.V.1). Ainsi, dans la suite de ce document, nous omettrons de préciser explicitement que nous n'étudions que des hologrammes 4-phases.

#### V.1.4.2 De l'intérêt du filtrage spatial

Dans ce paragraphe, nous comparons les résultats obtenus pour des hologrammes reconstruits avec ou sans filtrage spatial dans l'espace de Fourier en vue de montrer expérimentalement l'apport de cette technique.

A nouveau, pour cette démonstration, nous avons acquis 128 images  $I_m$  sur 32 périodes de battement de l'hologramme pour un échantillon dilué de particules de 200 nm.

L'hologramme enregistré (Fig.V.12(a)) est passé dans l'espace des fréquences spatiales (Fig.V.12(b)). Le plan image est reconstruit avec ou sans filtrage spatial et est représenté Fig.V.12(c) et (d) respectivement.

L'image reconstruite avec filtrage dans l'espace des fréquences spatiales présente un RSB 49 fois plus élevé que celui de l'image reconstruite sans filtrage spatial (voir

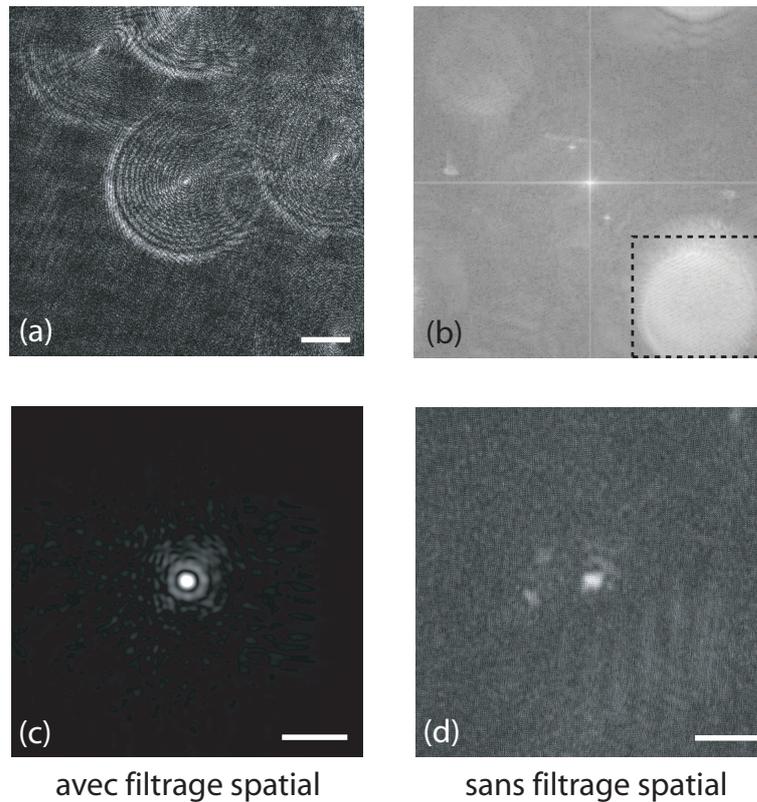


FIG. V.12 – Hologramme enregistré représenté en amplitude du champ (a). Espace de Fourier associé à l'hologramme (b). Agrandissement de l'image reconstruite avec filtrage spatial (c). Agrandissement de l'image reconstruite sans filtrage spatial (d) représentée avec la même échelle d'intensité que (c). les images (a), (c) et (d) sont représentées en échelle d'intensité linéaire et l'image (b) en échelle logarithmique. Les barres d'échelle correspondent à  $5\ \mu\text{m}$ .

Tab.V.2). Le gain en RSB dû au filtrage spatial est très élevé comparativement à celui dû au processus modulation/démodulation (Sec.V.1.4.1). Cela s'explique par le fait que le filtrage spatial permet d'annuler l'ordre 0 de diffraction (principal signal parasite) alors que l'hétérodynage ne peut pas l'annuler parfaitement en raison des fluctuations d'émission de la source laser.

	RSB avec filtrage	RSB sans filtrage
image reconstruite	$1,6 \cdot 10^3$	32

TAB. V.2 – Tableau comparatif du RSB (sans unité) de l'image reconstruite avec et sans filtrage dans l'espace des fréquences spatiales.

Les signaux parasites de fond étant le principal facteur limitant pour la détection de nanoparticules, nous avons montré que, avec le filtrage spatial et la détection

hétérodyne, il est possible de diminuer fortement ce signal de fond et d'accroître ainsi le RSB des images reconstruites.

### V.1.4.3 Comparaison d'images de microscopie classique et d'holographie

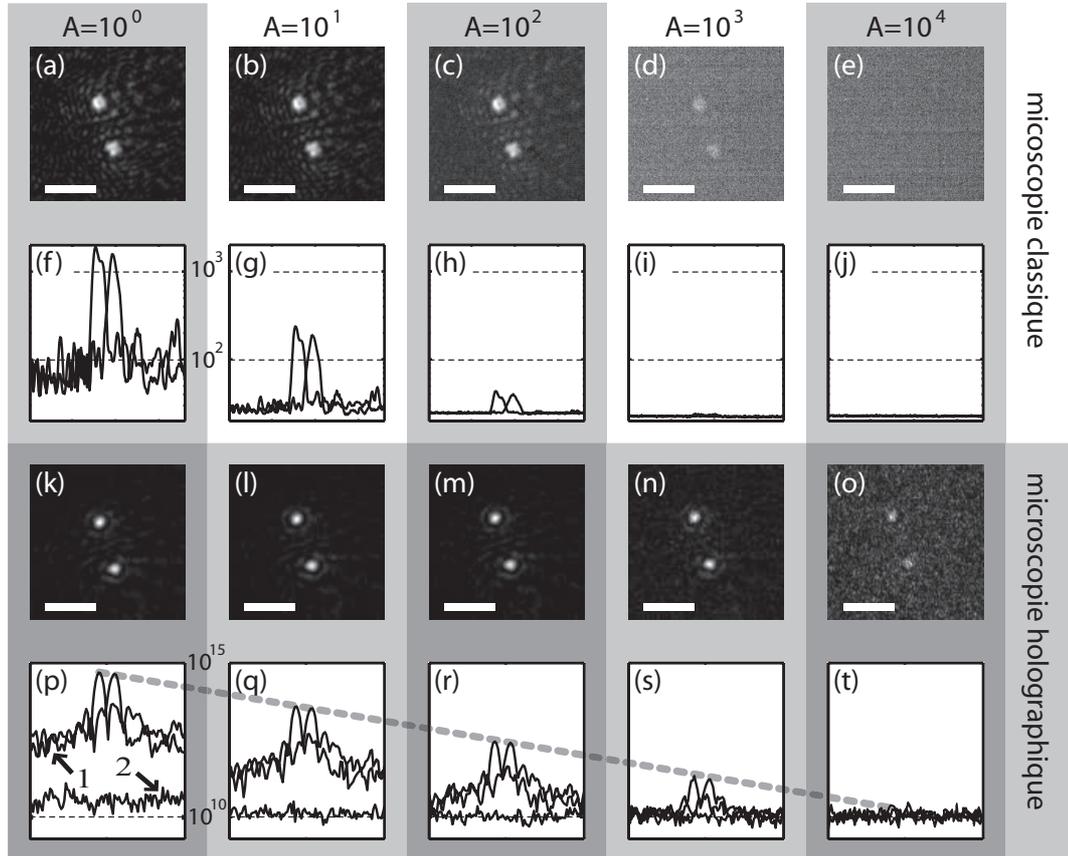


FIG. V.13 – Images reconstruites en intensité (échelle logarithmique) de deux particules de 200 nm en fonction de l'atténuation  $A$  de la puissance du champ d'illumination variant de  $10^0$  à  $10^4$ . De (a) à (e) : images directes (faisceau de référence éteint). De (k) à (o) : images holographiques (faisceau de référence allumée). Les barres d'échelle représentent  $5 \mu\text{m}$ . Profil des particules sans (f) à (j) et avec (p) à (t) le faisceau de référence. L'échelle de l'axe vertical en unité arbitraire (a.u.) est la constante pour chaque série de profils ((f) à (j) et (p) à (t)).

Pour évaluer la limite de sensibilité du dispositif de détection, nous avons imagé un échantillon bien connu et aisément détectable : des particules d'or de 200 nm. Fig.V.1 sont représentés les images [(a) à (e) et (k) à (o)] et leur profil [(f) à (j) et (p) à (t)], en échelle logarithmique.

De manière à évaluer les limites du dispositifs, nous avons volontairement atténué le

signal  $|E_S|^2$  à l'aide d'un atténuateur placé dans le bras objet (A2, Fig.V.1). L'atténuation de l'intensité du signal prend les valeurs  $10^0$  [(a), (f), (k) et (p)],  $10^1$  [(b), (g), (l) et (q)], ..., et  $10^4$  [(e), (j), (o) et (t)].

Une première série de mesures a été effectuée avec le faisceau de référence éteint (images directes), et une seconde série avec le faisceau de référence allumé (holographie). Le signal a été moyenné sur 32 images dans les deux cas. Les résultats sont reportés dans les images Fig.V.13 (a) à (j) (détection classique) et (k) à (t) (détection holographique).

En détection holographique, contrairement à l'imagerie directe, le signal mesuré est proportionnel à la puissance incidente sur quatre ordres de grandeur comme nous le montre la ligne pointillée traversant les Fig.V.13 (p) à (t). Ainsi, le dispositif de détection holographique permet une mesure quantitative de faibles champs diffusés ce qui n'est pas possible avec un dispositif de microscopie classique sans autre implémentation. Comme la section efficace de diffusion d'une particule dépend de son diamètre, nous pouvons déterminer les diamètres de particules de différentes tailles connues par comparaison de l'intensité de lumière diffusée enregistrée en holographie hétérodyne hors axe.

Puisque l'amplification hétérodyne (maximisation du gain holographique par ajustement de l'intensité de l'onde de référence) et la modulation spatio-temporelle (configuration hors axe et modulation de la figure d'interférence) réduisent le poids relatif du bruit technique (bruit de lecture, réflexions et diffusions parasites, fluctuations de l'intensité de la source) en holographie, ce type de détection présente une sensibilité meilleure que l'imagerie directe. Ainsi, en holographie, il est possible de détecter les mêmes particules avec dix fois moins de puissance incidente qu'en microscopie classique (voir Fig.V.13(e) et (o)).

Dans les profils Fig.V.13(p) à (t), on observe deux types de bruits :

- Le bruit holographique (flèche 2, Fig.V.13 (p)) est quasiment insensible à l'intensité du champ objet dans les régimes de gain élevé ( $|E_S|^2 \ll |E_R|^2$ )
- Le signal de fond (flèche 1, Fig.V.13 (p)), dû à des diffractions parasites, diminue avec l'intensité du champ objet. c'est ce bruit qui est limitant pour la détection et réduit de manière significative la gamme dynamique de détection de plusieurs ordres de grandeurs.

En holographie, Fig.V.13 (p) à (o), nous distinguons les billes avec un RSB décroissant avec l'atténuation (voir Tab.V.3) puisque le niveau de bruit ( $\approx 10^{10}$  en niveaux de gris) reste constant et que le signal diminue. Quand l'atténuation vaut  $10^4$ , le RSB atteint une valeur critique.

A2	$10^0$	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$
RSB	$5.10^4$	$2.10^3$	$1,6.10^2$	10	1

TAB. V.3 – Tableau récapitulatif des RSB (sans unité) des images reconstruites pour différentes atténuations A2 du bras signal.

V.1.4.4 Images de particules de diamètre respectif 200, 100 et 50 nm

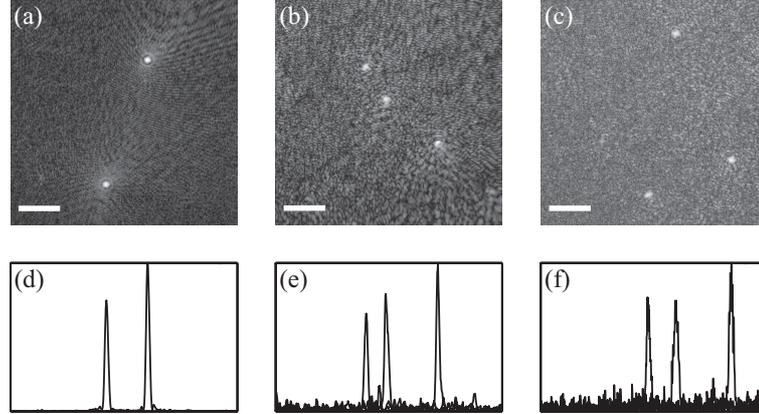


FIG. V.14 – Images reconstruites en intensité  $|I(x, y, z)|^2$  de particules de 200 nm (a), 100 nm (b) et 50 nm (c) représentées en échelle logarithmique. Les barres d'échelle représentent  $10 \mu\text{m}$ . (d-f) Profils horizontaux de  $|I(x, y, z)|^2$  à la position des billes, moyennés sur 4 pixels (échelle linéaire).

Forts de cette évaluation du RSB, nous avons imagé différentes tailles de particules. Les images reconstruites en intensité de particules sont représentés Fig.V.14 (a-c) en échelle logarithmique ainsi que leurs profils respectifs en intensité en échelle linéaire suivant l'axe  $x$  (d-f). Ces images sont obtenues en démodulant  $I(x, y, z)$  sur quatre périodes de modulation de phase. Les diamètres des particules sont 200 nm (a,d), 100 nm (b,e) et 50 nm (c,f).

Le RSB des images décroît quand le diamètre de la particule diminue (voir Tab.V.4) puisque la quantité de lumière diffusée diminue et que le bruit holographique reste constant. Ainsi, en-deçà de 50 nm, en l'absence de modulation supplémentaire (spatiale ou photothermique), le fond cohérent dû aux poussières et aux aspérités des surfaces empêche de discriminer clairement les particules d'autres diffuseurs.

	200 nm	100 nm	50 nm
RSB	$5.10^4$	$8.10^2$	1, 5

TAB. V.4 – Tableau récapitulatif des RSB (sans unité) des images reconstruites.

V.1.5 Conclusion sur l'holographie hétérodyne hors axe

Dans cette section, nous avons présenté le dispositif expérimental d'holographie numérique hors axe qui nous a permis d'obtenir des images en deux et trois dimensions de particules de diamètre allant de 50 nm à 200 nm. Nous avons ainsi pu observer leur diagramme de diffusion complet à partir de l'acquisition d'un hologramme unique.

Nous avons montré expérimentalement que cette technique est bien plus sensible que l'imagerie direct et qu'elle permet une analyse quantitative des faibles signaux diffusés par les nanoparticules. Pour augmenter la puissance du signal diffusé, on peut augmenter la puissance du laser cependant le signal de fond parasite, qui constitue le facteur limitant dans nos expérience, augmenterait d'autant et le RSB serait le même. Ainsi, la détection de particules de diamètre inférieur à 40 nm semble impossible sans utiliser d'autres procédés d'amplification du contraste.

Nous proposons donc de coupler l'holographie numérique hétérodyne hors axe, technique présentant une grande sensibilité intrinsèque, avec une modulation photothermique du signal diffusé par les particules en vue de réduire l'amplitude relative du signal de fond et ainsi améliorer la sensibilité de l'instrument de mesure.

## V.2 Imagerie holographique photothermique 3D de nanoparticules

Pour des nanoparticules relativement grandes, les méthodes basées sur la diffusion de Rayleigh, comme celles que nous avons présentées jusqu'ici, ouvrent la voie à de nombreuses applications, comme la spectroscopie de nanoparticules métalliques individuelles [132, 133] ou l'imagerie de biomolécules [33]. Cependant, comme la section efficace de diffusion des particules décroît comme leur volume au carré, ces méthodes sont limitées à l'étude de relativement grandes nanoparticules (typiquement de diamètre  $> 40$  nm). De plus, comme nous l'avons vu Sec.V.1.4.3, le signal de diffusion doit être discriminé d'un signal de fond important. Ainsi, dans la mesure où la section efficace d'absorption de ces nanoparticules varie comme leur volume, développer une technique reposant sur les propriétés d'absorption des particules est une alternative intéressante à la diffusion de Rayleigh.

Ainsi, dans un dispositif d'imagerie de diffusion tel que ce que nous avons décrit jusqu'ici, il est possible d'insérer un deuxième faisceau de forte puissance, dit de chauffage, qui sera absorbé par les nanoparticules qui convertissent alors l'énergie absorbée en chaleur. Par diffusion thermique au voisinage de la particule, la chaleur se propage dans le milieu qui voit sa permittivité localement modifiée créant ainsi une sphère d'indice fortement diffusante. En ajustant la longueur d'onde du faisceau de chauffage dans la bande de résonance plasmon, les nanoparticules d'or sont alors discriminées des nano-diffuseurs parasites qui, eux, ne présentent pas de propriétés d'absorption particulières dans cette gamme de longueurs d'onde.

L'effet photothermique a d'abord été utilisé pour détecter des nanoparticules d'or de diamètre aussi petit que 5 nm grâce à une méthode de contraste interférentiel photothermique (CIP) [37]. Cette méthode interférométrique est basée sur la mesure de la différence de chemin optique entre un faisceau se propageant à travers la bille d'indice et un faisceau traversant le milieu non modifié. Récemment, une autre technique photothermique, appelée imagerie photothermique hétérodyne (IPH), a été développée [39]. Il s'agit d'une mesure interférométrique de la différence de pulsation optique entre un faisceau de référence et un faisceau traversant la bille d'indice. Ce dernier faisceau voit sa pulsation optique translatée en raison de la modulation du faisceau de chauffage qui engendre une bille d'indice modulée. La sensibilité de la méthode d'IPH permet de gagner deux ordres de grandeur comparée à la technique de CIP et de détecter ainsi des particules d'or individuelles de 1,4 nm de diamètre.

Néanmoins, pour ces deux techniques, les faisceaux laser sont focalisés et l'enregistrement du signal se fait par l'intermédiaire d'un détecteur unique. L'acquisition d'une image se fait donc point à point par balayage de la surface de l'échantillon ce qui présente deux inconvénients :

- Le bruit temporel de la source laser est converti en bruit spatial dans l'image au cours du balayage.
- Il est nécessaire de faire un compromis entre le temps d'acquisition et la surface

imagée. Ainsi, le temps d'acquisition est élevé (plusieurs dizaines de millisecondes par point) ce qui empêche de faire de l'imagerie d'objets en mouvement sur des surfaces importantes (supérieures à  $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ ).

Les techniques photothermiques ayant prouvé leur efficacité en terme de sensibilité, nous proposons ici de coupler la méthode d'IPH avec l'holographie numérique hétérodyne hors axe, technique de grande sensibilité intrinsèque permettant la visualisation en trois dimensions des nano-objets, en vue de faire de l'imagerie plein champ et de pallier les inconvénients d'un balayage de l'échantillon.

### V.2.1 Effet photothermique

Dans les Sec.III et Sec.V.1, nous avons exclusivement bénéficié de la propriété de diffusion qui varie comme le volume de la particule au carré, les effets d'absorption étant négligeables. Nous avons également montré Sec.I.4.2 que la section efficace d'absorption d'une nanoparticule varie comme son volume ce qui signifie qu'elle décroît beaucoup moins rapidement que la section efficace de diffusion, quand le rayon de la particule diminue. Pour tirer profit de la prépondérance du phénomène d'absorption sur celui de diffusion pour les petites particules, nous développons un nouveau dispositif expérimental basé sur l'absorption de la lumière par les particules.

Une nanoparticule métallique excitée à une longueur d'onde proche de sa résonance plasmon a une section efficace d'absorption importante et présente un temps de relaxation électron-phonon (désexcitation non radiative) de l'ordre de la picoseconde [18]. Ainsi, elle possède les propriétés d'un absorbeur de lumière efficace. L'énergie lumineuse une fois absorbée par la particule peut être réémise sous forme de photons par luminescence ou convertie en énergie thermique. Sachant que la luminescence émanant des particules est peu intense [134, 135], pratiquement toute l'énergie absorbée est convertie en chaleur qui diffuse dans le milieu. En raison de l'élévation de température, le milieu diélectrique se dilate, ce qui modifie les pulsations plasma et de résonance,  $\omega_{\text{plasma}}$  et  $\omega_0$ , ainsi que le coefficient d'amortissement  $\gamma$  dans l'expression de la permittivité diélectrique donnée par le modèle de Drude (Eq.I.4). Par conséquent, l'indice de réfraction du milieu au voisinage de la particule est modifié de sorte que, autour de la particule, se forme une bille d'indice détectable par simple diffusion de la lumière.

Considérons une nanosphère absorbante de rayon  $a$ , petit devant la longueur d'onde d'illumination  $\lambda_{\text{chauf}}$  ( $a \ll \lambda_{\text{chauf}}$ ). Lorsqu'une nanoparticule est éclairée, une partie de la lumière incidente est diffusée et l'autre absorbée dans une proportion définie par les sections efficaces qui dépendent de la composition et de la taille de la particule ainsi que de son milieu environnant. Nous rappelons les expressions des sections efficaces de diffusion et d'absorption de Rayleigh démontrées Sec.I.4.2 :

$$\begin{aligned}
 C_{\text{abs}} &= 4\pi k_m a^3 \Im \left\{ \frac{\epsilon_p(\omega) - \epsilon_m}{\epsilon_p(\omega) + 2\epsilon_m} \right\} \\
 C_{\text{diff}} &= \frac{8}{3} \pi k_m^4 a^6 \left| \frac{\epsilon_p(\omega) - \epsilon_m}{\epsilon_p(\omega) + 2\epsilon_m} \right|^2
 \end{aligned}
 \tag{V.11}$$

où  $m = \frac{N_p}{N_m}$  est le contraste d'indice optique complexe ( $N$ ) entre la particule (indice  $p$ ) et le milieu environnant (indice  $m$ ),  $k_m$  est le vecteur d'onde dans le milieu,  $\epsilon_p$  et  $\epsilon_m$  sont les permittivités diélectriques complexes de la particule et du milieu respectivement.

Cette particule est placée dans un milieu homogène, de diffusivité thermique  $D = \frac{\kappa}{C_{th}}$ , où  $\kappa$  et  $C_{th}$  sont respectivement la conductivité thermique et la capacité calorifique par unité de volume du milieu.

La puissance absorbée  $P_{abs}$  par une particule illuminée par un faisceau laser modulé à la fréquence  $\Omega$ , de puissance surfacique moyenne  $P_{chauf}$  est :

$$P_{abs} \frac{1 + \cos(\Omega t)}{2} \quad (V.12)$$

avec

$$P_{abs} = C_{abs} P_{chauf} \quad (V.13)$$

La luminescence d'une particule métallique étant faible, la lumière absorbée est convertie en quasi totalité en chaleur qui diffuse dans le milieu environnant. Le volume subissant la modulation de température est déterminé par l'amortissement des ondes thermiques à la fréquence de modulation. Ainsi, à une distance  $\rho$  de la particule, la partie modulée de l'élévation de température est :

$$\Delta T(\rho, t) = \frac{P_{abs}}{4\pi\kappa\rho} e^{-\frac{\rho}{r_{th}}} \cos\left(\Omega t - \frac{\rho}{r_{th}}\right) \quad (V.14)$$

où  $r_{th} = \sqrt{\frac{2D}{\Omega}}$  est la distance caractéristique de diffusion thermique.

La variation de température du milieu entraîne une modification de son indice de réfraction qui s'écrit :

$$\Delta n(\rho, t) = \frac{\partial n}{\partial T} \Delta T(\rho, t) \quad (V.15)$$

Un gradient d'indice modulé dans le temps apparaît donc autour de la particule. Le faisceau sonde, qui était diffusé par la particule dans les techniques précédemment développées, est désormais diffusé par un objet que l'on peut assimiler à une sphère de rayon équivalent  $r_{th}$  et d'indice  $n + \Delta n$ . La fréquence de modulation typique du faisceau de chauffage est  $\Omega/2\pi = 5.10^3$  Hz. Considérons une particule immobilisée dans de l'alcool polyvinyle en film mince ( $< 100$  nm), couvert d'huile de paraffine en vue d'assurer une diffusion de la chaleur homogène. Sachant que la diffusivité thermique de l'huile de paraffine vaut  $D \approx 8.10^{-8} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ , la distance caractéristique de diffusion thermique est  $r_{th} = 2,26 \mu\text{m}$  et est grande devant celui de la particule ( $r_{th} \approx 2a.10^2$ ).

Ainsi, pour une élévation de température  $\Delta T = 1$  K, obtenue en illuminant une particule d'or de 10 nm de diamètre, immobilisée dans du PVA couvert d'huile de paraffine de  $\partial n/\partial T \approx 10^{-4} \text{ K}^{-1}$ , la variation d'indice de réfraction du milieu est  $\Delta n = 10^{-4}$ . La bille d'indice présente alors une section efficace de diffusion à 785 nm

de  $1,04 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2$ , calculée suivant la théorie de Mie [136]. Sachant que la section efficace de diffusion de Mie à 785 nm d'une particule de 10 nm dans du PVA vaut  $5,10 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^2$ , le gain en puissance diffusé dû à l'effet photothermique est  $10^6$ .

Grâce à l'effet photothermique, non seulement le signal à détecter est substantiellement plus important mais il est aussi très sélectif envers les nanoparticules d'or dans la mesure où ni la matrice de PVA, ni les diffuseurs parasites ne sont significativement absorbant dans la gamme des longueurs d'onde plasmon de l'or. Ainsi, avec l'ajout du faisceau de chauffage, le signal de fond qui limite la détection des particules en holographie hétérodyne hors axe est inchangé alors que l'intensité du signal de diffusion correspondant à la présence d'une nanoparticule d'or est accru de plusieurs ordres de grandeur.

## V.2.2 Dispositif expérimental d'holographie numérique photothermique

Le dispositif expérimental est très semblable à celui d'holographie hétérodyne hors axe présenté Sec.V.1.1. Pour augmenter la sensibilité, le détecteur est une caméra CCD (Charge Coupled Device, Roper 512B,  $512 \times 512$  pixels carrés de dimensions  $16 \times 16 \mu\text{m}^2$ ). Le faisceau de chauffage est issu d'un laser de forte puissance à  $\lambda = 532 \text{ nm}$ , dans la bande de résonance des plasmons de l'or afin de maximiser la puissance absorbée et donc l'élévation de température et la variation d'indice du milieu. Le système d'holographie est alors parcouru par la lumière issue d'une diode laser à 785 nm se décomposant en deux faisceaux sonde et référence.

Pour obtenir l'effet photothermique, un faisceau laser à 532 nm, élargi et rendu légèrement divergent à l'aide d'un étendeur de faisceau, pénètre dans le microscope. Pour maximiser l'intensité du faisceau de chauffage à 532 nm parvenant jusqu'à l'échantillon, tout en atténuant peu l'onde signal se propageant vers la caméra, le faisceau de chauffage est réfléchi par une séparatrice dichroïque (CS @ 532 nm, R @ 532 nm > 99% et T @ 785 nm > 95%). La divergence du faisceau vert est ajustée de manière à éclairer la totalité du champ de la caméra ( $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ ) après la focalisation par l'objectif de microscope (Olympus,  $\times 100$ ,  $ON = 0,8$ ).

Après réflexion et diffusion par l'échantillon, l'onde de chauffage est collectée par l'objectif et se propage en direction de la caméra. Elle est d'abord réfléchie en grande partie par la CS @ 532 nm puis fortement atténuée par un filtre coupe-bande à 532 nm (F @ 532 nm, T @ 532 nm < 0,1% et T @ 785 nm > 97%) ce qui permet de limiter fortement l'intensité de lumière verte parvenant jusqu'à la caméra, tout en atténuant peu l'onde signal à 785 nm.

Par ailleurs, pour effectuer une détection synchrone holographique du signal photothermique, le faisceau de chauffage est modulé en amplitude à  $\Omega$  par un modulateur acousto-optique (MAO3) ce qui engendre une modulation de l'indice de réfraction du PVA et de l'huile de paraffine à la même fréquence. Lorsque le faisceau sonde interagit avec l'un des objets thermiquement modulés, sa pulsation optique est décalée de la

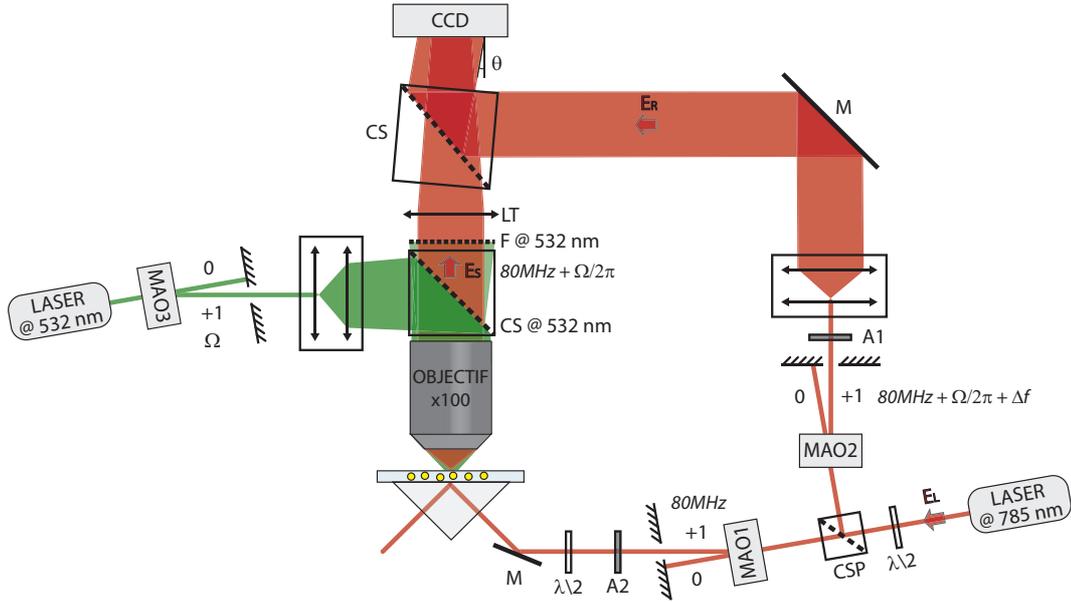


FIG. V.15 – Dispositif expérimental photothermique d’holographie numérique hétérodyne hors axe. CSP : cube séparateur de polarisation ; MAO : modulateur acousto-optique ; A1, A2 : atténuateurs ; M : miroir ; LT : lentille de tube ; CS : cube séparateur.

pulsation de modulation  $\Omega$ . Le décalage en fréquence optique de l’onde signal collectée par l’objectif est la somme des décalages engendrés par le MAO et par la modulation de l’indice de réfraction et vaut  $80 \text{ MHz} + \Omega/2\pi$ .

Afin de paramétrer la fréquence de battement de la figure d’interférences dans le plan de la caméra, il est nécessaire d’ajuster la fréquence optique de l’onde de référence, en alimentant le MAO2 par une sinusoïde de fréquence  $80 \text{ MHz} + \Delta f + \Omega/2\pi$ , pour compenser le décalage du faisceau signal induit par la modulation du faisceau chauffage. La différence de fréquence optique entre les faisceaux signal et référence interférant dans le plan de la caméra, égale à la fréquence de battement de l’hologramme, est  $\Delta f$ . La fréquence d’acquisition de la caméra est fixée à  $f_{CCD} = 4\Delta f$  en vue d’effectuer une détection synchrone multiplexée de l’hologramme comme dans le cas de l’holographie hétérodyne hors axe.

Dans ce dispositif expérimental, les MAO permettent d’effectuer une modulation d’amplitude (MAO3, faisceau de chauffage) ou un décalage en fréquence (MAO1 et MAO2, faisceaux holographiques) en fonction du signal de commande qui leur est envoyé :

- Pour le décalage de fréquence optique des faisceaux holographiques (MAO1 et 2), le signal de commande est, comme présenté ans la section précédente, une sinusoïde de fréquence proche de 80 MHz (fréquence de fonctionnement optimal des MAO) représenté Fig.V.16(a). Durant toute l’acquisition les MAO sont alimentés et la lumière incidente diffractée.

- En ce qui concerne la modulation d'amplitude du faisceau de chauffage (MAO3), le signal de commande est une sinusoïde de fréquence 80 MHz multipliée par une fonction créneau de plus basse fréquence (typiquement  $\Omega = 5$  kHz) Fig.V.16(b). Ainsi, le premier ordre de diffraction, décalé en fréquence de  $\Delta F = 80$  MHz, correspondant à une variation de longueur d'onde du faisceau optique  $\Delta\lambda = -c\frac{\Delta F}{f^2} = 7,5.10^{-5}$  nm, n'est généré que lorsque le signal de commande du MAO est non nul, le décalage en fréquence n'ayant aucune importance pour l'effet de chauffage recherché.

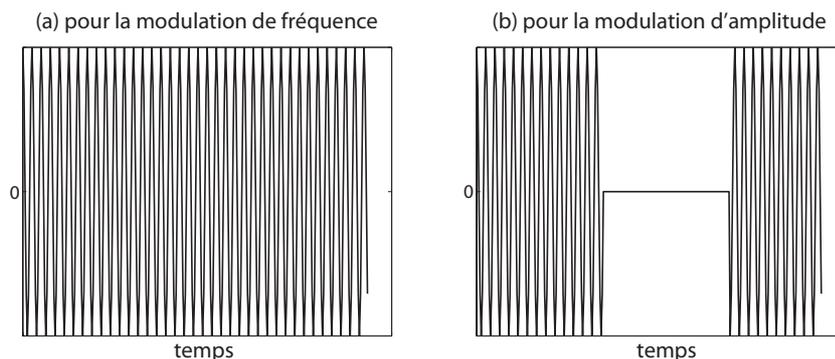


FIG. V.16 – Signaux de commande des AOM pour la modulation de fréquence (a) des faisceaux holographiques à 785 nm et pour la modulation d'amplitude du faisceau de chauffage à 532 nm.

### V.2.3 Imagerie 3D de nanoparticules d'or de 50 nm

Nous allons effectuer une analyse comparative de deux hologrammes d'un même échantillon, l'un acquis en holographie seule, l'autre en holographie photothermique. Par la suite, nous comparons les différentes caractéristiques de l'holographie photothermique et de l'imagerie photothermique hétérodyne. Enfin, nous présentons une étude du signal photothermique en fonction des caractéristiques du faisceau de chauffage à 532 nm en nous appuyant sur des résultats expérimentaux étayés soit par une théorie analytique, soit par une simulation numérique.

#### V.2.3.1 Imagerie 3D plein champ

Dans ce paragraphe, nous comparons deux hologrammes d'un même échantillon, photothermique et non photothermique, en terme de surface imagée, de RSB et de diagramme de diffusion en trois dimensions. Par la suite, nous évaluons les différences entre les paramètres caractéristiques des techniques d'holographie photothermique et d'imagerie photothermique hétérodyne.

Nous avons acquis deux piles de  $N$  images de particules de 50 nm. L'une des séries d'images est acquise avec le laser vert éteint (holographie) et l'autre avec le laser

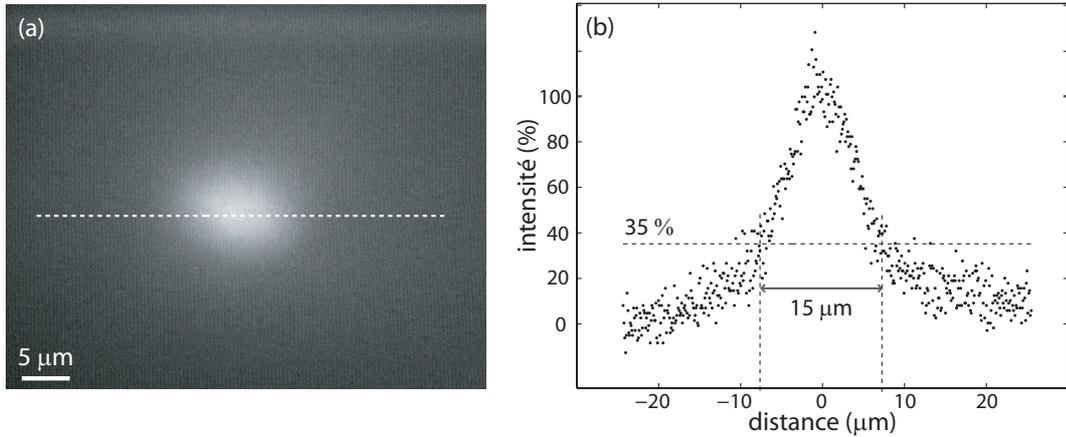


FIG. V.17 – Image de la répartition du faisceau vert (a). Profil de la répartition spatiale du faisceau gaussien suivant l'axe en pointillé (a) et détermination de son diamètre effectif (b).

allumé (holographie photothermique) en adaptant le décalage en fréquence du faisceau de référence au type d'acquisition.

Pour mesurer la surface éclairée, 10 images sont acquises, puis moyennées, lorsque seul le faisceau vert illumine l'échantillon (Fig.V.17(a)) après avoir enlevé le filtre coupe bande à 532 nm (F). Le diamètre effectif de la zone éclairée est évalué à 35 % de l'intensité du faisceau gaussien (Fig.V.17(b)), soit  $\approx 15 \mu\text{m}$ . Le faisceau laser à 532 nm, de puissance moyenne 210 mW, est modulé à 5 kHz et éclaire l'échantillon sur une surface de  $177 \mu\text{m}^2$ , soit une puissance moyenne par unité de surface du faisceau de chauffage de  $120 \text{kW}\cdot\text{cm}^{-2}$ .

Les images photothermique et non photothermique reconstruites après démodulation et filtrage dans l'espace de Fourier sont obtenues à partir de deux piles de  $N = 48$  avec un temps d'intégration de 100 ms soit un temps d'acquisition total de moins de 5 s et sont représentées Fig.V.18(b) et (a) respectivement. On note que seules les particules situées dans la zone illuminée à 532 nm, entourée en pointillé, sont visibles en imagerie photothermique ce qui confirme que le signal détecté est bien la lumière diffusée par la bille d'indice modulée dans le temps.

La puissance absorbée par une particule de 50 nm dans du PVA couvert de paraffine, illuminée avec une puissance surfacique de  $120 \text{kW}\cdot\text{cm}^{-2}$  à 532 nm, est environ  $5 \mu\text{W}$  ce qui correspond à une variation d'indice de réfraction du milieu de  $26\cdot 10^{-4}$ . La section efficace de diffusion à 785 nm de la bille d'indice ainsi créée vaut  $1,9\cdot 10^{-9} \text{cm}^2$  alors que celle de la particule est  $1,4\cdot 10^{-13} \text{cm}^2$ . Le gain en puissance diffusée ( $10^4$ ) devrait être équivalent au gain en RSB attendu dans l'hypothèse où le bruit est constant. Nous mesurons expérimentalement un gain en RSB entre l'holographie photothermique et l'holographie (Fig.V.18)  $RSB_{holo PT}/RSB_{holo} = 10^3$  ce qui signifie que le bruit a augmenté. C'est accroissement de la puissance de bruit en holographie photothermique par

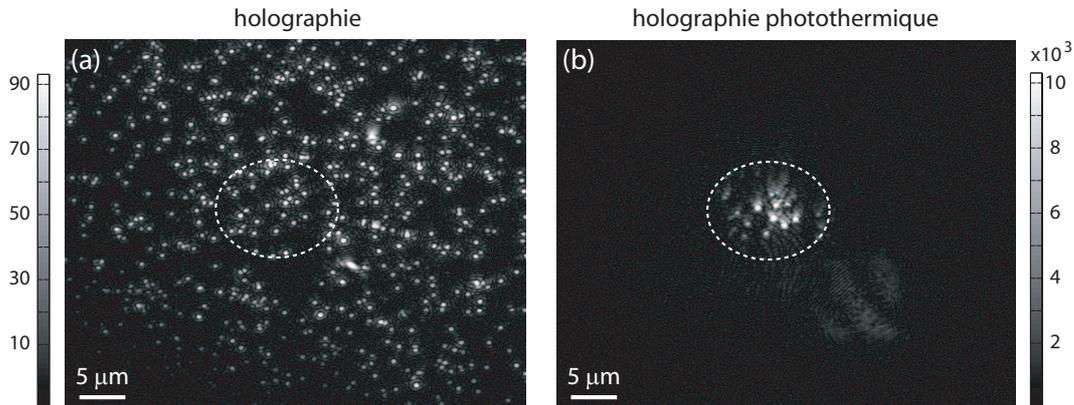


FIG. V.18 – Image holographique non photothermique reconstruite (a). Image photothermique reconstruite (b). Le cercle en pointillé définit la zone d'illumination du laser vert.

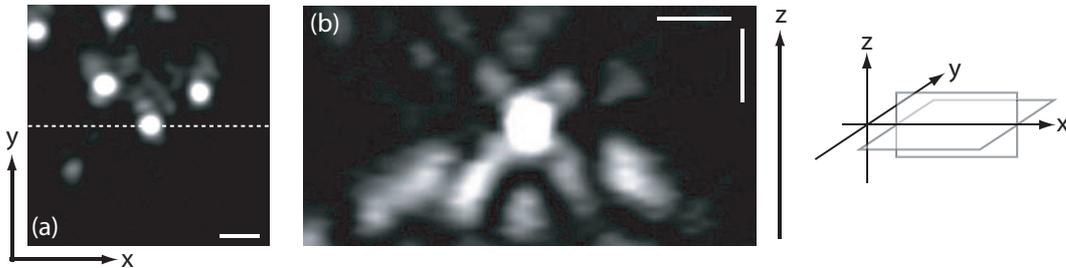


FIG. V.19 – Zoom de l'image photothermique reconstruite (a). Coupe xz suivant la ligne pointillée (b). Les barres d'échelle représentent  $1 \mu\text{m}$ .

rapport à l'holographie seule est probablement due à un filtrage incomplet du faisceau de chauffage qui génère un bruit parasite à la même fréquence que la détection.

En vue d'obtenir une image en volume d'une particule, des images ont été reconstruites dans des plans espacés d'un pas  $\Delta z = 9.10^{-9}$  m, égal au pas d'échantillonnage du champ imagé par la caméra. Une coupe de ce volume le long de l'axe  $z$  suivant la ligne pointillée (Fig.V.19(a)) est représentée Fig.V.19(b).

Le diagramme de diffusion suivant l'axe  $z$ , ainsi obtenu, présente la même asymétrie, due à la différence d'indice de réfraction entre l'air et l'huile de paraffine, que la coupe de l'image holographique d'une particule de  $200 \text{ nm}$  que nous avons présenté Fig.V.9(a) dans la section d'holographie hétérodyne hors axe. En comparant ces deux images, nous notons que l'intensité lumineuse est concentrée autour de la bille d'indice et atténuée dans les plans plus éloignés. Les cônes lumineux présents pour les petites distances de reconstruction sont légèrement brouillés en raison des interférences avec la lumière diffusée par les particules à proximité.

Le diamètre de la bille d'indice est obtenu en déterminant la largeur à mi-hauteur de

la coupe suivant l'axe  $x$ . Il vaut  $2,7 \mu\text{m}$  et est donc 1,6 fois plus petit que le diamètre calculé théoriquement à partir de la distance caractéristique de diffusion dans l'huile de paraffine pour une modulation du laser vert  $\Omega/2\pi = 5 \text{ kHz}$  ( $r_{th} = 2,3 \mu\text{m}$ ). En effet, lorsque la particule d'or est chauffée, la température diffuse et il apparaît un gradient de température dans le milieu et donc un gradient d'indice. La bille d'indice n'est donc pas une sphère au contour bien délimiter. Ainsi au delà d'une distance  $\rho$  par rapport au centre de la particule la faible variation d'indice de réfraction n'est plus détectable (ici  $\rho = r_{th}/1,6 = 1,4 \mu\text{m}$ ).

À présent, nous allons comparer à l'aide du Tab.V.5 les différentes caractéristiques des dispositifs d'holographie photothermique et d'imagerie photothermique hétérodyne (IPH) qui ne diffère de notre dispositif que par le fait que les faisceaux sonde et de chauffage sont focalisés et balayent la surface de l'échantillon. La configuration expérimentale que nous avons développée permet d'imager une surface cinq fois plus étendue, avec un échantillonnage spatial équivalent et un temps d'acquisition plus de quatorze fois plus court. De plus, l'acquisition d'un tel hologramme donne accès à une image en volume sur plusieurs  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, avec un pas d'échantillonnage égal à celui de la caméra dans le plan  $(x, y)$  de la caméra. Nous pouvons donc envisager de faire de l'imagerie de particules en mouvement sur un volume étendu. Néanmoins, avec notre dispositif, pour visualiser des particules de petit diamètre ( $\leq 10 \text{ nm}$ ), il faut d'augmenter la puissance surfacique du laser de chauffage ce qui est possible en augmentant la puissance moyenne, ou en réduisant la surface éclairée. Ainsi, une fois la puissance moyenne maximale du laser atteinte, il est nécessaire de faire un compromis entre la surface imagée et la puissance surfacique incidente.

	surface imagée ( $\mu\text{m}^2$ )	temps d'acquisition (s)	puissance surfacique ( $\text{kW.m}^{-2}$ )	pas d'échantillonnage ( $\mu\text{m}$ )
Imagerie Photothermique Hétérodyne	36	> 70	1 à $5.10^3$	0.07
Holographie Photothermique	$\pi R_{\text{vert}}^2 = 177$	5	120	0.09

TAB. V.5 – Tableau comparatif des caractéristiques de l'IPH et de l'holographie photothermique

À présent, nous allons analyser le signal détecté lorsque les paramètres caractéristiques du faisceau de chauffage varient.

### V.2.3.2 Analyse du signal photothermique

Nous étudions les caractéristiques du signal photothermique détecté en holographie hétérodyne hors axe suivant la fréquence de modulation  $\Omega/2\pi$  et la puissance surfacique  $P_{\text{chauf}}$  du faisceau de chauffage au niveau de l'échantillon. Cette étude est menée expérimentalement et comparée aux résultats théoriques attendus.

### Intensité du signal photothermique en fonction de l'intensité du laser à 532 nm

Dans ce paragraphe, nous évaluons théoriquement l'évolution du signal photothermique en fonction de la puissance surfacique du laser de chauffage, puis nous présentons les résultats expérimentaux et les comparons à la théorie.

En holographie comme dans toute technique interférométrique, le signal enregistré est directement proportionnel au champ. En effet, comme nous l'avons vu Sec.IV.1.1, l'intensité lumineuse enregistrée par la caméra est :

$$I = \underset{\text{ordre } 0}{(I_S + I_R)} + \underset{\text{ordre } +1}{(E_S \cdot E_R^*)} + \underset{\text{ordre } -1}{(E_S^* \cdot E_R)} \quad (\text{V.16})$$

Dans notre configuration expérimentale, d'une part, le filtrage spatial dans l'espace de Fourier permet d'annuler les ordres de diffraction parasites -1 et 0 ; d'autre part, l'hétérodynage et la détection synchrone multiplexée autorisent la sélection d'une fréquence optique du champ signal détecté. Ainsi, le dispositif d'holographie photothermique, tel que nous l'avons mis en place, n'est sensible qu'à la pulsation du faisceau sonde décalée de la pulsation de modulation photothermique, soit  $\omega \pm \Omega$ . Au final, l'intensité lumineuse de l'image reconstruite vaut :

$$E_{S \pm \Omega} \cdot E_R^* \quad (\text{V.17})$$

et est directement proportionnelle au champ diffusé par la bille d'indice.

A présent, nous voulons déterminer le type de relation liant le champ diffusé par la bille  $E_{S \pm \Omega}$  à la puissance surfacique du faisceau de chauffage  $P_{chauf}$  afin de prédire le comportement du signal détecté lorsque la puissance de l'onde à 532 nm varie.

En raison de l'élévation de température due à l'absorption de lumière par la particule, nous avons vu Sec.V.2.1 que l'indice de réfraction du milieu  $n$  est perturbé pour devenir  $n + \Delta n$ . La variation de susceptibilité du milieu correspondante est :

$$\Delta\chi = 2n \frac{\partial n}{\partial T} \Delta T \quad (\text{V.18})$$

La variation de température induite par l'absorption de lumière par la particule est

$$\Delta T(\rho, t) = \frac{C_{abs} P_{chauf}}{4\pi\kappa\rho} \left[ 1 + e^{-\frac{\rho}{r_{th}}} \cos\left(\Omega t - \frac{\rho}{r_{th}}\right) \right] \quad (\text{V.19})$$

Donc la variation de susceptibilité du milieu  $\Delta\chi$  est directement proportionnelle à la puissance surfacique  $P_{chauf}$  illuminant l'échantillon à  $\lambda = 532$  nm.

Ainsi, quand le milieu est éclairé par le faisceau sonde ( $\vec{E}_{inc\ 785}$ ), la polarisation induite à une distance  $\rho$  de la particule, à un instant  $t$ , vaut, en prenant en compte la variation locale de susceptibilité :

$$\vec{P}(\vec{\rho}, t) = \epsilon_0 \frac{\Delta\chi(\rho, t)}{n^2} \vec{E}_{inc\ 785}(\vec{\rho}, t) \quad (\text{V.20})$$

Cette polarisation macroscopique est directement proportionnelle à la variation de susceptibilité  $\Delta\chi$ .

Par ailleurs, le champ diffusé par la particule en champ lointain  $E_{S\pm\Omega}$  est proportionnel au potentiel vecteur  $\vec{A}_{diff}$  défini par [50,67,68] :

$$\vec{A}_{diff}(\vec{r}) = \frac{\mu_0 \exp(ikr)}{4\pi r} (-i\omega\vec{p}) \quad (\text{V.21})$$

où  $\vec{p}$  est le moment dipolaire induit dans le milieu par la lumière incidente ( $E_{inc785}$ ). Pour les matériaux constitués de molécules non polaires ( $\epsilon_r < 9$ ) [137], comme le PVA et l'huile de paraffine, le moment dipolaire vaut  $\vec{p} = \vec{P} \left(1 - \frac{N\alpha}{3\epsilon_0}\right)$  et est donc directement proportionnel à la polarisation macroscopique  $\vec{P}$ .

Pour résumer, nous avons montré que :

$$\Delta\chi \propto P_{chauf} \quad \vec{P} \propto \Delta\chi \quad E_{S\pm\Omega} \propto \vec{P} \quad \Rightarrow \quad E_{S\pm\Omega} \propto P_{chauf} \quad (\text{V.22})$$

Au final, comme le signal détecté (Eq.V.17) est directement proportionnel au champ diffusé par la particule  $E_{S\pm\Omega}$ , celui-ci doit varier linéairement en fonction de la puissance du laser de chauffage  $P_{chauf}$ .

Pour vérifier cela expérimentalement, nous avons acquis 39 piles de 48 images sur 12 périodes de modulation photothermique de l'hologramme en vue d'imager des particules de 50 nm pour 39 puissances différentes du laser de chauffage.

Le faisceau laser à 532 nm est modulé à 5 kHz et voit sa puissance moyenne surfacique varier de 17 kW.cm<sup>-2</sup> à 305 kW.cm<sup>-2</sup>. Pour une particule, l'amplitude du signal holographique photothermique est mesurée en intégrant l'intensité de l'image sur un disque centré sur la particule et dont le diamètre vaut 0,8 μm, ce qui correspond au rayon expérimental de la bille d'indice. Nous avons représenté les variations du signal mesuré (en niveaux de gris) en fonction de la puissance surfacique du laser à 532 nm Fig.V.20.

Les points expérimentaux présentent une allure approximativement linéaire comme le prévoit la théorie et le signal photothermique ne sature pas mais fluctue fortement en amplitude pour les puissances élevées. Les écarts importants entre la régression linéaire et les points expérimentaux sont dus aux diverses instabilités des lasers holographique et de chauffage. En effet, la puissance lumineuse émise par le laser vert présente une forte instabilité (> 5% de  $P_{chauf}$ ) et les valeurs des puissance implémentées dans la Fig.V.20 correspondent à la moyenne des mesures de la puissance avant et après l'acquisition. Le laser à 785 nm, servant à l'illumination du système holographique, ne présente pas d'instabilités en puissance mais change parfois de mode d'émission durant l'acquisition. Comme les bras référence et signal n'ont pas la même longueur, ces variations de mode se répercutent comme des variations d'intensité, importantes et difficiles à évaluer, sur l'hologramme enregistré .

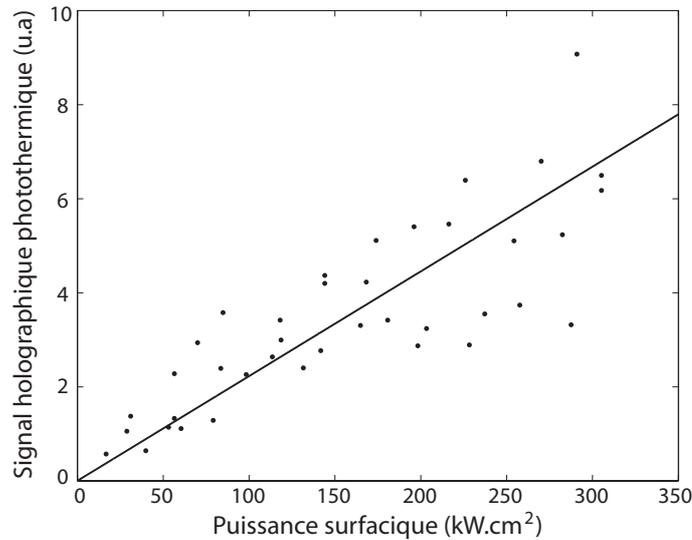


FIG. V.20 – Evolution du signal photothermique (en niveaux de gris) intégré sur la surface d'une particule de 50 nm en fonction de la puissance du laser de chauffage. Les points correspondent aux données expérimentales et la droite est une régression linéaire.

Dans le prochain paragraphe, nous étudions les variations du signal photothermique en fonction du second paramètre caractéristique du faisceau vert : la fréquence de modulation  $\Omega$ .

### Intensité du signal photothermique en fonction de la fréquence de modulation du laser à 532 nm

Dans ce paragraphe, nous présentons les signaux photothermiques obtenus expérimentalement quand la fréquence de modulation du faisceau vert varie puis nous les comparons aux résultats d'une simulation du signal photothermique.

Nous avons acquis 17 piles de 48 images sur 12 périodes de modulation photothermique de l'hologramme en vue d'imager des particules de 50 nm pour 17 fréquences de modulation du laser de chauffage différentes, le décalage en fréquence de l'onde de référence étant ajusté pour chaque fréquence de modulation.

Le faisceau laser à 532 nm est modulé en amplitude entre 1 kHz et 2 MHz. Pour éviter une saturation du signal aux basses fréquences de modulation, la puissance surfacique moyenne du faisceau vert varie entre de  $28 \text{ kW.cm}^{-2}$  et  $322 \text{ kW.cm}^{-2}$ , selon la fréquence de modulation  $\Omega$ . De la même manière que pour l'étude en puissance, pour une particule, l'amplitude du signal holographique photothermique (en niveaux de gris) est mesurée en intégrant l'intensité de l'image sur un disque centré sur la particule, dont le rayon vaut  $r_{th}$  pour les fréquences de modulation inférieures à 100 kHz

et  $0,6 \mu\text{m}$  (rayon de la tache de diffraction) pour les fréquences de modulation supérieures. En effet, comme la distance caractéristique de diffusion thermique varie comme  $\Omega^{-1/2}$ , la dimension de la bille d'indice devient sub-longueur d'onde pour les fréquences  $\Omega$  supérieures à 100 kHz.

Par la suite, le signal mesuré subit deux types de normalisation :

- une normalisation par rapport à la puissance surfacique moyenne du laser de chauffage, différente pour chaque acquisition.
- une normalisation par rapport à l'amplitude de l'onde référence qui varie d'une acquisition à l'autre en raison de la variation de fréquence de modulation. En effet, pour obtenir une détection synchrone, la fréquence du signal de commande du MOA est ajustée pour chaque acquisition en fonction de la fréquence de modulation du faisceau de chauffage. Lorsque la fréquence de commande du MOA varie, l'efficacité de diffraction de celui-ci varie également ce qui modifie l'amplitude de l'onde de référence issue du premier ordre de diffraction.

Les variations du signal mesuré normalisé en fonction de la fréquence de modulation du laser à 532 nm sont représentées Fig.V.21 (points).

Nous avons développé une simulation permettant de déterminer qualitativement l'évolution du signal photothermique en fonction de la fréquence de modulation  $\Omega/2\pi$  du faisceau de chauffage. Pour ce faire, nous déterminons la section efficace d'absorption (Eq.I.42) d'une particule de diamètre  $d = 50 \text{ nm}$  plongée dans du PVA illuminée à  $\lambda = 532 \text{ nm}$  :

$$C_{abs}^{partic} = 4\pi \left(\frac{d}{2}\right)^3 \frac{2\pi n}{\lambda} \Im \left\{ \frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + 2\epsilon_m} \right\} = 6,4 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2 \quad (\text{V.23})$$

On détermine la puissance absorbée par la particule sachant que le faisceau de chauffage a une puissance surfacique incidente de  $P_{inc} = 3,2 \cdot 10^9 \text{ W.m}^{-2}$  :

$$P_{abs} = C_{abs}^{partic} P_{inc} = 2,6 \cdot 10^{-5} \text{ W} \quad (\text{V.24})$$

La puissance absorbée est indépendante de la fréquence de modulation du faisceau de chauffage dans la mesure où le temps de relaxation électron-phonon régissant le phénomène d'absorption est de l'ordre de la picoseconde [18] et donc beaucoup plus court que la période de modulation.

Nous considérons ensuite l'expression de l'élévation de température moyenne dans l'huile de paraffine :

$$\Delta T(\rho, f) = \frac{P_{abs}}{4\pi\kappa\rho} e^{-\frac{\rho}{r_{th}(\Omega)}} \quad (\text{V.25})$$

avec  $\kappa = 0,16 \text{ J.s}^{-1}.\text{K}^{-1}.\text{m}^{-1}$  dans l'huile. Cela nous permet de calculer la variation d'indice de réfraction du milieu induite par l'élévation de température sachant que  $\partial n/\partial T = 10^{-4}$  à longueur d'onde ( $\lambda = 785 \text{ nm}$ ) du faisceau sonde du système holographique :

$$\Delta n(\rho, \Omega) = \frac{\partial n}{\partial T} \Delta T(\rho, \Omega) \quad (\text{V.26})$$

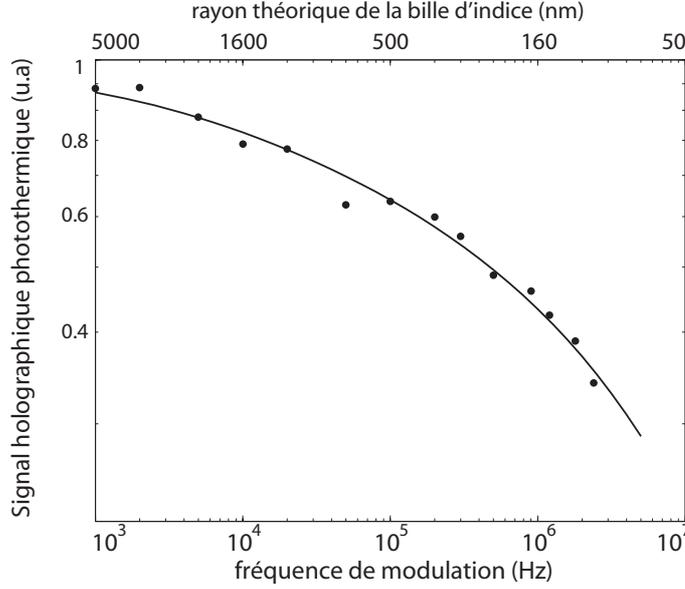


FIG. V.21 – Evolution du signal photothermique (en niveaux de gris) intégré sur la surface d'une particule de 50 nm en fonction de la fréquence de modulation du laser de chauffage. Les points représentent les résultats expérimentaux et la ligne pleine le résultat de la simulation de la diffusion par la bille d'indice.

Pour déterminer la variation moyenne d'indice de réfraction,  $\Delta n(\rho, \Omega)$  est moyennée du bord de la particule  $d/2$  jusqu'à la longueur caractéristique de diffusion  $r_{th}(\Omega)$  :

$$\Delta n_{moy}(\Omega) = \frac{1}{r_{th}(\Omega) - d/2} \int_{d/2}^{r_{th}(\Omega)} \Delta n(\rho, \Omega) d\rho \quad (\text{V.27})$$

Nous calculons ensuite la section efficace de diffusion (Eq.I.41) de la bille d'indice de rayon  $r_{th}(\Omega)$  et de permittivité diélectrique  $\epsilon_{bille}(\Omega) = n_{bille}(\Omega)^2$  avec  $n_{bille}(\Omega) = n_{huile} + \Delta n_{moy}(\Omega)$  ( $n_{huile} = 1,5$ ), illuminée par le faisceau sonde ( $\lambda = 785$  nm) pour différentes fréquences de modulation du laser de chauffage :

$$C_{diff}^{bille}(\Omega) = \frac{8}{3} \pi (r_{th}(\Omega))^6 \left( \frac{2\pi n}{\lambda} \right)^4 \left| \frac{\epsilon_{bille}(\Omega) - \epsilon_{huile}}{\epsilon_{bille}(\Omega) + 2\epsilon_{huile}} \right|^2 \quad (\text{V.28})$$

Le signal détecté est proportionnel à l'amplitude du champ diffusé, c.à.d. à la racine carrée de l'intensité du champ diffusé qui est elle-même directement proportionnelle à la section efficace de diffusion. Ainsi, le signal photothermique mesuré varie comme  $\sqrt{C_{diff}^{bille}(\Omega)}$  que nous avons représentée Fig.V.21 (ligne pleine). L'amplitude du signal simulée qualitativement est ajustée sur l'amplitude des mesures expérimentales.

Nous observons Fig.V.21 un très bon accord entre les résultats expérimentaux et la

simulation qualitative qui présentent un comportement de filtre passe-bas typique des phénomènes thermiques.

Les variations du signal photothermique expérimental sont dues aux instabilités des lasers vert et rouge comme pour l'étude en puissance.

Nous avons placé en parallèle de l'abscisse en fréquence, une abscisse en rayon de la bille d'indice  $r_{th}$ . Cette grandeur n'a pas pu être évaluée expérimentalement car, pour  $\Omega > 40$  kHz, la bille d'indice est de dimension sub-longueur d'onde : Nous imageons donc une tache de diffraction ne nous renseignant pas sur  $r_{th}$ .

### V.2.3.3 Conclusion

L'holographie photothermique permet d'imager un champ plus grand que l'imagerie photothermique hétérodyne avec un temps d'acquisition nettement inférieur. Il est donc envisageable de faire de l'imagerie d'objets en mouvement sur des surfaces ( $> 100 \mu\text{m}^2$ ) voire des volumes ( $10^3 \mu\text{m}^3$ ) importants.

Nous avons montré théoriquement et expérimentalement que le signal photothermique varie linéairement avec la puissance  $P_{chauf}$  du laser de chauffage et présente un comportement de type filtre passe-bas quand la fréquence  $\Omega$  de modulation de ce laser varie.

Nous allons, à présent évaluer les performances du dispositif d'holographie photothermique et les comparer à celles de l'imagerie photothermique hétérodyne.

### V.2.4 Performances du dispositif

Pour évaluer les performances du dispositif d'holographie photothermique en terme de sensibilité, nous avons imagé une particule de 10 nm en trois dimensions.

Ainsi, nous avons acquis une pile de 48 images sur 12 périodes de modulation photothermique de l'hologramme en vue d'imager une particule de 10 nm.

Le faisceau laser à 532 nm, de puissance moyenne 305 mW, est modulé en amplitude à 5 kHz et est très focalisé. Pour évaluer la surface de ce faisceau, nous avons procédé de la même manière que pour les particules de 50 nm Sec.V.2.3.1. Le diamètre mesuré de la tache laser valant  $5 \mu\text{m}$ , la puissance surfacique du faisceau de chauffage est  $15 \text{ MW.cm}^{-2}$ .

Nous présentons Fig.V.22(a) l'image reconstruite, après démodulation et filtrage spatial, d'une particule de 10 nm. Pour obtenir l'image en volume de la particule, l'image a été reconstruite dans des plans espacés d'un pas  $\Delta_z = 9.10^{-9}$  m, égal au pas d'échantillonnage par la caméra dans le plan  $(x, y)$ . Une coupe de ce volume le long de l'axe  $z$  suivant la ligne pointillée est représentée Fig.V.22(b). Les détails du diagramme de diffusion longitudinal ainsi obtenu sont à peine perceptibles.

Le RSB de cette image de particule de 10 nm vaut  $\approx 5420$  (sans unité). A l'aide d'une simulation du signal holographique photothermique prenant en compte les

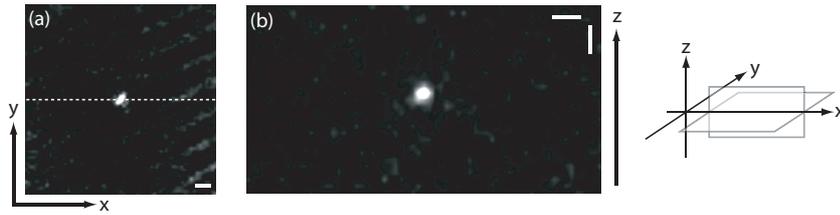


FIG. V.22 – Zoom de l'image photothermique reconstruite d'une particule de 10 nm de diamètre (a). Coupe xz du digramme de diffusion en 3D de la particule, suivant la ligne pointillée (b). Les barres d'échelle représentent  $1 \mu\text{m}$ .

conditions d'acquisition de cette image (puissance surfacique des lasers, diamètre de la particule, *etc*), nous avons évalué que nous devrions détecter une particule de  $\approx 2,4 \text{ nm}$  avec un RSB limite de 1 (sans unité), dans les mêmes conditions expérimentales. Pour détecter des particules de diamètres inférieur, il est envisageable d'augmenter la puissance surfacique du laser de chauffage. Bien que l'équipe du CP-MOH de Bordeaux ait montré que le signal ne sature pas pour une puissance du laser de chauffage élevée ( $> 1 \text{ MW.cm}^{-2}$ ) [36], il persiste un risque de provoquer des dommages irréversibles pour la particule [18, 138] et pour la matrice de PVA.

Avec la technique d'IPH, une particule de 10 nm est imagée avec un  $\text{RSB} > 100$  (sans unité) pour  $P_{\text{chauf}} = 500 \text{ kW.cm}^{-2}$ , soit une puissance surfacique trente fois inférieure à celle que nous avons utilisé pour imagier la même particule (10 nm dans du PVA). Si notre dispositif avait la même sensibilité de détection, nous devrions avoir un SNR de  $9.10^4$  pour la particule imagée Fig.V.22, soit une valeur 18 fois supérieure à celle obtenue expérimentalement. La sensibilité de la détection synchrone multiplexée est donc 18 fois moins bonne que celle de l'IPH. En effet, notre capteur est une caméra CCD dont la dynamique est limitée à  $2,5.10^5$  photo-électrons/pixels pour une acquisition, soit  $2,5.10^6$  photo-électrons/pixels/s pour un temps d'intégration de 100 ms, alors que les mono-détecteurs utilisés en IPH sont beaucoup moins limités en nombre de photons détectables par seconde : la transmission du signal capté par une photodiode est quasi-instantanée, contrairement à une caméra CCD qui stocke puis lit les photo-électrons. Ainsi, le faisceau sonde, hors de la bande plasmon de l'or, peut être intense en IPH ce qui n'est pas possible en holographie photothermique car nous sommes limités par la dynamique de la caméra. En contre partie, notre dispositif permet de faire de l'imagerie en volume de particules individuelles.

En conclusion, pour visualiser des particules de petites tailles, le laser de chauffage est focalisé et le champ imagé réduit ( $20 \mu\text{m}^2$ ) et équivalent à la surface imagée en IPH. En terme de sensibilité, l'holographie photothermique est nettement moins performante que l'IPH en raison de la dynamique limitée des capteurs CCD. A l'aide d'une simulation, le diamètre d'une particule imageable en holographie photothermique pour  $P_{\text{chauf}} = 15 \text{ MW.cm}^{-2}$  a été évalué à  $2,4 \text{ nm}$ .

### V.2.5 Conclusion sur l'holographie photothermique

L'holographie photothermique permet d'imager une surface importante ( $180 \mu\text{m}^2$ ) avec un excellent RSB ( $8.10^8$  sans unité) pour un temps d'acquisition relativement court (5 s) lorsqu'il s'agit de particules de dimensions relativement grandes ( $> 40 \text{ nm}$ ). Il est donc envisageable de faire de l'imagerie en volume de nano objets en mouvement. Lorsque la taille des particules diminue, il est nécessaire d'augmenter la puissance surfacique du laser de chauffage en augmentant la puissance émise ou en focalisant le faisceau laser. Pour des raisons techniques (puissance utile du laser à  $532 \text{ nm}$  limitée à  $1,1 \text{ W}$ ), le laser vert est focalisé et le champ imagé réduit ( $20 \mu\text{m}^2$ ) pour devenir équivalent à celui imagé en IPH. Dans ces conditions, il est envisageable d'imager le diagramme de diffusion en trois dimensions de particules de diamètre aussi petit que  $2,4 \text{ nm}$ . Néanmoins, la limite de la dynamique des capteurs CCD par rapport aux photodiodes rend la sensibilité de l'holographie photothermique 18 fois moins grande que celle de l'IPH. Ainsi, pour imager une particule de dimension donnée à RSB équivalent, l'holographie photothermique nécessite une puissance  $P_{\text{chauf}}$  bien plus élevé que l'IPH ce qui peut entraîner une détérioration de la particule.

## V.3 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons d'abord présenté des images (2D et 3D) obtenues avec le dispositif d'holographie hétérodyne hors axe en nous attelant à faire le lien avec les propriétés démontrées dans le chapitre sur la théorie de l'holographie. Après avoir montré l'intérêt de l'effet photothermique, nous avons exposé le dispositif d'holographie photothermique ainsi que les paramètres caractéristiques des images obtenues en les comparant à celles des techniques d'holographie non photothermique et d'imagerie photothermique hétérodyne. enté des images (2D et 3D) obtenues avec le dispositif d'holographie hétérodyne hors axe en nous attelant à faire le lien avec les propriétés démontrées dans le chapitre sur la théorie de l'holographie. Après avoir montré l'intérêt de l'effet photothermique, nous avons exposé le dispositif d'holographie photothermique ainsi que les paramètres caractéristiques des images obtenues en les comparant à celles des techniques d'holographie non photothermique et d'imagerie photothermique hétérodyne.

Nous proposons, à présent, un tableau récapitulatif (Tab.V.6) des grandes caractéristiques expérimentales de quatre techniques d'imagerie de nanoparticules d'or. Les valeurs présentées ici correspondent à des images de particules de  $50 \text{ nm}$  de diamètre.

D'après les valeurs de RSB accessibles, la microscopie fond noir permet à peine de détecter des particules de  $50 \text{ nm}$ . La méthode d'holographie hétérodyne hors axe permet d'améliorer le RSB d'un facteur  $10^2$  mais est limitée par le signal de fond provenant de diffuseurs parasites. La modulation photothermique permet d'augmenter d'un facteur  $10^3$  le RSB des images puisque la sélectivité de la détection vis à vis des particules d'or est accrue par rapport à l'holographie non photothermique. En effet, les diffu-

	RSB accessible	champ imagé ( $\mu\text{m}^2$ )	temps d'acquisition (s)	imagerie 3D
Microscopie Fond Noir	1,5	$2,5 \cdot 10^3$	5	non
Holographie Hétérodyne Hors Axe	$1,5 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^3$	5	oui
Holographie Photothermique	$1,5 \cdot 10^5$	177	5	oui
Imagerie Photothermique Hétérodyne	$2,7 \cdot 10^6$	25	> 70	non

TAB. V.6 – Tableau récapitulatif des paramètres caractéristiques de quatre techniques d'imagerie de nanoparticules.

seurs parasites, n'absorbant pas dans la bande plasmon de l'or, ne sont pas détectés. Enfin, la technique présentant le meilleur RSB accessible est l'imagerie photothermique hétérodyne grâce à l'absence de limitation de la dynamique des photodiodes par rapport aux caméras CCD que nous utilisons.

La microscopie fond noir et l'holographie hétérodyne hors axe sont, par définition, des techniques plein champ. D'après le capteur utilisé (caméra CCD), l'holographie photothermique est également une méthode plain champ néanmoins nous sommes contraint de réduire la surface imagée quand le diamètre de la particule décroît puisqu'il est nécessaire de focaliser le laser de chauffage pour augmenter la puissance surfacique de celui-ci. Seule l'imagerie photothermique hétérodyne est basé sur un balayage point à point de l'échantillon. C'est pourquoi elle ne permet pas d'imager des surfaces importantes et nécessite un temps d'acquisition nettement supérieur à celui des autres techniques.

Enfin, seules les techniques holographiques permettent l'imagerie en trois dimension du diagramme de diffusion d'une particules individuelle à partir d'une acquisition unique.

---

# Conclusion et perspectives

---

Durant ce travail de thèse, nous avons cherché à détecter et à caractériser des nanoparticules d'or plongées dans un substrat transparent. De tels petits objets présentent de faibles sections efficaces d'interaction avec la lumière. En effet, les sections efficaces de diffusion et d'absorption décroissent respectivement en  $d^6$  et en  $d^3$ , où  $d$  est le diamètre de la particule. Par ailleurs, pour de petites particules métalliques, un phénomène de résonance de plasmons de surface apparaît lorsque la fréquence du champ électromagnétique exciteur est proche de la fréquence d'oscillation propre des électrons de conduction du métal. Ce phénomène exalte l'interaction de la lumière avec les particules ce qui induit un accroissement de leurs sections efficaces.

Pour détecter et caractériser ces nano-objets, nous avons choisi de développer des instruments de microscopie optique en champ lointain. Comme les dimensions des nanoparticules sont inférieures à la longueur d'onde d'illumination, les images obtenues, bien que permettant une détection et une localisation, sont non résolues en raison de la limite de diffraction optique. Pour pallier les inconvénients des techniques d'imagerie par balayage de l'échantillon, nous avons conçu des dispositifs d'imagerie en plein champ permettant d'acquérir des images d'échantillons de surface importante (typiquement  $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ ) grâce à une caméra CCD. Comme le signal à détecter est très faible, les nanoparticules sont illuminées dans des configurations de type fond noir, soit via un dispositif en fond noir commercial, soit en réflexion totale interne, afin de détecter la lumière diffusée par l'échantillon, tout en évitant que l'onde excitatrice, de forte intensité comparée au signal utile, ne parvienne jusqu'au détecteur. Pour filtrer au mieux les signaux parasites, nous modulons le signal puis le détectons de manière synchrone sur tous les pixels de la caméra simultanément.

Pour le premier instrument que nous avons développé, le signal de diffusion des nanoparticules est modulé grâce à une modulation de la position de l'échantillon dans le plan perpendiculaire à l'axe optique. Dans un premier temps, les nanoparticules sont illuminées par une source incohérente et le signal détecté est proportionnel à l'intensité du champ diffusé, c.à.d. à la section efficace de diffusion variant en  $d^6$ . Avec un tel dispositif, nous avons détecté des particules de 30 nm de diamètre et en insérant un spectromètre imageur, nous avons mesuré le spectre de nanoparticules de 40 nm de diamètre sur une gamme de longueur d'onde variant de 430 à 740 nm.

Par la suite, les nanoparticules sont illuminées en lumière cohérente à la longueur d'onde de résonance plasmon de manière à maximiser le signal de diffusion et à accroître la sélectivité de la mesure envers les nanoparticules par rapport aux nano-diffuseurs parasites ne présentant pas de résonance de plasmons de surface. En raison du changement du type de source, le signal détecté est l'interférence entre le champ diffusé par les particules et le champ diffusé par le milieu et est donc directement proportionnel à l'amplitude du champ diffusé, c.à.d. à la racine carrée de la section efficace de diffusion qui varie comme  $d^3$ . Ainsi, avec un dispositif interférométrique, il est possible de détecter des nanoparticules de plus petites dimensions qu'avec un dispositif à source incohérente car le signal décroît moins rapidement avec le diamètre des particules. Grâce à ce changement de source, le dispositif basé sur une modulation spatiale nous a permis de détecter des nanoparticules de 10 nm de diamètre en illumination cohérente contre 30 nm en illumination incohérente, toutes choses égales par ailleurs.

En vue de faire de l'imagerie rapide en trois dimensions de nanoparticules d'or, nous avons développé un second type d'instrument basé sur le principe de l'holographie. Le signal est ici modulé en décalant la fréquence optique des bras signal et référence l'un par rapport à l'autre de façon à engendrer un battement de la figure d'interférence, ou hologramme, dans le plan du capteur. L'hologramme modulé est alors enregistré via un procédé de détection synchrone multiplexée, comme pour l'instrument en modulation spatiale. L'image est reconstruite à partir de l'hologramme suivant la méthode de convolution standard en filtrant les signaux parasites. En calculant cette image pour différentes distances de reconstruction, il est possible de reconstruire une image de l'échantillon en volume. Nous avons ainsi mesuré le diagramme de diffusion en trois dimensions d'une nanoparticule de 200 nm de diamètre à partir d'un unique hologramme. Dans la mesure où le bruit limitant la détection de nanoparticules d'or vient de la diffusion par le milieu et les nano-diffuseurs parasites, il n'est pas possible de le filtrer en holographie numérique hétérodyne. Ainsi, la sensibilité de ce dispositif est équivalente à celle du dispositif de modulation spatial en lumière cohérente.

Pour accroître la sensibilité de l'instrument d'holographie numérique hétérodyne, nous avons proposé de le coupler à une technique d'amplification du contraste basée sur l'effet photothermique. Pour ce faire, les particules sont éclairées par un faisceau à la longueur d'onde de résonance plasmon, de forte puissance qu'elles absorbent. L'énergie absorbée est alors convertie en chaleur qui diffuse dans le milieu environnant, ce qui modifie son indice de réfraction dans un volume limité par la longueur de diffusion thermique dans le milieu. La bille d'indice ainsi créée diffuse la lumière du faisceau sonde du dispositif d'holographie hétérodyne, de longueur d'onde hors de la bande de résonance plasmon. Le faisceau de chauffage est modulé en amplitude de façon à moduler l'indice de réfraction du milieu, ce qui décale la pulsation optique du signal. En ajustant les pulsations optiques des bras objet et référence, la figure d'interférence modulée est enregistrée suivant le même procédé de détection synchrone multiplexée que précédemment. Les nano-diffuseurs parasites ne présentant

pas d'accroissement de leur section efficace dans la bande de résonance plasmon de l'or, la technique d'holographie hétérodyne photothermique est très sélective envers les nanoparticules d'or. Pour caractériser ce nouvel instrument, nous avons analysé le signal photothermique détecté. Ainsi, nous avons déterminé qu'il varie linéairement en fonction de la puissance du faisceau de chauffage, sans effet de saturation à forte puissance, et qu'il se comporte comme un filtre passe-bas en fonction de la fréquence de modulation en amplitude du faisceau de chauffage. Avec ce dispositif nous avons imagé des particules de 10 nm de diamètre en trois dimensions avec un excellent rapport signal à bruit ( $> 5.10^3$ ) et nous envisageons donc d'imager des particules de diamètre allant jusqu'à 2, 4 nm.

Divers développements et applications sont envisagés pour les deux types d'instruments que nous avons développés. Grâce à l'holographie photothermique, des particules d'or de diamètres aussi petit que 5 nm sont localisables en trois dimensions même en présence d'un fond parasite diffusant important, comme c'est le cas dans l'étude d'échantillons biologiques. Ainsi, dans le cadre de l'ANR 3DNanoBioCell, nous envisageons de détecter des nanoparticules d'or fonctionnalisées et fixées sur la membrane ou dans les organites d'une cellule vivante permettant une imagerie fine de ces objets complexes puis nous nous proposons d'étudier les déformations d'une cellule soumise à une contrainte mécanique.

Les deux instruments holographiques photothermique et non photothermique développés autorisent une imagerie en volume de particules en mouvement. Par effet Doppler, les déplacements des objets imagés engendrent un décalage de la fréquence optique du faisceau sonde, proportionnel à la vitesse de l'objet. Ainsi, en ajustant le décalage en fréquence optique entre les bras sonde et référence à l'aide des modulateurs acousto-optiques, il est possible de sélectionner les objets détectés en fonction de leur vitesse de déplacement. A court terme, nous nous proposons d'imager des nanoparticules en suspension dans un fluide visqueux animées d'un mouvement brownien.

Comme nous l'avons vu en imageant le diagramme de diffusion d'une particule de 200 nm de diamètre, l'instrument d'holographie non photothermique permet une imagerie en volume de l'amplitude d'un champ diffusé avec une bonne définition dans les trois directions. Ainsi, nous souhaitons utiliser cet instrument pour étudier l'exaltation du champ diffusé engendrée par des nano-structures organisées de manière résonante, de type nano-antenne. Ces structures réagissant de manière variable en fonction de la longueur d'onde d'illumination, nous allons combiner les mesures en trois dimensions du diagramme d'émission à des mesures spectrales grâce au dispositif de spectroscopie basé sur une modulation spatiale.

A plus long terme, nous souhaitons utiliser le dispositif d'holographie non photothermique comme un microscope optique en champ proche à sondes multiples : Des nanoparticules seraient réparties de manière assez diluée à la surface de l'échantillon afin d'éviter les interférences entre les différents signaux et seraient animées d'un mouvement brownien qui leur permettrait de balayer toute la surface de l'échantillon à une grande échelle de temps. A une échelle de temps plus courte, correspondant aux

acquisitions, le barycentre de chaque particule serait localisé en trois dimensions et le champ évanescent local diffusé par chaque sonde serait enregistré en parallèle en plein champ.

---

# Annexe 1 : Fabrication des échantillons de nanoparticules d'or isolées disposées en film mince

---

Les échantillons sont préparés par spin-coating d'une solution de nanoparticules d'or dans de l'alcool polyvinyle (PVA) sur une lame de verre d'1 mm d'épaisseur. La concentration de la solution en nanoparticules et la vitesse de rotation de spin-coating ont été choisies de façon à ce que l'échantillon contienne moins d'une particule par  $\mu\text{m}^2$ . Ainsi, les taches d'Airy correspondant au signal diffusé par les particules ne se recouvrent pas. Pour les expériences de photothermie l'échantillon de particules d'or immobilisées dans le PVA est couvert d'huile de paraffine pour assurer une diffusion homogène de la chaleur.

## .1 Nettoyage des lames de verre

Dans la mesure où nous voulons détecter des nano-objets, il est indispensable que l'échantillon fabriqué ne contienne pas d'objets de mêmes dimensions ou de propriétés similaires aux nanoparticules d'or, comme des poussières, des résidus minéraux ou organiques. L'idéal serait donc de concevoir les échantillons en salle blanche. Cela n'a pas été le cas pour les expériences présentées dans cette thèse. Le substrat utilisé pour déposer les nanoparticules d'or est une lame de verre prénettoyée standard. Comme ces lames ne présentent que très peu de résidus organiques, il n'est pas nécessaire de les faire tremper dans de l'acide persulfurique ( $H_2SO_4$ ). Par contre, de nombreux résidus minéraux, résultant probablement de la découpe des plaques de verre, sont présents. Pour éliminer ces éléments diffusants de dimensions nanométriques à micrométriques, les lames de verre subissent trois rinçage successifs :

- Un premier à l'eau déionisée pour supprimer toutes les poussières et résidus minéraux.
- Un deuxième à l'éthanol pour éliminer les rares résidus organiques.
- Un dernier à l'eau déionisée pour éviter le dépôt de résidus d'éthanol.

Après ces rinçages, l'échantillon est séché à l'aide de tissu absorbant ne déposant pas de nouvelles poussières.

## .2 Nanoparticules d'or industrielles

Les nanoparticules d'or (BBI) sont en suspension dans l'eau avec un résidu de  $HAuCl_4$  (0.01% en concentration) issu du procédé de fabrication et présentent une distribution en taille de type gaussienne. Les paramètres caractéristiques de ces distributions sont présentés Tab.7 sept tailles de nanoparticules. La concentration en masse des colloïdes étant constante pour tous les diamètres de particules, le nombre de particules par mL croît quand le diamètre des particules diminue.

diamètre moyen (nm)	200	100	50	40	30	20	10
écart type	< 4 %	< 4 %	< 4 %	< 4 %	< 4 %	< 4 %	< 3 %
particules par mL	$7,0 \cdot 10^8$	$5,6 \cdot 10^9$	$4,5 \cdot 10^{10}$	$9,0 \cdot 10^{10}$	$2,0 \cdot 10^{11}$	$7,0 \cdot 10^{11}$	$9,7 \cdot 10^{12}$

TAB. 7 – Valeur moyenne et écart type (en pourcentage du diamètre moyen) de la distribution gaussienne du diamètre des nanoparticules d'or BBI.

## .3 Matrice d'alcool polyvinyle (PVA)

Afin de supprimer les mouvements browniens des particules en suspension dans l'eau, elles sont fixées dans une matrice solide d'alcool polyvinyle qui présente des propriétés chimiques et optiques appropriées à nos expériences. En effet, la solution d'alcool polyvinyle est conçue par dissolution de poudre d'alcool polyvinyle dans de l'eau (1% en masse) en chauffant ( $\approx 90^\circ$ ). Cette solution étant aqueuses, les particules en suspension dans l'eau se dispersent aisément via à un agitateur électrique. Une fois séché, le PVA à température ambiante présente un indice optique très proche de celui du verre ( $n = 1.50$ ) ce qui permet de minimiser les réflexions parasites à l'interface PVA-verre.

Pour obtenir un nombre à peu près constant de particules d'or par mL ( $\approx 4 \cdot 10^8$ ) quel que soit leur diamètre, la solution mère de particules est diluée à différentes concentrations volumiques dans la solution de PVA.

## .4 Spin-coating et conservation des échantillons

Une goutte de  $40 \mu\text{L}$  est étalée par spin-coating sur la lame de verre puis séchée à l'air libre. l'épaisseur du film de PVA est évaluée expérimentalement entre 50 et 100 nm

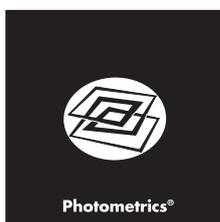
Les échantillons ainsi préparés sont rangés dans des boîtes à lames préalablement nettoyées au l'Argon sous pression et scellées par un film de paraffine pour éviter tout échange avec l'extérieur et conservés à l'abri de la lumière. Dans ces conditions de conservation, le PVA vieillit peu et les échantillons peuvent être utilisés plus d'un mois après leur conception.



---

**Annexe 2 : Documentation caméra  
Ropper Cascade 512F**

---



## Cascade:512F

512 x 512 imaging array  
16 x 16- $\mu$ m pixels



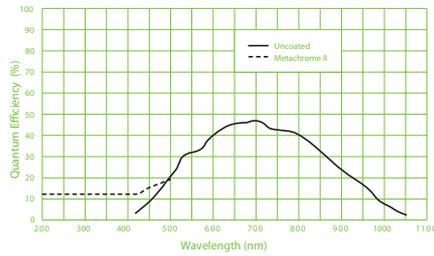
The Photometrics<sup>®</sup> Cascade:512F digital imaging system from Roper Scientific<sup>®</sup> offers very high sensitivity through the use of on-chip multiplication gain. A 512 x 512-pixel array (16 x 16- $\mu$ m pixels) enhances this sensitivity, while providing good field of view. The 16-bit, thermoelectrically cooled system can be operated at 10 MHz for high-speed image visualization or more slowly for high-precision photometry. Supravidéo frame rates are achievable via subregion readout. The camera can be configured with dual amplifiers in order to ensure optimal performance not only for applications that demand high sensitivity (e.g., single-molecule fluorescence), but also for those requiring wide dynamic range (e.g., standard live-cell fluorescence).

Features	Benefits
On-chip multiplication gain	Very high sensitivity Low-noise, impact-ionization process
512 x 512 imaging array 16 x 16- $\mu$ m pixels	Good field of view and sensitivity Good resolution
10-MHz readout 5- and 1-MHz readout	Excellent for high-speed image visualization Perfect for high-precision photometry
Dual amplifiers*	Select readout mode via software for optimized (1) high-speed / high-sensitivity performance or (2) wide-dynamic-range performance
16-bit digitization	Good dynamic range allows detection of both bright and dim signals in the same image
Frame-transfer CCD	100% duty cycle to collect continuous data No mechanical shutter required
Thermoelectric cooling	Reduces background for high sensitivity
C-mount	Easily attaches to microscopes, standard lenses, or optical equipment
PCI interface	Works with Windows <sup>®</sup> (98SE and later) and Mac operating systems
Enhanced PVCAM <sup>™</sup> Circular buffers Device sequencing	Compatibility with numerous third-party software packages Provides real-time focus Enables precise integration with shutters, filter wheels, etc.

\*The camera is also available in a configuration that features an "on-chip multiplication gain" amplifier only.

Cascade512F Rev C0



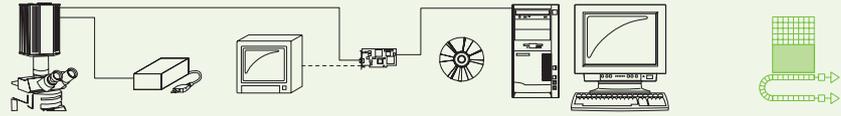


Binning	Region			
	512 x 512	256 x 256	128 x 128	64 x 64
1 x 1	27	49	81	121
2 x 2	48	81	121	161
4 x 4	81	122	165	194
6 x 6	106	147	185	210

(Frames per second)

Note: Frame rates are measured at 10 MHz with 0-second exposure times.

Specifications		
CCD image sensor	E2V CCD87; front-illuminated, frame-transfer CCD with on-chip multiplication gain; available with Metachrome II UV-enhancement coating	
CCD format	512 x 512 imaging pixels; 16 x 16-µm pixels; 8.2 x 8.2-mm imaging area (optically centered)	
Linear full well single pixel output node	250 ke- 800 ke- ("on-chip multiplication gain" amplifier)	
Readout bits/speed	16 bits @ 10 MHz, 5 MHz, and 1 MHz	
Read noise	"On-chip multiplication gain" amplifier (port #1)	"Traditional" amplifier (port #2)
	~45 e- rms @ 5 MHz ~60 e- rms @ 10 MHz Read noise effectively reduced to <1 e- rms with on-chip multiplication gain enabled	~10 e- rms @ 1 MHz ~15 e- rms @ 5 MHz
On-chip multiplication gain	1 to 500x (guaranteed) 1 to 1,000x (typical) Software controlled in 4,096 steps	Not applicable
Parallel (vertical) shift rate	1.6 µsec/row	
CCD temperature	-30°C (regulated)	
Dark current	1.0 e-/p/s @ -30°C	
Binning	Flexible binning capabilities in parallel direction; 1, 2, 3, 4, 5, and 6 binning in serial direction	
Video output	RS170/PAL selectable	
Operating environment	0 to 30°C ambient, 0 to 80% relative humidity noncondensing	



Note: Specifications are subject to change.

When you're **SERIOUS** about high-performance imaging...

www.roperscientific.com    USA East Coast 609.587.9797    USA West Coast 520.889.9933    Benelux +31.347.324989  
 France +33.160.86.03.65    Germany +49.89.660.779.3    Japan +81.43.274.8022

Cascade:512F Rev C0



---

# Bibliographie

---

- [1] JM Robinson, T. Takizawa, and DD Vandre. Applications of gold cluster compounds in immunocytochemistry and correlative microscopy : comparison with colloidal gold. *Journal of Microscopy*, 199(3) :163–179, 2000.
- [2] WE Moerner and M. Orrit. Illuminating Single Molecules in Condensed Matter. *Science*, 283(5408) :1670, 1999.
- [3] M. Bruchez Jr, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, and A.P. Alivisatos. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. *Science*, 281(5385) :2013, 1998.
- [4] W.C.W. Chan and S. Nie. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science*, 281(5385) :2016, 1998.
- [5] M. Nirmal, BO Dabbousi, MG Bawendi, JJ Macklin, JK Trautman, TD Harris, and LE Brus. Fluorescence intermittency in single cadmium selenide nanocrystals. *Nature*, 383(6603) :802–804, 1996.
- [6] G.A. Mie. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik*, 25 :377–445, 1908.
- [7] H.C. van de Hulst. *Light Scattering by Small Particles*. Courier Dover Publications, 1981.
- [8] M. Salerno, JR Krenn, B. Lamprecht, G. Schider, H. Ditlbacher, N. Felidj, A. Leitner, and FR Aussenegg. Plasmon polaritons in metal nanostructures : the optoelectronic route to nanotechnology. *Opto-Electron. Rev*, 10(3) :217–224, 2002.
- [9] W.L. Barnes, Derieux A., and Ebbessen T.W. Surface plasmon subwavelength optics. *Nature*, 424 :824–830, 2003.
- [10] Y.H. Liao, A.N. Unterreiner, Q. Chang, and N.F. Scherer. Ultrafast Dephasing of Single Nanoparticles Studied by Two-Pulse Second-Order Interferometry. *Journal of physical chemistry B*, 105(11) :2135–2142, 2001.
- [11] D. Yelin, D. Oron, S. Thiberge, E. Moses, and Y. Silberberg. Multiphoton plasmon-resonance microscopy. *Optics Express*, 11(12) :1385–1391, 2003.

- [12] J. Nappa, G. Revillod, I. Russier-Antoine, E. Benichou, C. Jonin, and PF Brevet. Electric dipole origin of the second harmonic generation of small metallic particles. *Physical Review B*, 71(16) :165407, 2005.
- [13] H. Ditlbacher, B. Lamprecht, A. Leitner, and FR Aussenegg. Spectrally coded optical data storage by metal nanoparticles. *Optics Letters*, 25(8) :563–565, 2000.
- [14] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R.R. Dasari, and M.S. Feld. Surface-enhanced Raman scattering and biophysics. *Journal of Physics Condensed Matter*, 14(18) :597–597, 2002.
- [15] H.G. Boyen, G. Kastle, F. Weigl, B. Koslowski, C. Dietrich, P. Ziemann, JP Spatz, S. Riethmuller, C. Hartmann, M. Moller, et al. Oxidation-Resistant Gold-55 Clusters. *Science*, 297(5586) :1533–1536, 2002.
- [16] J. Yguerabide and E.E. Yguerabide. Light-Scattering Submicroscopic Particles as Highly Fluorescent Analogs and Their Use as Tracer Labels in Clinical and Biological Applications II. Experimental Characterization. *Analytical Biochemistry*, 262(2) :157–176, 1998.
- [17] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sonnichsen, TA Klar, J. Feldmann, A. Nichtl, and K. Kurzinger. Biomolecular recognition based on single gold nanoparticle light scattering. *Nano Lett*, 3(7) :935–938, 2003.
- [18] S. Link and M.A. El-Sayed. Optical Properties and Ultrafast Dynamics of Metallic Nanocrystals. *Annual Reviews in Physical Chemistry*, 54(1) :331–366, 2003.
- [19] C. Voisin, N. Del Fatti, D. Christofilos, and F. Vallee. Ultrafast Electron Dynamics and Optical Nonlinearities in Metal Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry A*, 105(12) :2264–2280, 2001.
- [20] G.V. Hartland. Measurements of the material properties of metal nanoparticles by time-resolved spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 6(23) :5263–5274, 2004.
- [21] J. Gelles, B.J. Schnapp, and M.P. Sheetz. Tracking kinesin-driven movements with nanometre-scale precision. *Nature*, 331(6155) :450–453, 1988.
- [22] S. Schultz, D.R. Smith, J.J. Mock, and D.A. Schultz. Single-target molecule detection with nonbleaching multicolor optical immunolabels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(3) :996–1001, 2000.
- [23] A. Curry, G. Nusz, A. Chilkoti, and A. Wax. Substrate effect on refractive index dependence of plasmon resonance for individual silver nanoparticles observed using darkfield microspectroscopy. *Optics Express*, 13(7) :2668–2677, 2005.
- [24] C. Sönnichsen, S. Geier, NE Hecker, G. von Plessen, J. Feldmann, H. Ditlbacher, B. Lamprecht, JR Krenn, FR Aussenegg, V.Z.H. Chan, et al. Spectroscopy of single metallic nanoparticles using total internal reflection microscopy. *Applied Physics Letters*, 77 :2949, 2000.

- [25] A.D. McFarland and R.P. Van Duyne. Single silver nanoparticles as real-time optical sensors with zeptomole sensitivity. *Nano Lett*, 3(8) :1057–1062, 2003.
- [26] KH Su, QH Wei, X. Zhang, JJ Mock, DR Smith, and S. Schultz. Interparticle coupling effects on plasmon resonances of nanogold particles. *Nano Lett*, 3(8) :1087–1090, 2003.
- [27] K. Lindfors, T. Kalkbrenner, P. Stoller, and V. Sandoghdar. Detection and Spectroscopy of Gold Nanoparticles Using Supercontinuum White Light Confocal Microscopy. *Physical Review Letters*, 93(3) :37401, 2004.
- [28] OL Muskens, N. Del Fatti, F. Vallée, JR Huntzinger, P. Billaud, and M. Broyer. Single metal nanoparticle absorption spectroscopy and optical characterization. *Applied Physics Letters*, 88 :063109, 2006.
- [29] W. Rechberger, A. Hohenau, A. Leitner, JR Krenn, B. Lamprecht, and FR Ausenegg. Optical properties of two interacting gold nanoparticles. *Optics Communications*, 220(1-3) :137–141, 2003.
- [30] C. Sönnichsen, B.M. Reinhard, J. Liphardt, and A.P. Alivisatos. A molecular ruler based on plasmon coupling of single gold and silver nanoparticles. *Nature Biotechnology*, 23 :741–745, 2005.
- [31] P. Billaud, S. Marhaba, E. Cottancin, L. Arnaud, G. Bachelier, C. Bonnet, N. Del Fatti, J. Lermé, F. Vallée, JL Vialle, et al. Correlation between the Extinction Spectrum of a Single Metal Nanoparticle and Its Electron Microscopy Image. *J. Phys. Chem. C*, 112 :978–982, 2008.
- [32] A.J. Haes and R.P. Van Duyne. A unified view of propagating and localized surface plasmon resonance biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379(7) :920–930, 2004.
- [33] D.A. Schultz. Plasmon resonant particles for biological detection. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(1) :13–22, 2003.
- [34] A. Arbouet, D. Christofilos, N. Del Fatti, F. Vallée, JR Huntzinger, L. Arnaud, P. Billaud, and M. Broyer. Direct Measurement of the Single-Metal-Cluster Optical Absorption. *Physical Review Letters*, 93(12) :127401, 2004.
- [35] T. Plakhotnik and V. Palm. Interferometric Signatures of Single Molecules. *Physical Review Letters*, 87(18) :183602, 2001.
- [36] S. Berciaud, D. Lasne, G.A. Blab, L. Cognet, and B. Lounis. Photothermal heterodyne imaging of individual metallic nanoparticles : Theory versus experiment. *Physical Review B*, 73(4) :45424, 2006.
- [37] D. Boyer, P. Tamarat, A. Maali, B. Lounis, and M. Orrit. Photothermal Imaging of Nanometer-Sized Metal Particles Among Scatterers. *Science*, 297(5584) :1160–1163, 2002.
- [38] F.V. Ignatovich and L. Novotny. Real-Time and Background-Free Detection of Nanoscale Particles. *Physical Review Letters*, 96(1) :13901, 2006.

- [39] S. Berciaud, L. Cognet, G.A. Blab, and B. Lounis. Photothermal Heterodyne Imaging of Individual Nonfluorescent Nanoclusters and Nanocrystals. *Physical Review Letters*, 93(25) :257402, 2004.
- [40] M.A. van Dijk, M. Lippitz, and M. Orrit. Detection of Acoustic Oscillations of Single Gold Nanospheres by Time-Resolved Interferometry. *Physical Review Letters*, 95(26) :267406, 2005.
- [41] H.C. van de Hulst. On the attenuation of plane waves by obstacles of arbitrary size and form. *Physica*, 15(8-9) :740–746, 1949.
- [42] M. Born and E. Wolf. *Principles of Optics : Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light*. Cambridge University Press, 1999.
- [43] J. Lermé, G. Bachelier, P. Billaud, C. Bonnet, M. Broyer, E. Cottancin, S. Marhaba, and M. Pellarin. Optical response of a single spherical particle in a tightly focused light beam : application to the spatial modulation spectroscopy technique. *Journal of the Optical Society of America A*, 25(2) :493–514, 2008.
- [44] V. Jacobsen, P. Stoller, C. Brunner, V. Vogel, and V. Sandoghdar. Interferometric optical detection and tracking of very small gold nanoparticles at a water-glass interface. *Optics Express*, 14(1) :405–414, 2006.
- [45] M. De Brabander, R. Nuydens, G. Geuens, M. Moeremans, and J. De Mey. The use of submicroscopic gold particles combined with video contrast enhancement as a simple molecular probe for the living cell. *Cell Motil Cytoskeleton*, 6(2) :105–113, 1986.
- [46] M. Gross and M. Atlan. Digital holography with ultimate sensitivity. *Optics Letters*, 32(8) :909–911, 2007.
- [47] J.R. Lakowicz, Shen B., Z. Gryczynski, S. d’Auria, and I. Gryczynski. Intrinsic fluorescence from DNA can be enhanced by metallic particles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 286 :875–879, 2001.
- [48] N. Zheludev, M. Stockman, and A. Zayats. Special issue on fundamental aspects of nanophotonics. *Journal of Optics A : Pure and Applied Optics*, 8 :4, 2006.
- [49] D.G. Cahill, K. Goodson, and A. Majumbar. Thermometry and thermal transport in micro/nanoscale solid-state devices and structures. *Journal of Heat Transfer*, 124 :233–241, 2002.
- [50] C.F. Bohren and D.R. Huffman. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley-VCH, 1983.
- [51] J.W.S. Rayleigh. *Scientific Papers*. University Press, 1920.
- [52] C. Kittel. *Physique de l’état solide*. Dunod Université, 1983.
- [53] <http://ee.byu.edu/photronics/tabulatedopticalconstants.phtml>.
- [54] B.D. Palik. *Hanbook of Optical Constants of Solids*. Academic Press, 1985.
- [55] B. Palpant. *Lumières sur les nanoparticules d’or : réponse optique, réponse thermique*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie, 2008.

- 
- [56] M. Sheik-Bahae, AA Said, T.H. Wei, DJ Hagan, and EW Van Stryland. Sensitive measurement of optical nonlinearities using a single beam. *Quantum Electronics, IEEE Journal of*, 26(4) :760–769, 1990.
- [57] M. Falconieri and G. Salvetti. Simultaneous measurement of pure-optical and thermo-optical nonlinearities induced by high-repetition-rate, femtosecond laser pulses : application to CS 2. *Applied Physics B : Lasers and Optics*, 69(2) :133–136, 1999.
- [58] S. Debrus, J. Lafait, M. May, N. Pinçon, D. Prot, C. Sella, and J. Venturini. Z-scan determination of the third-order optical nonlinearity of gold : silica nanocomposites. *Journal of Applied Physics*, 88 :4469, 2000.
- [59] M. Rashidi Huyeh. *Influence des effets thermiques sur la réponse optique de matériaux nanocomposites métal-diélectrique*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), 2006.
- [60] <http://en.wikipedia.org/wiki/plasmon>.
- [61] [http://en.wikipedia.org/wiki/surface\\_plasmon\\_resonance](http://en.wikipedia.org/wiki/surface_plasmon_resonance).
- [62] K.L. Kelly, B. Coronado, L.L. Zhao, and G.C. Schatz. The optical properties of metal nanoparticles : the influence of size, shape, and dielectric environment. *J. Phys. Chem. B*, 107 :668–677, 2003.
- [63] J. D. Jackson. *Electrodynamique classique - Cours et Exercices d'Electromagnétisme*. Dunod, 2001.
- [64] F. Enguehard. *cours sur les nanocomposites*, 2008.
- [65] M.F. Modest. *Radiative Heat Transfer*. Academic Press, 2003.
- [66] M.A. Dijk, AL Tchegotareva, M. Orrit, M. Lippitz, S. Berciaud, D. Lasne, L. Cognet, and B. Lounis. Absorption and scattering microscopy of single metal nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8(30) :3486–3495, 2006.
- [67] U. Kreibig and M. Vollmer. *Optical Properties of Metal Clusters*. Springer, 1995.
- [68] U. Kreibig and MD Vollmer. *Handbook of Optical Properties - Vol II : Optics of Small Particles, Interfaces and Surfaces*, 1997.
- [69] PB Johnson and RW Christy. Optical Constants of the Noble Metals. *Physical Review B*, 6 :4370–4379, 1972.
- [70] U. Kreibig. Electronic properties of small silver particles : the optical constants and their temperature dependence. *Journal of Physics F : Metal Physics*, 4 :999–1014, 1974.
- [71] Murphy and B. Douglas. *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*. New York, 2001.
- [72] <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/darkfield.html>.
- [73] <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/darkfield.html>.
- [74] Bernard Balland. *Optique Géométrique : Imagerie et Instruments*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 2007.
-

- [75] J. Goodman. *Introduction to Fourier Optics*. Mc Graw-Hill, 1996.
- [76] C. J. R. Sheppard and H. J. Matthews. Imaging in high-aperture optical systems. *Journal Of The Optical Society Of America A-Optics Image Science And Vision*, 4(8) :1354–1360, 1987.
- [77] P. Gleyzes. *Contribution à l'amélioration de la résolution en microscopie optique*. PhD thesis, ESPCI, 1993.
- [78] S. Grauby. *Imagerie photothermique de photoréfectance haute fréquence*. PhD thesis, ESPCI, 2000.
- [79] P. Gleyzes, F. Guernet, and AC Boccara. Picometric profilometry. II. Multidetector approach and multiplexed lock-in detection. *Journal of Optics*, 26 :251–265, 1995.
- [80] [http://www.esiee.fr/~francaio/enseignement/dsynch/i4\\_dsync.pdf](http://www.esiee.fr/~francaio/enseignement/dsynch/i4_dsync.pdf).
- [81] K. Creath. Phase-measurement interferometry techniques. *Progress in optics*, 26 :349–393, 1988.
- [82] BV Dorrio and JL Fernandez. Phase-evaluation methods in whole-field optical measurement techniques. *Meas. Sci. Technol*, 10 :R33–R55, 1999.
- [83] A. Oppenheim and R. Shafer. *Digital Signal Processing*. NJ, 1975.
- [84] Guillaume Jérusalem. *Imagerie photothermique haute résolution de circuits intégrés en fonctionnement par thermoréfectance*. PhD thesis, ESPCI, 2005.
- [85] L. Cognet, C. Tardin, D. Boyer, D. Choquet, P. Tamarat, and B. Lounis. Single metallic nanoparticle imaging for protein detection in cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20) :11350, 2003.
- [86] D. Lasne, G.A. Blab, S. Berciaud, M. Heine, L. Groc, D. Choquet, L. Cognet, and B. Lounis. Single Nanoparticle Photothermal Tracking (SNaPT) of 5-nm Gold Beads in Live Cells. *Biophysical Journal*, 91(12) :4598, 2006.
- [87] A. Dubois, K. Grieve, G. Moneron, R. Lecaque, L. Vabre, and C. Boccara. Ultrahigh-Resolution Full-Field Optical Coherence Tomography. *Applied Optics*, 43(14) :2874–2883, 2004.
- [88] A. Dubois and C. Boccara. Full-field OCT. *Med Sci (Paris)*, 22(10) :859–64, 2006.
- [89] S. Grauby, BC Forget, S. Holé, and D. Fournier. High resolution photothermal imaging of high frequency phenomena using a visible charge coupled device camera associated with a multichannel lock-in scheme. *Review of Scientific Instruments*, 70 :3603, 1999.
- [90] G. Tessier, S. Pavageau, B. Charlot, C. Filloy, D. Fournier, B. Cretin, S. Dilhaire, S. Gomes, N. Trannoy, P. Vairac, et al. Quantitative Thermorefectance Imaging : Calibration Method and Validation on a Dedicated Integrated Circuit. *Components and Packaging Technologies, IEEE Transactions on [see also Components, Packaging and Manufacturing Technology, Part A : Packaging Technologies, IEEE Transactions on]*, 30(4) :604–608, 2007.

- 
- [91] <http://www.microscopy.com/articles/digitalimaging/ccdintro.html>.
- [92] N. Del Fatti, D. Christofilos, and F. Vallee. Optical response of a single gold nanoparticle. *Gold Bulletin*, 41(2) :147–158, 2008.
- [93] JC Bacri, A. Cebers, A. Bourdon, G. Demouchy, BM Heegaard, and R. Perzynski. Forced Rayleigh Experiment in a Magnetic Fluid. *Physical Review Letters*, 74(25) :5032–5035, 1995.
- [94] E. Absil, G. Tessier, D. Fournier, M. Gross, and M. Atlan. Full Field Imaging and Spectroscopy of Individual Gold Nanoparticles. *The European Physical Journal, Applied Physics*, 43 :155–158, 2008.
- [95] <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/sources.html>.
- [96] F. Chasles, B. Dubertret, and AC Boccara. Full field optical sectioning and 3D localization of fluorescent particles using focal plane modulation. *Optics Letters*, 31 :1274–1276, 2006.
- [97] D. Gabor. A New Microscopic Principle. *Nature*, 161 :777–778, 1948.
- [98] E.N. Leith and J. Upatnieks. Reconstructed wavefronts and communication theory. *J. Opt. Soc. Am*, 52(10) :1123–1130, 1962.
- [99] M.A. Konrod, N.S. Merzyakov, and L.P. Yaroslavskii. Reconstruction of a hologram with a computer. *Soviet Physics Technical Physics*, 17 :333–334, 1972.
- [100] U. Schnars and W. Juptner. Direct recording of holograms by a CCD target and numerical reconstruction. *Appl. Opt*, 33(2) :179–181, 1994.
- [101] F. Kerboull Le Clerc. *Holographie numérique hétérodyne : application à l'optique physique et à l'étude des milieux diffusants*. PhD thesis, Ecole Normale Supérieure - UPMC, 2001.
- [102] RJ Collier, CB Burkhart, and LH Lin. *Optical Holography - Section 8.5*. San Diego, CA : Academic, 1971.
- [103] E. N. Leith and J. Upatnieks. Wavefront Reconstruction with Diffused Illumination and 3-Dimensional Objects. *Journal of the Optical Society of America*, 54 :1295–1300, 1964.
- [104] W.H. Press. *Numerical Recipes in Pascal : The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, 1989.
- [105] JW Goodman and RW Lawrence. Digital Image Formation from Electronically Detected Holograms. *Applied Physics Letters*, 11 :77, 2004.
- [106] C. Gorecki, editor. *Methods of digital holography : a comparison*, volume 3098 of *Optical Inspection and Micromasurements II*. Kreis, T. and Adams, M. and Juptner, W., Proceedings SPIE, 1997. pages : 224–233.
- [107] M. Atlan. *Imagerie Optique Cohérente de Milieux Diffusants*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 2005.
- [108] <http://scienceworld.wolfram.com/physics/fresnel-kirchhoffdiffractionintegral.html>.
-

- [109] I. Yamaguchi and T. Zhang. Phase-shifting digital holography. *Optics Letters*, 22(16) :1268–1270, 1997.
- [110] [http://prn1.univ-lemans.fr/prn1/siteheberge/optique/m10g1\\_ppicart/co/m10g1.html](http://prn1.univ-lemans.fr/prn1/siteheberge/optique/m10g1_ppicart/co/m10g1.html).
- [111] I. Yamaguchi, J. Kato, S. Ohta, and J. Mizuno. Image Formation in Phase-Shifting Digital Holography and Applications to Microscopy. *Appl. Opt.*, 40 :6177–6186, 2001.
- [112] U. Schnars. Direct phase determination in hologram interferometry with use of digitally recorded holograms. *J. Opt. Soc. Am. A*, 11(7) :2011–2015, 1994.
- [113] T. Kreis. Interferometry in Speckle Light : Theory and Applications : Proceedings of the International Conference 25-28 September 2000, Lausanne, Switzerland. pages 205–212, 2000. Digital holography for metrologic applications.
- [114] M. Atlan, M. Gross, and E. Absil. Noise and aliases in off-axis and phase-shifting holography. *Applied Optics*, 47(11) :1757–1766, 2008.
- [115] E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge, et al. Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography. *Appl. Opt.*, 39(23) :4070–4075, 2000.
- [116] [http://prn1.univ-lemans.fr/prn1/siteheberge/optique/m10g1\\_ppicart/co/contenu\\_09.html](http://prn1.univ-lemans.fr/prn1/siteheberge/optique/m10g1_ppicart/co/contenu_09.html).
- [117] P. Picart and J. Leval. General theoretical formulation of image formation in digital Fresnel holography. *JOSA A*, 25 :1744–1761, 2008.
- [118] <http://fr.wikipedia.org/wiki/binning>.
- [119] M. Atlan, M. Gross, and E. Absil. Accurate phase-shifting digital interferometry. *Optics Letters*, 32(11) :1456–1458, 2007.
- [120] [http://en.wikipedia.org/wiki/acousto-optic\\_modulator](http://en.wikipedia.org/wiki/acousto-optic_modulator).
- [121] [http://fr.wikipedia.org/wiki/r%C3%A9seau\\_de\\_bragg](http://fr.wikipedia.org/wiki/r%C3%A9seau_de_bragg).
- [122] [http://fr.wikipedia.org/wiki/modulateur\\_acousto-optique](http://fr.wikipedia.org/wiki/modulateur_acousto-optique).
- [123] <http://www.physique.ens-cachan.fr/pagregp/enseignement/optique/acousto-optique.pdf>.
- [124] J. Hwang and WE Moerner. Interferometry of a single nanoparticle using the Gouy phase of a focused laser beam. *Optics Communications*, 280(2) :487–491, 2007.
- [125] JS Batchelder and MA Taubenblatt. Interferometric detection of forward scattered light from small particles. *Applied Physics Letters*, 55 :215, 1989.
- [126] W. Lukosz. Light emission by multipole sources in thin layers. I. Radiation patterns of electric and magnetic dipoles. *J. Opt. Soc. Am.*, 71 :744–754, 1981.
- [127] <http://www.upscale.utoronto.ca/generalinterest/harrison/machzehnder/machzehnder.html>.
- [128] D. Patra, I. Gregor, J. Enderlein, and M. Sauer. Defocused imaging of quantum-dot angular distribution of radiation. *Applied Physics Letters*, 87 :101103, 2005.
- [129] M. Speidel, A. Jonáš, and E.L. Florin. Three-dimensional tracking of fluorescent nanoparticles with subnanometer precision by use of off-focus imaging. *Optics Letters*, 28(2) :69–71, 2003.

- [130] J. Mertz. Radiative absorption, fluorescence, and scattering of a classical dipole near a lossless interface : a unified description. *Journal of the Optical Society of America B*, 17(11) :1906–1913, 2000.
- [131] <http://www.olympusmicro.com/primer/>.
- [132] C. Sönnichsen, T. Franzl, T. Wilk, G. von Plessen, J. Feldmann, O. Wilson, and P. Mulvaney. Drastic Reduction of Plasmon Damping in Gold Nanorods. *Physical Review Letters*, 88(7) :77402, 2002.
- [133] T. Kalkbrenner, U. Hakanson, and V. Sandoghdar. Tomographic plasmon spectroscopy of a single gold nanoparticle. *Nano Lett*, 4(12) :2309–2314, 2004.
- [134] JP Wilcoxon, JE Martin, F. Parsapour, B. Wiedenman, and DF Kelley. Photoluminescence from nanosize gold clusters. *The Journal of Chemical Physics*, 108 :9137, 1998.
- [135] E. Dulkeith, T. Niedereichholz, TA Klar, J. Feldmann, G. von Plessen, DI Gittins, KS Mayya, and F. Caruso. Plasmon emission in photoexcited gold nanoparticles. *Physical Review B*, 70(20) :205424, 2004.
- [136] [http://omlc.ogi.edu/calc/mie\\_calc.html](http://omlc.ogi.edu/calc/mie_calc.html).
- [137] E. Durand and T. Electrostatique III. *Méthodes de calcul diélectriques*. Masson, 1966.
- [138] A. Takami, H. Kurita, and S. Koda. Laser-Induced Size Reduction of Noble Metal Particles. *Journal of Physical Chemistry B*, 103 :1226–1232, 1999.