



HAL
open science

Étude de l'interaction rayonnement-matière en champ proche de nanostructures par microscopie de fluorescence super-résolue.

Guillaume Blanquer

► **To cite this version:**

Guillaume Blanquer. Étude de l'interaction rayonnement-matière en champ proche de nanostructures par microscopie de fluorescence super-résolue.. Physique [physics]. Université Paris sciences et lettres, 2019. Français. NNT : 2019PSLET042 . tel-02917077

HAL Id: tel-02917077

<https://pastel.hal.science/tel-02917077>

Submitted on 18 Aug 2020

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.



THÈSE DE DOCTORAT

DE L'UNIVERSITÉ PSL

Préparée à l'ESPCI de la ville de Paris.

Institut Langevin: Ondes et Images.

**Étude de l'interaction rayonnement-matière en champ
proche de nanostructures par microscopie de fluorescence
super-résolue**

Soutenue par

Guillaume Blanquer

Le 16 12 2019

École doctorale n°564

Physique en Île-de-France

Spécialité

Physique

Composition du jury :

Sandrine LEVEQUE-FORT

Directrice de Recherche,
Université Paris Sud

Présidente

Guillaume BACHELIER

Maître de conférences,
Université Grenoble Alpes

Rapporteur

Renaud BACHELOT

Professeur des Universités,
Université Technologique de Troyes

Examineur

Christophe SAUVAN

Chargé de Recherche,
Université Paris Sud

Examineur

Valentina KRACHMALNICOFF

Chargée de Recherche,
ESPCI Paris

Examinatrice

Yannick DE WILDE

Directeur de Recherche,
ESPCI Paris

Directeur de thèse

À mon père.

Remerciements

Il n'est pas évident de savoir, avant de commencer une thèse, si le sujet auquel on s'attelle va nous faire vibrer pendant trois ans, ou si l'encadrement sera à la hauteur de nos attentes. Par chance, j'ai été comblé sur ces deux points.

Je tiens en premier lieu à remercier Valentina Krachmalnicoff pour m'avoir encadré et encouragé tout au long de ces trois années. Sa rigueur scientifique, ses capacités à organiser et gérer le travail d'équipe, ainsi que sa motivation contagieuse, en font l'encadrante que tout étudiant souhaite avoir. Je ne saurai jamais assez te remercier de m'avoir donné l'opportunité de réaliser l'expérience, tant enrichissante qu'unique en son genre, que représente une thèse de doctorat.

Je tiens aussi à remercier mon directeur de thèse Yannick De Wilde pour son optimisme à toute épreuve, sa bonne humeur et ses encouragements qui m'ont suivi tout au long de ces trois années. J'ai pu bénéficier de son sens physique exceptionnel qui m'a sorti plus d'une fois d'une impasse expérimentale. Nos discussions scientifiques (ou non) quasi quotidiennes avec Ignacio vont me manquer.

L'institut Langevin a la chance de compter dans ses rangs un expert de la microscopie de super-résolution. Je remercie chaleureusement Ignacio Izedin pour ces précieux conseils et pour sa participation active au projet de microscopie super-résolue en durée de vie.

J'aimerais également remercier Dorian Bouchet qui m'a formé lors de mes premiers mois de thèse. Sa pédagogie et sa patience m'ont permis d'être opérationnel rapidement sur l'expérience de super-résolution en durée de vie et celle de microscopie à sonde fluorescente à balayage.

J'ai eu la chance de travailler avec Vivien Loo pendant presque deux ans. J'ai pu profiter de ses grandes qualités d'expérimentateur qui nous ont permis d'obtenir des résultats très intéressants sur la mesure de la distribution du champ au voisinage d'une nanofibre étirée. Nous avons également travaillé sur la caractérisation optique des guides d'onde hybride plasm-

nique/diélectrique. Son aide a été cruciale aussi bien sur l'acquisition que sur l'interprétation des résultats que nous avons obtenus. Un grand merci à toi.

Nancy Rahbany a joué un rôle clef en m'initiant et en me guidant à travers les arcanes du logiciel de simulation FDTD Lumerical. Nancy a également fait profiter à l'ensemble de l'équipe de son savoir-faire en matière de nanofabrication. C'est notamment grâce à elle que nous avons pu concevoir les échantillons de guides d'onde hybrides. Je la remercie pour son implication et sa motivation à toute épreuve.

C'est lors de ma dernière année de thèse que Bart van Dam a rejoint l'équipe dans le cadre d'un post-doctorat. Ses grandes qualités, aussi bien humaines que scientifiques, lui ont permis de devenir très rapidement opérationnel sur l'expérience de microscopie super-résolue en durée de vie. Je le remercie pour son aide précieuse sur la préparation, l'acquisition, l'analyse et l'interprétation des données que nous avons obtenues avec les échantillons de nanofil d'argents.

J'ai eu le plaisir et l'honneur de présenter mes travaux de thèse devant Christophe Sauvan, Renauld Bachelot, Guillaume Bachelier et Sandrine Lévêque-Fort. Je les remercie pour leurs questions et les discussions passionnantes qui ont suivi ma présentation. Je tiens à remercier en particulier Guillaume Bachelier et Sandrine Lévêque-Fort d'avoir accepté de rapporter mes travaux de thèse et pour l'ensemble de leurs remarques qui ont permis d'enrichir le présent manuscrit.

Pendant ces trois années de thèse, j'ai eu la chance de pouvoir échanger et collaborer avec de nombreuses personnes extérieures à l'Institut Langevin. La majorité des travaux qui vont être présentée dans ce manuscrit n'auraient pas pu aboutir sans leur concours.

J'aimerais tout d'abord remercier chaleureusement Quentin Glorieux et Maxime Joos du LKB pour leur participation active au projet des nanofibres étirées. Les nombreuses discussions que nous avons eu ensemble ont permis une interprétation fine et précise des résultats obtenus. Nous avons également pu bénéficier de leur ban de tirage pour concevoir les échantillons.

J'aimerais également remercier Ivan Rech et Angelo Gulinatti de l'Institut Polytechnique de Milan pour nous avoir fourni le prototype de la matrice linéaire de SPADs ainsi que pour leur support technique sur ce dispositif d'exception.

Je tiens aussi à remercier Sylvie Marguet du CEA Saclay pour nous avoir synthétisé les échantillons de nanotriangle d'or. Grâce à ces échantillons, nous avons pu obtenir de très

beaux résultats en les examinant avec l'expérience de microscopie super-résolue en durée de vie.

Les guides d'onde hybrides ont été réalisés au LNIO de Troyes. Je remercie Sylvain Blaize et Christophe Couteau de nous avoir ouvert les portes de leur salle blanche, mais aussi pour nous avoir fait partager leur expertise sur la conception de nano-dispositif optique.

Trois ans de thèse peuvent paraître long, sauf si l'on est bien entouré au quotidien. J'ai eu la chance de l'être et en compagnie de personnes d'exception. Je remercie donc mes collègues et amis du thésarium R33 pour nos conversations enflammées aussi bien scientifiques que politiques. Je garderai également un souvenir ému de nos multiples sorties entre co-bureau et inter-bureau aux Arènes.

Je tiens également à remercier ma famille et l'ensemble de mes amis Grenoblois et d'ailleurs pour leur soutien lors de ces trois années inoubliables. Et enfin, un remerciement spécial à ma compagne Elise s'impose, Elise qui nous a supporté, ma thèse et moi, et à qui je dois beaucoup.

Résumé

Au cours de cette thèse nous nous sommes intéressés à l'interaction de la lumière avec l'environnement aux échelles nanométriques. Les candidats idéaux pour sonder cette interaction en nanophotonique sont les émetteurs fluorescents car leurs propriétés d'émission sont fortement dépendantes de l'environnement qui les entoure. Le taux d'émission spontanée de ces émetteurs donne notamment une mesure directe de la densité d'états électromagnétiques et constitue à ce titre le paramètre le plus adéquat pour rendre compte de ces interactions.

Cette thèse est organisée en deux parties. La première porte sur le développement et l'utilisation d'une technique de microscopie super-résolue en champ large du taux de désexcitation de molécules uniques. Cette technique se base sur la mesure simultanée du taux de désexcitation de chaque molécule par une matrice linéaire de détecteurs de photons uniques et de leur position par une caméra amplifiée. Les résultats expérimentaux obtenus en champ proche d'un nanofil d'argent ont été analysés et comparés à des simulations numériques. Grâce à cette analyse, l'effet de mirage plasmonique induit par le nanofil a pu être mis en évidence. De plus, en effectuant une sélection sur le taux d'émission spontanée mesuré pour chaque molécule et la taille de la tache de diffraction correspondante, il a été possible de déduire l'orientation du moment dipolaire des molécules et leur position réelle sur l'échantillon.

La seconde partie de cette thèse a été consacrée à l'étude de guides d'ondes optiques nanostructurés. En particulier, l'influence d'une nanofibre en silice sur la distribution d'un champ optique généré par un faisceau laser collimaté a été mise en évidence expérimentalement grâce à une sonde fluorescente à balayage. Les données recueillies sont en très bon accord avec des simulations basées sur la théorie de Mie. De plus, une structure de guide d'ondes hybride diélectrique/plasmonique a été étudiée. Cette structure a pour objectif d'optimiser le couplage de la fluorescence d'un émetteur fluorescent dans un guide d'onde optique diélectrique par l'intermédiaire d'une antenne plasmonique. Des simulations ont permis d'aboutir à un design ainsi qu'à la réalisation d'un premier échantillon. Une approche expérimentale est également proposée pour la caractérisation de ce dispositif optique.

Mots clefs : Interaction lumière/matière; Microscopie de super-résolution en molécule unique; Durée de vie de fluorescence; Plasmonique; Nano-antennes; Guide d'onde; Densité locale d'états électromagnétiques.

Summary

In this thesis we study the interaction of light with the environment at the nanoscale. Fluorescent emitters are ideal candidates to probe this interaction because their emission properties strongly depend on the surrounding environment. The emitters' decay rate is directly linked to the local density of electromagnetic states, which is therefore the most appropriate parameter to quantify the interactions with the environment.

This thesis is organized into two parts. The first one concerns the development and the implementation of a wide-field super-resolved lifetime microscopy technique at the single molecule level. This technique is based on the simultaneous measurement of single-molecules' decay rate with a linear matrix of single photon detectors and of their position with an amplified camera. Experimental results obtained in the near-field of a silver nanowire are analyzed and compared with numerical simulations. Such comparison provides the evidence of the plasmonic mirage effect induced by the presence of the nanowire. Moreover we show that, by making a selection on the measured decay rate and on the size of the corresponding point spread function, it is possible to deduce the orientation of the molecular dipole moments and their real position on the sample.

The second part of this thesis is focused on the study of nanostructured optical waveguides. We report on the measurement, performed with a fluorescent scanning near-field microscope, of the field generated around a tapered silica nanofiber by a collimated beam perpendicular to it. The results are in very good agreement with numerical simulations based on Mie theory. We also study a dielectric/plasmonic hybrid waveguide. A plasmonic nanoantenna fabricated on top of a dielectric optical waveguide enhances the coupling of the emission of a fluorescent emitter to the guided mode. The design and fabrication of an optimized device are achieved thanks to numerical simulations. An experimental approach is also proposed to characterize this device.

Keywords : Light-matter interaction; Single-molecule localization microscopy; Fluorescence lifetime; Plasmonics; Nano-antenna; Waveguide; Local density of electromagnetic states.

Table des matières

Table des matières	xi
Introduction	1
1 Interaction rayonnement-matière en champ proche	5
1.1 Introduction à l'émission de fluorescence	6
1.2 Mesure de la densité locale d'états électromagnétiques	14
1.3 Éléments de plasmonique	17
1.4 Techniques de microscopie de fluorescence en champ proche	21
1.5 Conclusion	31
1.6 Références	32
I Microscopie super-résolue de la durée de vie de fluorescence de molécules uniques	37
2 Montage expérimental avec la matrice linéaire de SPADs	39
2.1 Description du montage expérimental	41
2.2 Illumination en réflexion totale interne	42
2.3 Système de mesure des durées de vie	45
2.4 Dimensionnement du système optique	47
2.5 Formation d'images à partir d'une ligne de microlentilles	49
2.6 Acquisition de données	54
2.7 Reconstruction et analyse des données	57
2.8 Association des taux d'émission aux positions des molécules	60
2.9 Conclusion	65
2.10 Références	65
3 Imagerie de LDOS en molécule unique avec la matrice linéaire de SPADs	67
3.1 Préparation de l'échantillon	68
3.2 Résultats expérimentaux	70
3.3 Position apparente d'une molécule au voisinage d'une structure plasmonique	78

3.4	Classification des molécules au voisinage du nanofil d'argent	82
3.5	Étude d'un échantillon de nanotriangles d'or	90
3.6	Conclusion	92
3.7	Références	93
 II Étude de nanofibres étirées et de guides d'ondes hybrides diélectrique et plasmonique		95
4	Mesure en champ proche au voisinage d'une nanofibre étirée	97
4.1	Intérêt des nanofibres en nanophotonique	98
4.2	Aperçu des recherches menées avec les nanofibres	101
4.3	Étude de la distribution du champ autour de la nanofibre : motivation	102
4.4	Dispositif expérimental et méthode de mesures	103
4.5	Théorie de Mie : diffusion de la lumière par un cylindre diélectrique infini	107
4.6	Discussions des résultats expérimentaux	110
4.7	Conclusion	115
4.8	Références	116
5	Guide d'onde hybride : Nanotriangle d'or sur ruban de TiO₂	119
5.1	Optique intégrée et transfert d'énergie entre émetteurs quantiques	120
5.2	Guides d'onde hybrides : aperçu de l'état de l'art	122
5.3	Dimensionnement et simulations du guide d'onde hybride	123
5.4	Fabrication des échantillons	128
5.5	Nanopositionnement d'une bille fluorescente à proximité d'un nanotriangle	130
5.6	Mesure de l'efficacité de découplage du triangle	132
5.7	Conclusion	140
5.8	Références	140
 Conclusion		145
 Annexes		I
A	Estimation de l'erreur sur la mesure du temps de vie	III
A.1	Références	IV
B	Puissance injectée dans le DWG en fonction de la distance à la base du nanotriangle	V
C	Résultats des simulations pour la conception du DWG hybride	VII
C.1	Références	IX

Introduction

L'être humain a depuis toujours été attiré par les mystères cachés dans l'infiniment grand et dans l'infiniment petit. Cette curiosité a engendré des découvertes notables, qui sont allées de paire avec des développements technologiques remarquables. Si l'avènement des télescopes a permis d'avoir un nouveau regard sur les corps célestes, les premiers microscopes ont ouvert des perspectives extraordinaires vers l'étude de ce qui est invisible à l'œil humain. Récemment, le développement des nanosciences et des nanotechnologies a permis de s'intéresser à l'interaction de la lumière avec des structures nanométriques. La caractérisation des propriétés optiques à ces échelles se heurte à une limite fondamentale qui est celle de la diffraction de la lumière résultant de son caractère ondulatoire.

Des procédés modernes d'imagerie, comme la microscopie de champ proche à balayage, ont permis de passer outre cette limitation physique. En effet, ces techniques d'investigations de l'interaction rayonnement-matière permettent de sonder le champ proche optique et ainsi de capturer les hautes fréquences spatiales du champ électromagnétique au voisinage des nanostructures avec une résolution sub-longueur d'onde, bien en dessous de la limite de diffraction. Grâce au développement des technologies de détection en champ lointain, de nouvelles méthodes d'imageries basées sur la détection et la localisation de fluorophores sont apparues au début des années 2000. Ces techniques de microscopie de haute résolution permettent de localiser des émetteurs fluorescents avec une précision de l'ordre de la dizaine de nanomètres. Elles ont rencontré un vif succès dans le domaine de la biophysique et commencent à s'imposer comme une alternative à la microscopie de champ proche à balayage en nano-optique. Toutefois, dans leur forme standard, elles se limitent à superlocaliser la position d'émetteurs fluorescents individuels qui recouvrent l'objet nanostructuré d'intérêt. En couplant ces techniques de microscopie super-résolues à des mesures de temps de vie de fluorescence, il est possible de sonder et de caractériser finement l'interaction de la lumière avec son environnement à l'échelle nanométrique.

Les longueurs d'ondes du visible sont de l'ordre de la centaine de nanomètres. Des phénomènes de résonance peuvent donc avoir lieu lorsque la lumière interagit avec des objets (métallique ou diélectrique) de dimension équivalente ou inférieure. À ces échelles nanométriques, l'interaction lumière-matière est susceptible de donner lieu à des comportements inattendus. Le champ électromagnétique peut par exemple rester confiné aux interfaces métal-

diélectrique sous la forme de plasmons-polaritons de surface. Il peut également être exalté ou inhibé en fonction de la nature et de la structuration du milieu considéré. De tels effets ne peuvent être investigués de manière détaillée qu'à l'aide de méthodes de microscopie super-résolues. L'étude et la compréhension de l'interaction de la lumière avec l'environnement trouve de nombreuses applications dans des domaines aussi variés que les télécommunications, l'informatique, la biologie, le stockage d'information, les énergies renouvelables, *etc.*

Dans cette thèse nous allons étudier l'interaction de la lumière avec la matière aux longueurs d'onde optiques par l'intermédiaire de sources fluorescentes de dimension nanométrique. L'estimation de leur taux d'émission spontanée, couplée à la mesure de leur position par des méthodes de super-localisation, nous permettra de cartographier l'interaction rayonnement-matière au voisinage d'objets nanostructurés. Un des enjeux majeurs de cette thèse a été de développer une méthode expérimentale de caractérisation de cette interaction basée sur la microscopie de fluorescence de molécules uniques. L'analyse et l'interprétation des données obtenues avec cette méthode seront présentées et nous permettrons de pointer les avantages et inconvénients de cette nouvelle technique expérimentale. Nous présenterons également deux études réalisées par microscopie de fluorescence à balayage : l'une portant sur la mesure de la distribution du champ optique au voisinage d'une nanofibre étirée en silice et l'autre sur la caractérisation d'un système optique hybride plasmonique/diélectrique pour l'optimisation du couplage de la lumière de fluorescence d'un émetteur dans un guide d'ondes optique via une nano-antenne plasmonique. Ce manuscrit de thèse est divisé en deux parties précédées d'un premier chapitre d'introduction sur la fluorescence :

- Dans le chapitre 1 nous définirons d'un point de vue mathématique l'émission de fluorescence et montrerons que le taux d'émission spontanée d'un fluorophore est relié à la densité locale d'états électromagnétiques. Nous verrons que cette grandeur est la plus pertinente pour caractériser l'interaction de la lumière avec l'environnement et que sa mesure par l'intermédiaire du taux de désexcitation d'un émetteur fluorescent est la plus robuste. Nous profiterons de ce chapitre pour introduire aussi le concept de plasmon. Enfin, deux méthodes expérimentales de microscopie de fluorescence super-résolue qui ont été utilisées pendant cette thèse seront présentées. Il s'agit d'une part du microscope optique de champ proche à sonde fluorescente, et d'autre part de la microscopie de durée de vie de molécules uniques spatialement super-résolue. Nous verrons que ces deux techniques expérimentales permettent d'associer à un émetteur fluorescent son taux d'émission spontanée et sa position avec une précision de l'ordre de quelques nanomètres.

La première partie du manuscrit est consacrée à la présentation et à l'étude des résultats obtenus avec une expérience de microscopie de durée de vie de molécules uniques spatialement super-résolue.

- Le chapitre 2 décrit le montage expérimental. Nous exposerons en détail le principe

ainsi que la mise en œuvre de cette technique de microscopie développée à l'Institut Langevin au cours de ces dernières années. Nous verrons aussi comment l'utilisation d'une matrice linéaire de huit détecteurs de photons uniques, conjuguée avec une ligne de microlentilles, a permis d'atteindre un champ de vue de plus de $10 \mu\text{m}^2$. Une discussion sera également menée sur les méthodes d'acquisition et de traitement des données impliquées par l'ajout de cette nouvelle génération de détecteurs.

- Le chapitre 3 présente les résultats expérimentaux obtenus à proximité d'un nanofil d'argent avec ce montage expérimental. En comparant ces résultats à des simulations numériques nous mettrons en évidence l'effet de mirage plasmonique induit par l'interaction des molécules fluorescentes avec le nanofil d'argent. Nous verrons que cet effet engendre une erreur systématique sur la localisation des molécules. Pour palier ce problème, nous proposerons une méthode de classification des molécules basée sur la taille de leur tache de diffraction et leur taux d'émission spontanée. Cette méthode permet de retrouver la position réelle de ces ensembles de molécules ainsi que l'orientation de leur moment dipolaire. Des mesures sur un échantillon de nanotriangles d'or effectuées avec le même dispositif expérimental seront également présentées pour démontrer la versatilité de l'expérience et son applicabilité à des échantillons de géométrie complexe.

Dans la seconde partie du manuscrit nous allons utiliser une autre approche expérimentale pour caractériser l'interaction rayonnement-matière à proximité de systèmes nanostructurés par l'emploi de sondes à balayage. Nous étudierons des structures diélectriques et hybrides diélectrique/plasmonique par microscopie de fluorescence à balayage.

- Le chapitre 4 traite des mesures réalisées avec une sonde fluorescente à balayage au voisinage d'une nanofibre étirée en silice et éclairée par une illumination laser transverse. Nous montrerons des mesures de l'intensité du champ à des distances de la nanofibre allant de quelques nanomètres à plusieurs micromètres pour deux polarisations d'illumination différentes. L'excellent accord entre les résultats expérimentaux et des calculs numériques basés sur la théorie de la diffusion de Mie, nous permettra de caractériser les dérives associées à notre expérience et de mettre en évidence certains phénomènes exotiques tels que l'effet de jet photonique ou la capture de la nanofibre par la pointe de la sonde fluorescente à balayage.
- Le chapitre 5 expose les travaux de conception et de caractérisation d'une structure hybride diélectrique/plasmonique réalisés lors de cette thèse. Nous verrons que ce type de dispositif optique permet de coupler une fraction importante de la lumière de fluorescence d'un fluorophore dans un guide d'onde optique par l'intermédiaire d'une nano-antenne d'or de forme triangulaire déposée sur le guide. Le dimensionnement de cette structure hybride a été réalisé via des simulations numériques et la caractérisation de ce dispositif a été effectuée avec un microscope optique de champ proche.

Chapitre 1

Interaction rayonnement-matière en champ proche

Sommaire

1.1 Introduction à l'émission de fluorescence	6
1.1.1 Émission dipolaire classique : Formalisme de Green	6
1.1.2 Densité locale d'états électromagnétiques	8
1.1.3 Émission de fluorescence d'un système à trois niveaux	9
1.1.4 Intensité de fluorescence en champ lointain	13
1.2 Mesure de la densité locale d'états électromagnétiques	14
1.2.1 Mesure de durée de vie	14
1.2.2 Expérience de Drexhage	15
1.3 Éléments de plasmonique	17
1.3.1 Plasmons de surface	17
1.3.2 Résonances plasmoniques	19
1.3.3 Antennes optiques	21
1.4 Techniques de microscopie de fluorescence en champ proche	21
1.4.1 Formation d'image et limite de diffraction	21
1.4.2 Sondes fluorescentes à balayage	22
1.4.3 Microscopie super-résolue en molécule unique	24
1.4.4 Microscopie super-résolue en nanophotonique	27
1.4.5 Microscopie de durée de vie de fluorescence avec des molécules photo- activables	29
1.5 Conclusion	31
1.6 Références	32

Le sujet de cette thèse est motivé par l'étude et la caractérisation de l'émission de fluorescence d'émetteurs uniques soumis à l'influence de leur environnement proche. L'émission de fluorescence d'une molécule peut être représentée par un rayonnement de type dipolaire, ou encore par la désexcitation d'un système énergétique à plusieurs niveaux. En utilisant ces représentations, nous allons définir dans ce chapitre d'introduction la densité locale d'états électromagnétiques abrégée en LDOS (de l'anglais *Local Density of Optical States*). Nous montrerons que cette grandeur physique est la plus à même de décrire l'influence de l'environnement sur l'émission de fluorescence et donc de caractériser l'interaction rayonnement-matière aux échelles nanoscopiques. Enfin, nous discuterons dans ce chapitre des techniques les plus couramment utilisées pour mesurer le champ proche optique et sonder l'interaction de sources fluorescentes avec leur environnement proche avec une résolution de quelques nanomètres.

1.1 Introduction à l'émission de fluorescence

Nous allons dans un premier temps décrire l'émission de fluorescence dans le formalisme classique comme un rayonnement de type dipolaire, puis dans le formalisme quantique en modélisant l'émetteur comme un système à trois niveaux. Nous montrerons également que le temps de vie de l'état excité est directement proportionnel à la puissance cédée à l'environnement par le dipôle, ainsi qu'à la LDOS.

1.1.1 Émission dipolaire classique : Formalisme de Green

Dans le cadre d'une approche classique, l'émission de fluorescence est décrite par un rayonnement de type dipolaire. Un dipôle est assimilé à une charge électrique oscillante avec une pulsation ω et une amplitude p_0 . Elle est généralement notée sous forme vectorielle $\mathbf{p} = p_0 \mathbf{u}$, avec le vecteur unitaire \mathbf{u} définissant l'orientation du dipôle. L'oscillation du dipôle à une pulsation ω donnée s'exprime en termes de densité de courant $\mathbf{j}(\mathbf{r}, \omega)$ comme :

$$\mathbf{j}(\mathbf{r}, \omega) = -i\omega \mathbf{p} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0), \quad (1.1)$$

avec \mathbf{r} la position d'un point quelconque dans l'espace, et \mathbf{r}_0 la position du dipôle. En injectant ce terme source dans les équations de Maxwell, nous allons déterminer l'expression du champ électrique dans un environnement quelconque via le formalisme des fonctions de Green.

La distribution du champ électrique en fonction de la pulsation $\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega)$ est régie par l'équation :

$$\nabla \wedge \nabla \wedge \mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega) - \frac{\omega^2}{c^2} \epsilon_0 \epsilon(\mathbf{r}, \omega) \mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega) = i\omega \mu_0 \mathbf{j}(\mathbf{r}, \omega). \quad (1.2)$$

Dans cette expression, c représente la vitesse de la lumière dans le vide, μ_0 la perméabilité du

vide, ϵ_0 la permittivité du vide, et $\epsilon(\mathbf{r}, \omega)$ celle du milieu. Cette dernière grandeur renferme les propriétés électromagnétiques du milieu considéré. Notons que la partie droite de l'équation modélise le terme source généré ici par un dipôle.

Pour obtenir l'expression de $\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega)$ créé par un dipôle oscillant, il est commode d'utiliser le formalisme des fonctions de Green ([NOVOTNY et HECHT, 2012]). Ces fonctions, solutions de l'équation 1.2, permettent de décrire la réponse électromagnétique du milieu en tout point de l'espace \mathbf{r} soumis à une excitation localisée en \mathbf{r}_0 et de pulsation ω . Le champ électrique s'exprime alors comme :

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega) = \mu_0 \omega^2 \mathbf{G}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{p}, \quad (1.3)$$

où $\mathbf{G}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_0, \omega)$ est le tenseur de Green.

Grâce à l'expression du champ électrique, il est maintenant possible de déterminer la puissance cédée par le dipôle à l'environnement. La puissance rayonnée en fonction du champ électrique est définie comme : $P(\omega) = \frac{\omega}{2} \text{Im} [\mathbf{p}^* \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}_0, \omega)]$. En injectant l'expression 1.3 dans l'équation précédente, nous obtenons :

$$P(\omega) = \frac{\mu_0 \omega^3}{2} |\mathbf{p}|^2 \text{Im} [\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u}]. \quad (1.4)$$

Dans le formalisme quantique, un émetteur fluorescent peut être décrit comme un système à deux niveaux $|e\rangle$ (niveau excité) et $|g\rangle$ (niveau fondamental). En couplage faible, la probabilité de désexcitation décroît exponentiellement en fonction du temps avec un temps caractéristique $\tau = \Gamma^{-1}$. En utilisant la correspondance entre grandeurs classiques et quantiques, et en s'appuyant sur la règle d'or de Fermi, on peut écrire [CARMINATI et collab., 2015; WYLIE et SIPE, 1984] :

$$\Gamma = \frac{2\omega^2 \mu_0}{\hbar} |\mathbf{p}|^2 \text{Im} [\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u}]. \quad (1.5)$$

Ce taux d'amortissement, plus couramment appelé taux d'émission spontanée, représente la vitesse de relaxation du dipôle après excitation.

Ces deux derniers résultats permettent de mettre en évidence la relation intime liant un émetteur à son environnement. En effet, la puissance cédée à l'environnement par le dipôle, comme son taux d'émission, dépend de la partie imaginaire de la fonction de Green qui décrit les propriétés de l'environnement. En d'autres termes, si les caractéristiques de l'environnement changent, les propriétés d'émission du dipôle changent aussi.

Rayonnement d'un dipôle dans le vide et modification par l'environnement

La fonction de Green admet des solutions analytiques dans des géométries simples. Dans le cas d'un dipôle rayonnant dans le vide, la partie imaginaire de la fonction de Green évaluée

à la position de l'émetteur s'exprime comme :

$$\text{Im}\left[\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}_0(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u}\right] = \frac{k_0}{6\pi}, \quad (1.6)$$

avec $k_0 = \frac{2\pi}{\lambda}$ le vecteur d'onde. Pour évaluer la puissance rayonnée par l'émetteur, ainsi que son taux de désexcitation dans le vide, il suffit de réinjecter ce résultat dans les équations 1.4 et 1.5 pour obtenir :

$$P_0 = \frac{\omega_0^4 |\mathbf{p}|^2}{12\pi\epsilon_0 c^3}, \quad (1.7)$$

$$\Gamma_0 = \frac{\omega_0^3 |\mathbf{p}|^2}{3\pi\hbar\epsilon_0 c^3}. \quad (1.8)$$

Un résultat surprenant apparaît lorsque l'on exprime les ratios $\frac{P}{P_0}$ et $\frac{\Gamma}{\Gamma_0}$. En effet, ces deux quantités s'égalisent comme :

$$\frac{\Gamma}{\Gamma_0} = \frac{P}{P_0} = \frac{6\pi}{k_0} \text{Im}\left[\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u}\right]. \quad (1.9)$$

Cette relation permet de relier le taux d'amortissement du dipôle dans un environnement quelconque à sa puissance d'émission. De par ce résultat, il est donc possible de lier une grandeur classique, ici la puissance cédée à l'environnement, à une grandeur quantique représentée par le taux de désexcitation. Nous allons maintenant voir comment ces grandeurs peuvent également être reliées à la LDOS.

1.1.2 Densité locale d'états électromagnétiques

La LDOS est le paramètre le plus à même de caractériser l'interaction d'un émetteur avec son environnement. En effet, cette grandeur physique représente la densité de modes optiques accessibles à la position de l'émetteur. Plus la densité de modes va être importante, plus il sera facile pour l'émetteur de se désexciter. Si nous considérons par exemple un émetteur placé dans un milieu homogène sans perte, le seul mode de relaxation accessible pour ce dernier est de rayonner en champ lointain. En revanche, si le dipôle est situé à proximité de structures auxquelles il peut se coupler de manière radiative ou non, il verra de nouveaux modes de désexcitation ouverts par ce couplage. La LDOS à la position de l'émetteur sera alors plus importante que dans le milieu homogène sans perte et le taux de désexcitation s'en trouvera augmenté par rapport au milieu de référence.

Il est important de différencier la LDOS projetée de la LDOS totale. La LDOS projetée [CARMINATI et collab., 2015], ou partielle, est dépendante de l'orientation du dipôle considéré et se formule comme :

$$\rho_{\mathbf{u}}(\mathbf{r}_0, \omega) = \frac{2\omega}{\pi c^2} \text{Im}\left[\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u}\right]. \quad (1.10)$$

Cette grandeur correspond donc à la densité d'états accessible à un émetteur orienté selon \mathbf{u} .

La LDOS totale est, quant à elle, calculée comme la somme de la LDOS partielle sur les trois directions de l'espace :

$$\rho(\mathbf{r}_0, \omega) = \sum_{\mathbf{u}=\mathbf{u}_x, \mathbf{u}_y, \mathbf{u}_z} \rho_{\mathbf{u}}(\mathbf{r}_0, \omega) = \frac{2\omega}{\pi c^2} \text{Im} \left[\text{Tr} \left(\mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \right) \right]. \quad (1.11)$$

La LDOS totale représente l'ensemble des modes optiques à la position \mathbf{r}_0 . Dans le vide, l'expression du tenseur de Green à la position du dipôle est donné par l'expression 1.6. La LDOS totale du vide s'exprime donc de la manière suivante :

$$\rho_0(\omega) = 3\rho_{\mathbf{u},0}(\omega) = \frac{\omega^2}{\pi^2 c^3}. \quad (1.12)$$

Comme nous l'avons déjà remarqué, la LDOS est directement liée à la probabilité de désexcitation d'un émetteur dans son environnement. Si la LDOS est élevée (ce qui revient à avoir un nombre important de modes optiques disponibles pour la désexcitation de l'émetteur) le temps passé par l'émetteur dans le niveau excité sera court. On mesurera donc un taux de désexcitation élevé. Au contraire, si la LDOS est faible, on mesurera un taux de désexcitation faible. Ceci peut être formalisé en normalisant la LDOS partielle $\rho_{\mathbf{u}}(\mathbf{r}_0, \omega)$ par la LDOS partielle du vide $\rho_{\mathbf{u},0}(\omega)$. On obtient alors la relation suivante :

$$\frac{\rho_{\mathbf{u}}(\mathbf{r}_0, \omega)}{\rho_{\mathbf{u},0}(\omega)} = \frac{P}{P_0} = \frac{\Gamma}{\Gamma_0} = \frac{6\pi}{k_0} \text{Im} \left(\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u} \right). \quad (1.13)$$

Cette relation fondamentale met en évidence le lien qu'entretient la LDOS avec le taux d'émission spontanée et la puissance rayonnée par un émetteur. Comme le taux d'émission spontanée, la puissance rayonnée et la LDOS projetée peuvent être décomposées en fonction de leur composante radiative et non-radiative :

$$\frac{\rho_{\mathbf{u}}^{\text{R}}(\mathbf{r}_0, \omega) + \rho_{\mathbf{u}}^{\text{NR}}(\mathbf{r}_0, \omega)}{\rho_{\mathbf{u},0}(\omega)} = \frac{P_{\text{R}} + P_{\text{NR}}}{P_0} = \frac{\Gamma_{\text{R}} + \Gamma_{\text{NR}}}{\Gamma_0} = \frac{6\pi}{k_0} \text{Im} \left(\mathbf{u} \cdot \mathbf{G}(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{u} \right). \quad (1.14)$$

S'il est possible théoriquement de séparer les contributions radiatives et non-radiatives de la LDOS du taux d'émission, et de la puissance, leur mesure expérimentale est complexe. La grandeur qui est mesurée expérimentalement est le taux de désexcitation $\Gamma = \Gamma^{\text{R}} + \Gamma^{\text{NR}}$, lié à la LDOS $\rho_{\mathbf{u}} = \rho_{\mathbf{u}}^{\text{R}} + \rho_{\mathbf{u}}^{\text{NR}}$ (cf formule 1.13). Nous verrons dans la partie 1.2.1 comment mesurer cette grandeur expérimentalement. Avant cela, nous allons discuter d'une autre approche permettant de modéliser le rayonnement d'un émetteur.

1.1.3 Émission de fluorescence d'un système à trois niveaux

Une autre vision de l'émission d'un émetteur fluorescent et de son interaction avec son environnement, peut être apportée par l'étude d'un système à trois niveaux tel que celui sché-

maté sur la figure 1.1. Dans le cas des molécules fluorescentes utilisées lors de cette thèse, l'excitation de ces émetteurs fluorescents se fait à une longueur d'onde différente de celle d'émission. Par interaction avec un laser d'excitation, l'émetteur passe du niveau fondamental $|1\rangle$ au niveau excité $|2\rangle$. Puis il se désexcite rapidement, de façon non radiative, vers le niveau $|3\rangle$ pour enfin émettre des photons de fluorescence lors de la transition de $|3\rangle$ vers $|1\rangle$.

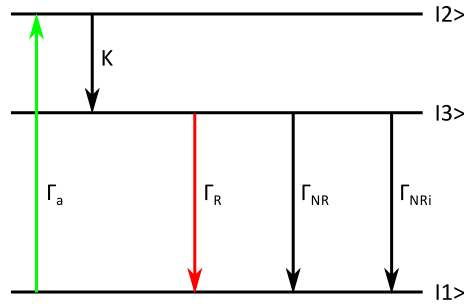


FIGURE 1.1 – Schéma énergétique d'un système à trois niveaux.

Les distributions des populations sur les trois niveaux $|1\rangle$, $|2\rangle$ et $|3\rangle$ sont notées respectivement $\sigma_{1,2,3}$. Le système à trois niveaux étant considéré isolé de l'extérieur, $\sigma_{1,2,3}$ suivent la relation suivante :

$$\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3 = 1. \quad (1.15)$$

Transitions énergétiques et émission spontanée

La transition de l'état fondamental $|1\rangle$ vers l'état excité $|2\rangle$ se fait par l'absorption d'un photon d'énergie $\Delta E = \hbar\omega_2$. La probabilité régissant cette transition s'exprime par :

$$\Gamma_a = \sigma_a \phi, \quad (1.16)$$

où σ_a , homogène à une surface, représente la section efficace d'absorption du système. Notons que σ_a est une caractéristique intrinsèque de l'émetteur et ne dépend pas de l'environnement. Le paramètre ϕ représente le flux de photons de pulsation ω_2 à la position de l'émetteur. Plus le flux de photons sera important, plus la probabilité d'exciter ce système le sera également.

La désexcitation des niveaux supérieurs vers les niveaux inférieurs peut se faire de deux manières différentes. Soit de manière non-radiative (flèches noires sur le schéma de la figure 1.1), c'est à dire sans émission de photon, ou bien de manière radiative (flèches de couleur sur le schéma de la figure 1.1). Le taux de désexcitation K modélise les relaxations non-radiatives des niveaux supérieurs de type vibrationnelle ou rotationnelle au sein de l'émetteur. La tran-

sition permettant l'émission de fluorescence est celle entre les niveaux $|1\rangle$ et $|3\rangle$. Le taux de relaxation associé est noté Γ_R et l'énergie du photon de fluorescence émis est $E_3 = \hbar\omega_3$. Deux taux de relaxation non-radiatifs entre ces deux niveaux sont également présents. Le taux Γ_{NR} représente les désexcitations de type non radiatif, se traduisant par une dissipation de l'énergie dans l'environnement, et Γ_{NRi} décrit les processus non-radiatifs internes à l'émetteur. Contrairement aux deux autres, Γ_{NRi} ne dépend pas de l'environnement. Le taux d'amortissement total Γ entre les états $|1\rangle$ et $|3\rangle$ s'écrit :

$$\Gamma = \Gamma_R + \Gamma_{NR} + \Gamma_{NRi}. \quad (1.17)$$

Ce taux de relaxation est également appelé le taux de désexcitation ou taux d'émission spontanée. Il est important de remarquer que Γ est défini comme $\Gamma = \frac{1}{\tau}$ avec τ le temps de vie de l'état excité.

Émission de fluorescence d'un système à trois niveaux

Nous avons vu que le taux Γ_R gouverne la probabilité d'émission de fluorescence, et donc la probabilité de détecter un photon en champ lointain. Dans la suite nous allons estimer l'intensité de fluorescence via les probabilités de transition inter-niveaux et l'intensité d'excitation. Nous partons donc de l'expression de l'intensité de fluorescence qui se formalise par :

$$I_{fluor} = \hbar\omega_3\Gamma_R\sigma_3. \quad (1.18)$$

Le terme σ_3 peut être évalué à partir des équations d'évolution des populations des différents niveaux en fonction du temps :

$$\frac{d\sigma_1}{dt} = \Gamma\sigma_3 - \Gamma_a\sigma_1, \quad (1.19)$$

$$\frac{d\sigma_2}{dt} = \Gamma_a\sigma_1 - K\sigma_2, \quad (1.20)$$

$$\frac{d\sigma_3}{dt} = K\sigma_2 - \Gamma\sigma_3. \quad (1.21)$$

Les termes positifs de droite représentent un gain alors que les termes négatifs une perte de population. En résolvant ce système d'équations, il est possible de déterminer la densité de population associée à un niveau énergétique. A cette fin, nous nous plaçons en régime stationnaire. Les variations de population en fonction du temps associées à chaque niveau sont donc nulles, ceci se traduit mathématiquement par

$$\frac{d\sigma_1}{dt} = \frac{d\sigma_2}{dt} = \frac{d\sigma_3}{dt} = 0. \quad (1.22)$$

Sous cette hypothèse, les populations des états $|2\rangle$ et $|3\rangle$ s'expriment comme suit :

$$\sigma_2 = \frac{\Gamma_a}{K} \sigma_1, \quad (1.23)$$

et

$$\sigma_3 = \frac{\Gamma_a}{\Gamma} \sigma_1. \quad (1.24)$$

En utilisant la définition de l'intensité de fluorescence 1.18, et en injectant le résultat de l'équation précédente, on obtient :

$$I_{fluor} = \hbar\omega_3 \Gamma_R \frac{\Gamma_a}{\Gamma} \sigma_1. \quad (1.25)$$

Il nous reste maintenant à écrire σ_1 en fonction des probabilités de transition. Pour cela, il convient de faire appel à la loi de conservation 1.17 et d'y injecter les équations 1.23 et 1.24. Nous obtenons donc :

$$\sigma_1 = 1 - \sigma_2 - \sigma_3 = 1 - \frac{\Gamma_a}{K} \sigma_1 - \frac{\Gamma_a}{\Gamma} \sigma_1 = \frac{1}{1 + \Gamma_a \left(\frac{1}{K} + \frac{1}{\Gamma} \right)}. \quad (1.26)$$

Grâce à ces développements, l'expression de l'intensité de fluorescence s'exprime comme :

$$I_{fluor} = \hbar\omega_3 \frac{\Gamma_R}{\Gamma} \left(\frac{1}{\Gamma} + \frac{1}{K} + \frac{1}{\Gamma_a} \right)^{-1} \quad (1.27)$$

Le taux de désexcitation du niveau $|2\rangle$ vers le niveau $|3\rangle$, modélisé par le paramètre K , est très grand devant celui d'émission spontanée. En effet, K est généralement de l'ordre de 10^{12} s^{-1} alors que le taux d'émission spontanée Γ est de l'ordre 10^9 s^{-1} . En considérant donc $K \gg \Gamma$ et en posant $\zeta^2 = \frac{\Gamma_a}{\Gamma}$, il est possible de réécrire l'intensité de fluorescence comme :

$$I_{fluor} = \hbar\omega_3 \Gamma_R \frac{\zeta^2}{1 + \zeta^2}. \quad (1.28)$$

La courbe du graphique 1.2 représente l'évolution de l'intensité de fluorescence en fonction du paramètre adimensionné ζ . Lorsque Γ est constant, faire varier ζ revient à faire varier l'intensité d'excitation du système à trois niveaux. Deux régimes sont clairement visibles sur cette courbe. Pour $\zeta \gg 0$, l'intensité de fluorescence est constante et vaut $I_{fluor}^{sat} = \hbar\omega_3 \Gamma_R$. On parle alors de saturation de l'émetteur fluorescent et le système se comporte comme si $\sigma_3 = 1$ qui traduit la saturation du niveau $|3\rangle$. Dans ce cas là, l'intensité de fluorescence dépend uniquement du taux de désexcitation radiatif Γ_R . En revanche, pour des valeurs de $\zeta \approx 0$, l'intensité de fluorescence s'exprime comme :

$$I_{fluor}^l = \hbar\omega_3 \Gamma_R \zeta^2 = \hbar\omega_3 \Gamma_R \frac{\sigma_a \Phi}{\Gamma}. \quad (1.29)$$

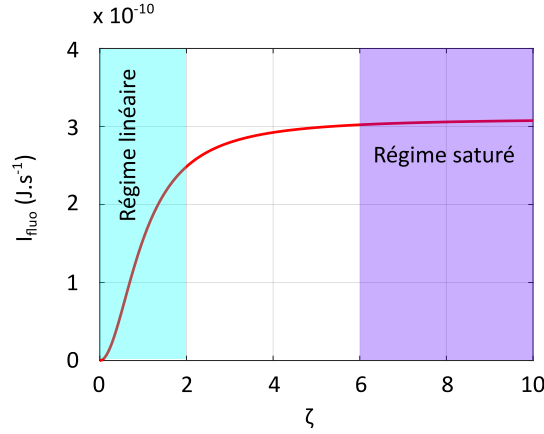


FIGURE 1.2 – Intensité de fluorescence en fonction de l’excitation (avec $\Gamma_R = 10^9 \text{ s}^{-1}$ et $\omega_2 = 2,9 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$).

Dans ce régime, l’intensité de fluorescence évolue de manière linéaire avec l’intensité d’excitation. Cette dernière expression fait apparaître naturellement le rendement quantique de l’émetteur défini par $\eta = \frac{\Gamma_R}{\Gamma}$. Le rendement quantique caractérise la capacité d’un émetteur fluorescent à rayonner. Sa dépendance en Γ montre explicitement l’influence de l’environnement sur l’émetteur.

1.1.4 Intensité de fluorescence en champ lointain

Par définition, le champ lointain correspond à la distribution du champ à des distances grandes devant la longueur d’onde, alors que le champ proche correspond à des distances très petites devant la longueur d’onde. D’un point de vue expérimental, la détection du signal de fluorescence se fait principalement en champ lointain. L’intensité mesurée dépendra alors de l’efficacité de détection instrumentale, ainsi que de l’angle solide de détection. Pour exprimer l’intensité de fluorescence collectée expérimentalement, il est commode d’utiliser la relation 1.29 qui lie le signal de fluorescence à l’intensité d’excitation. Cette expression peut être réécrite comme :

$$I_{fluo}^{exp} = A\hbar\omega_3 \left(\int_{\Omega} \frac{\Gamma_R(\mathbf{u}_{\Omega})}{\Gamma} d\Omega \right) \sigma_a \phi, \quad (1.30)$$

avec A un paramètre permettant de prendre en compte les pertes induites par la chaîne de détection ainsi que l’efficacité du détecteur. L’intégrale sur l’angle solide de collection Ω permet de définir la fraction de photons détectés par l’instrument et le vecteur unitaire \mathbf{u}_{Ω} représente une direction d’émission. Le flux de photon ϕ à la position de l’émetteur dépend des caractéristiques de l’environnement. En effet, le champ électrique peut être exalté ou inhibé en fonction de la nature et de la géométrie des matériaux proches de l’émetteur. Nous verrons par exemple dans la partie 1.3.1 que le champ au voisinage des structures métalliques peut être fortement exalté. Pour prendre en compte cette dépendance locale du champ, il est

nécessaire de définir un paramètre d'exaltation locale que l'on définit comme :

$$K^2 = \frac{|\mathbf{u} \cdot \mathbf{E}_{exc}(\mathbf{r}, \omega_2)|^2}{|\mathbf{u} \cdot \mathbf{E}_{inc}(\mathbf{r}, \omega_2)|^2}. \quad (1.31)$$

$|\mathbf{E}_{exc}(\mathbf{r}, \omega_2)|^2$ représente l'intensité du champ en présence d'interaction avec l'environnement, $|\mathbf{E}_{inc}(\mathbf{r}, \omega_2)|^2$ sans l'environnement, et \mathbf{u} le vecteur unitaire définissant l'orientation du moment dipolaire de l'émetteur. A partir du facteur d'exaltation locale, le flux de photons à la position de l'émetteur s'exprime comme étant $\phi = K^2 \phi_{inc}$, avec ϕ_{inc} le flux de photons incidents.

1.2 Mesure de la densité locale d'états électromagnétiques

Nous avons vu dans la partie 1.1.2 que les propriétés d'émission d'un émetteur fluorescent, telles que l'intensité ou le taux d'émission spontanée, donnent une mesure directe de la LDOS à la position de ce dernier. D'un point de vue expérimental, il est difficile de mesurer la puissance totale cédée par un émetteur fluorescent. En effet, estimer la puissance d'un émetteur demande de pouvoir avoir accès à l'ensemble des photons émis sur un angle solide de 4π sr. Or, l'intensité de fluorescence mesurée, définie par la relation 1.30, dépend de l'angle solide de collection du détecteur. De plus, si le milieu présente des pertes, ces dernières ne pourront pas être estimées via une mesure en champ lointain de l'intensité. Il est donc plus rigoureux de mesurer le taux de déclin (inverse de la durée de vie) d'un émetteur pour estimer la densité d'états.

1.2.1 Mesure de durée de vie

Afin de mesurer le taux de désexcitation, un détecteur de photon unique est relié à un module de comptage de photons, plus couramment appelé TCSPC (acronyme de l'anglais *Time Correlated Single Photon Counting*), lui-même synchronisé avec un laser pulsé. Le TCSPC permet de mesurer l'intervalle de temps entre l'émission d'un pulse laser et la détection du photon de fluorescence. La figure 1.2(a) schématise le processus de mesure du temps de vie du niveau excité de l'émetteur fluorescent. Chaque pulse laser est représenté par une ligne rouge verticale, les points rouges symbolisent la détection d'un photon de fluorescence. On peut donc mesurer le délai entre le pulse laser et une détection de fluorescence.

En répétant plusieurs fois cette mesure, et en classant les délais dans un histogramme, il est possible de remonter à la distribution de probabilité du temps passé par l'émetteur dans son état excité et donc la durée de vie de l'état excité. Les courbes 1.3(b) représentent les histogrammes mesurés pour un émetteur sur du verre (courbe bleue foncée) et sur un substrat d'or (courbe bleue claire). Ces deux courbes montrent que l'histogramme de déclin de fluo-

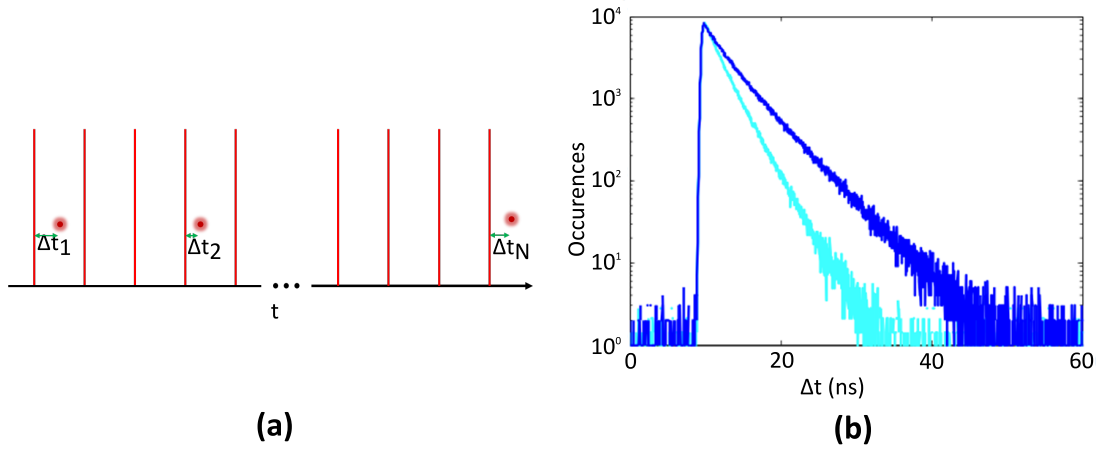


FIGURE 1.3 – (a) Schéma de la technique de mesure du temps de vie de l'état excité d'un fluorophore. Les lignes rouges représentent les pulses du laser à intervalles réguliers, les points rouges signalent la détection d'un photon par le SPAD et Δt_i symbolise la mesure de l'intervalle de temps entre le pulse et la détection. (b) Histogramme de fluorescence d'une nanobille fluorescente sur une lamelle de verre (courbe bleue foncée) et sur un film d'or (courbe bleue claire).

rescence de cet émetteur suit une mono-exponentielle décroissante du type :

$$p(t, \Delta t + t) = \frac{1}{\Gamma} \exp(-\Gamma \Delta t). \quad (1.32)$$

Le taux d'émission spontanée peut donc être mesuré en réalisant un ajustement paramétrique d'une exponentielle décroissante sur cette distribution. Le paramètre Γ représente une mesure directe de cette grandeur. Il est intéressant de remarquer que cette mesure, contrairement à une mesure d'intensité, ne dépend pas du nombre de photons de fluorescence collectés qui peut varier suivant la concentration locale d'émetteurs ou la distribution angulaire du rayonnement. C'est pourquoi il est plus fiable de réaliser une mesure du taux d'émission plutôt qu'une mesure d'intensité pour quantifier l'interaction d'un émetteur avec son environnement.

Les deux courbes de la figure 1.3(b) présentent deux valeurs de Γ distinctes. Le taux d'émission spontanée est plus important pour l'émetteur déposé sur le substrat d'or que celui déposé sur du verre. Nous verrons dans la suite que cette différence du taux d'émission est essentiellement due à la partie imaginaire de l'indice optique de l'or traduisant les pertes non radiatives induites par ce milieu.

1.2.2 Expérience de Drexhage

L'idée que l'environnement influence les propriétés d'émission d'un émetteur fluorescent a été amenée lors d'une conférence par [PURCELL et collab. \[1946\]](#). La première mesure expérimentale prouvant que l'environnement influence le taux d'émission a été réalisée par [DREX-](#)

HAGE [1970a]. L'expérience consiste à déposer une fine couche d'ions Eu^{3+} à différentes distances d'un miroir d'argent et mesurer leur durée de vie. Les cercles noirs sur la figure 1.4 représentent les mesures de durée de vie τ des ions Eu^{3+} normalisée par rapport à celle obtenue loin du miroir (notée τ_0) en fonction de la distance au miroir d'argent.

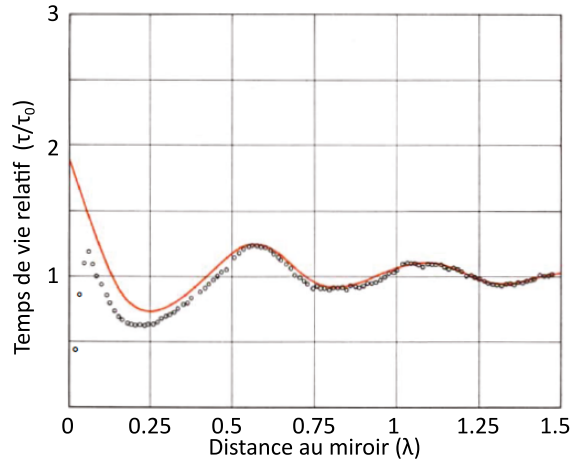


FIGURE 1.4 – Évolution de la durée de vie relative d'ions europium (Eu^{3+}) en fonction de la distance à un miroir d'argent (en unité de longueur d'onde). Les points noirs représentent les données expérimentales et la ligne rouge le modèle théorique d'interférence à deux dipôles. Figure tirée de DREXHAGE [1970b]

Sur cette figure, il apparaît que proche de la surface d'argent le temps de vie est fortement réduit et augmente de façon quasi-linéaire jusqu'à des distances de l'ordre de $\lambda/10$. Pour des distances supérieures à $\lambda/10$ des oscillations de la durée de vie sont clairement visibles. Ces oscillations s'expliquent par le jeu d'interférence constructive et destructive entre le champ émis et réfléchi par la surface d'argent en fonction de la distance du dipôle à l'interface. On peut aussi les expliquer en termes de l'interférence entre le rayonnement du dipôle et de son dipôle image induit dans le miroir d'argent. La courbe rouge de la figure 1.4 représente le modèle théorique basé sur l'interaction entre le rayonnement du dipôle et son image. Ce modèle explique relativement bien les oscillations observées en champ lointain. En revanche la décroissance rapide du temps de vie proche de l'interface ne peut pas être expliquée par ce seul argument d'interférence entre deux dipôles.

Il faudra attendre une dizaine d'années pour que CHANCE et collab. [1978] puissent interpréter cette décroissance rapide du temps de vie à proximité de l'interface généralement appelé "quenching". Pour compléter l'interprétation de DREXHAGE [1970a], CHANCE et collab. [1978] ont pris en compte les propriétés électromagnétiques des deux milieux. Les pertes non-radiatives engendrées par la nature métallique du miroir sont à l'origine de la diminution drastique de la durée de vie à proximité du miroir. Ces pertes sont modélisées par la partie imaginaire de l'indice optique de l'argent et peuvent être interprétées comme des canaux de désexcitation supplémentaires. Ces nouveaux modes de relaxation donnent lieu à une accé-

lération de l'émission des émetteurs qui se traduit par une diminution de la durée de vie de l'état excité.

1.3 Éléments de plasmonique

Comme nous l'avons déjà souligné, à l'échelle nanométrique, l'environnement peut modifier fortement le comportement du champ électrique et donner naissance à des phénomènes exotiques. Nous allons montrer dans la suite que le champ électrique peut être fortement exalté au voisinage des structures métalliques. Nous tirerons partie de ces exaltations au cours de l'étude qui sera menée sur un nanofil d'argent au chapitre 3.

1.3.1 Plasmons de surface

A l'interface entre un milieu diélectrique et un milieu métallique et sous certaines conditions d'illumination, un champ électromagnétique incident peut se coupler à l'interface de manière évanescente comme représenté sur le schéma 1.5(a). Ce type de couplage évanescent, appelé plasmon polariton de surface (ou SPP de l'anglais *Surface Plasmon Polariton*), est le résultat d'une oscillation collective des électrons à la surface du métal. Ce phénomène d'oscillation électronique est dû aux électrons de la bande de conduction du métal qui sont faiblement liés.

Définition et relation de dispersion d'un SPP

Sur la figure 1.5(a) nous représentons un cas d'école pour l'étude d'un SPP à l'interface de deux milieux semi-infinis. Un SPP est une onde de surface se propageant à l'interface d'un milieu diélectrique ($y > 0$, $\epsilon = \epsilon_d$) et métallique ($y < 0$, $\epsilon = \epsilon_m$). Le champ électrique à l'interface de ces deux milieux est solution de l'équation d'Helmoltz [MAIER, 2007]

$$\Delta \mathbf{E} + k_0^2 \epsilon \mathbf{E} = 0, \quad (1.33)$$

avec $k_0 = \frac{\omega}{c}$.

Nous nous intéressons à l'onde se propageant à l'interface selon l'axe x ($y = 0$) qui peut être écrite sous la forme $\mathbf{E}(x, y) = \mathbf{E}(y) \exp(i\beta x)$, avec $\beta = k_x$ la constante de propagation. L'équation d'Helmoltz peut être réécrite de la façon suivante :

$$\frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial y^2} + (k_0^2 \epsilon - \beta^2) \mathbf{E} = 0. \quad (1.34)$$

Pour un SPP se propageant dans la direction x , le champ électrique doit être proportionnel à :

$$\mathbf{E}_m(x) \propto \exp(i\beta x) \exp(k_m y) \quad (1.35)$$

pour les $y < 0$ dans le milieu métallique, et à

$$\mathbf{E}_d(x) \propto \exp(i\beta x) \exp(-k_d y) \quad (1.36)$$

pour les $y > 0$ dans le diélectrique. Ces deux expressions permettent de prendre en compte à la fois l'aspect propagatif et évanescent du SPP en fonction du milieu considéré. Dans ces expressions, $k_m^2 = \beta^2 - k_0^2 \epsilon_m(\omega)$ et $k_d^2 = \beta^2 - k_0^2 \epsilon_d$ ou $\epsilon_m(\omega)$ est la permittivité du métal dépendante de la pulsation, ϵ_d celle du milieu diélectrique, et β la constante de propagation du plasmon définie par $\beta = k_{spp} = k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_m(\omega)\epsilon_d}{\epsilon_m(\omega) + \epsilon_d}}$. Il est important de noter que le champ électrique d'un SPP peut également se décomposer selon deux états de polarisation [MAIER, 2007]. L'un normal à l'interface (selon y dans notre cas), et l'autre selon la direction de propagation.

La distance de confinement caractéristique d'un SPP est définie par $L_i = |\frac{1}{k_i}|$ avec $i = d$ ou m selon le milieu. Dans le diélectrique cette longueur caractéristique est de l'ordre de 100 nm, alors que dans le métal l'extension de l'onde évanescente est d'environ 10 nm pour des longueurs d'onde optiques. Ce confinement extrême de la lumière est l'une des propriétés les plus remarquables des SPPs. Nous verrons dans la suite que les résonances plasmoniques engendrées par des nanoparticules permettent de réduire drastiquement l'extension du plasmon dans le diélectrique et permettent des exaltations du champ électrique très importantes.

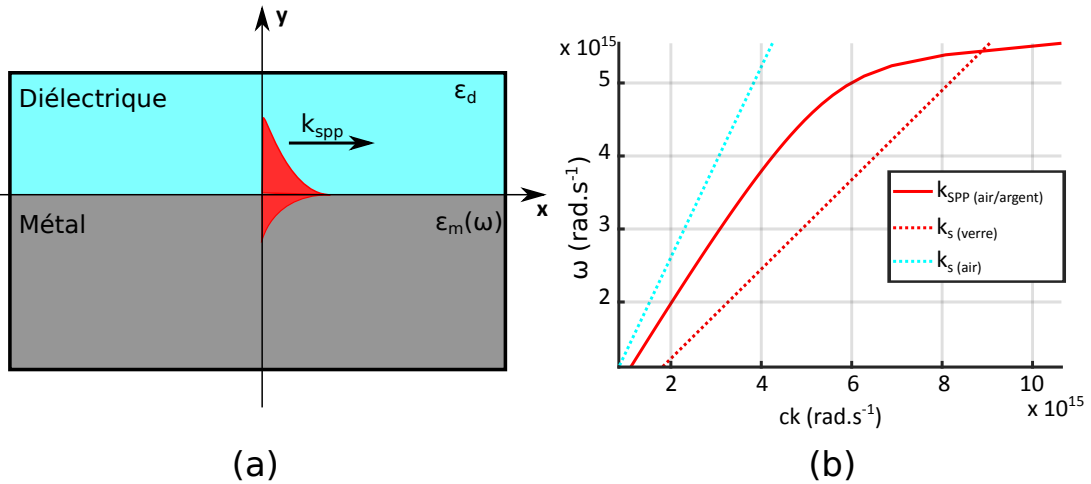


FIGURE 1.5 – (a) Schéma d'un SPP se propageant à l'interface d'un film métallique et d'un diélectrique. (b) La courbe pointillée bleue (rouge) représente la relation de dispersion d'une onde plane se propageant dans l'air (verre) avec un angle d'incidence $\theta = 50^\circ$. La courbe continue rouge représente la relation de dispersion pour un SPP à l'interface air/argent.

Condition d'excitation par une onde plane

Il est impossible d'exciter via l'espace libre un SPP se propageant sur une interface plane métal/diélectrique, car $\beta > k_d$. Cependant, il a été montré [KRETSCHMANN et RAETHER, 1968; OTTO, 1968] qu'il est possible d'exciter un plasmon dans un système multicouche constitué d'un film métallique fin entre deux milieux diélectriques de différents indices (comme par exemple du verre et de l'air). Pour justifier cela mathématiquement, définissons la relation de dispersion associée à une onde plane se propageant dans le diélectrique de permittivité plus grande ϵ_s et formant un angle d'incidence θ avec la normale à l'interface métal/diélectrique comme :

$$k_s = \sqrt{\epsilon_s} \frac{\omega}{c} \sin(\theta). \quad (1.37)$$

Cette relation de dispersion est représentée par les courbes en pointillé sur le graphique 1.5(b) pour une onde plane incidente avec un angle $\theta = 50^\circ$ dans l'air (courbe en pointillé bleu claire) et dans du verre (courbe en pointillé rouge). La relation de dispersion associée à un SPP à l'interface air/argent est représentée par la courbe rouge et intersecte la relation de dispersion dans du verre. Cela signifie que sous ce type d'illumination, et pour une onde plane se propageant dans du verre, un SPP peut être généré à l'interface air/argent à la pulsation de l'intersection. En revanche, si l'onde incidente se propageant dans de l'air (courbe en pointillé bleu claire), la relation de dispersion qui lui est associée ne croise pas celle du SPP. Il n'est donc pas possible de générer un SPP sous ce type d'illumination. Notons que, dans le cas où le milieu d'incidence est de l'air, aucun plasmon ne peut être excité et ce quelque soit l'angle de l'onde incidente.

1.3.2 Résonances plasmoniques

Lorsque une structure métallique de dimension nanométrique est illuminée par une onde électromagnétique, le phénomène d'oscillation du cortège électronique peut également avoir lieu. Si la dimension de la nanoparticule (NP) métallique est plus petite que l'épaisseur de peau du métal considéré, alors les électrons de conduction de la NP vont osciller de manière collective. On parle alors de plasmon de surface localisé. L'oscillation du cortège électronique de la NP va induire une polarisabilité α pouvant être calculée par la théorie de Mie. Dans le cas d'une NP sphérique de taille très inférieure à la longueur d'onde, entourée par un milieu homogène, la polarisabilité admet la solution analytique :

$$\alpha = 4\pi R^3 \frac{\epsilon_d - \epsilon_m(\omega)}{\epsilon_m(\omega) + 2\epsilon_d}, \quad (1.38)$$

avec R le rayon de la NP. Cette équation met en évidence que pour une certaine valeur de $\epsilon_m(\omega)$ tel que $\text{Re}(\epsilon_m(\omega)) = -2\epsilon_d$, la polarisabilité admet un maximum. Ce maximum se traduit

par une résonance plasmonique de la NP à la pulsation considérée. Lorsque cette condition de résonance est atteinte, l'exaltation du champ électrique au voisinage de la NP est maximum. La figure 1.6(a) représente la distribution du champ autour d'une NP sphérique à la longueur d'onde de résonance calculé par FDTD (de l'anglais *Finite Difference Time Domain*). Pour cette géométrie, le champ peut être exalté d'un facteur 7 par rapport à l'amplitude de l'onde incidente. Les propriétés de résonance des NP dépendent du matériau, du milieu environnant, de la taille, mais également de la géométrie. Pour illustrer ce point, la figure 1.6(b) représente la distribution du champ électrique autour d'une NP triangulaire obtenue par FDTD. Le champ au voisinage des pointes du nanotriangle est exalté par un facteur 34, soit presque 5 fois plus qu'avec une NP sphérique.

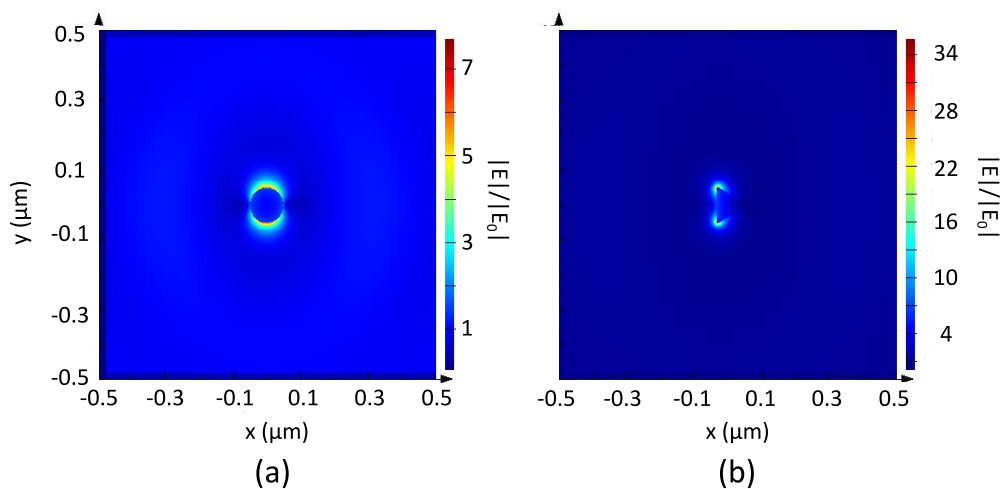


FIGURE 1.6 – Simulation FDTD de la distribution relative du champ ($|E|/|E_0|$) autour de nanoparticules d'or, dans un milieu d'indice 1.5, illuminé par une onde plane à la longueur d'onde de résonance se propageant selon z et polarisée selon y . (a) Pour une nanosphère d'or de 100 nm de diamètre. (b) Pour une nanoparticule triangulaire de 25 nm d'épaisseur et de 100 nm de côté. Le modèle d'or utilisé pour ces simulations FDTD est celui de [YAKUBOVSKY et collab. \[2017\]](#).

En combinant des nanostructures entre elles, il est possible d'obtenir des configurations dans lesquelles le champ est encore plus exalté. Par exemple, si deux triangles sont positionnés pointe à pointe, le champ entre les deux structures peut être exalté d'un facteur 1000 [[SUNDARAMURTHY et collab., 2005](#)]. Le facteur d'exaltation est cette fois-ci également lié à la distance entre la pointe des deux nanotriangles.

Il est donc possible d'obtenir des concentrations du champ optique extrêmement fortes au voisinage des NPs. De plus, en fonction de leur géométrie, les NPs peuvent diffuser le champ incident avec un diagramme de rayonnement qui leur est propre. Nous allons maintenant voir que ces structures peuvent être utilisées comme antennes permettant de manipuler la lumière à l'échelle nanométrique.

1.3.3 Antennes optiques

La caractéristique première d'une antenne est de convertir un champ propagatif (champ lointain) en champ proche et réciproquement [BHARADWAJ et collab., 2009]. Nous venons de voir que les résonances des NPs aux longueurs d'onde optiques permettent de concentrer l'énergie du champ incident dans des volumes extrêmement petits. Par réciprocity des équations de Maxwell, si une source de type dipôle est placée dans la zone de la NP où le champ est exalté, le champ rayonné présentera un diagramme de rayonnement conditionné par la géométrie de la NP. Il est important de noter qu'un dipôle placé à proximité d'une antenne verra son taux d'émission spontanée fortement augmenté [NOVOTNY et VAN HULST, 2011].

Grâce au développement des techniques de nanofabrication de plus en plus pointues et précises, il est désormais possible de concevoir des nanostructures avec une précision de quelques nanomètres. Cette technologie a permis d'accéder à toute une zoologie d'antennes optiques souvent basées sur des géométries d'antennes classiques comme par exemple des antennes de type Yagi-Uda [CURTO et collab., 2010; KOSAKO et collab., 2010], nanobâtonnet [NOVOTNY, 2007], ou encore triangulaires [GRAMOTNEV et BOZHEVOLNYI, 2014].

Dans le chapitre 5, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'utilisation de nano-antennes triangulaires comme éléments pour l'exaltation du couplage entre un dipôle et un guide d'onde diélectrique.

1.4 Techniques de microscopie de fluorescence en champ proche

Dans les parties précédentes, nous avons vu que l'interaction rayonnement-matière est un phénomène se produisant à des échelles nanométriques. Or, pour mettre en évidence expérimentalement ce comportement unique, les techniques de visualisation classiques se heurtent au problème de la diffraction de la lumière. En effet, la résolution d'un objet à imager est conditionnée par les caractéristiques du système optique et de la longueur d'onde à laquelle on l'observe. Dans cette partie, nous commencerons par introduire la limite de diffraction instrumentale, puis nous discuterons des deux techniques utilisées lors de cette thèse permettant de passer outre cette limitation.

1.4.1 Formation d'image et limite de diffraction

En microscopie, l'image d'un objet se fait à travers un système composé d'une ou plusieurs lentilles. L'image obtenue (U_i) est alors le résultat de la convolution de l'objet (U_0) avec la fonction de réponse du système optique utilisé :

$$U_i = \text{PSF} * U_0. \quad (1.39)$$

Cette fonction de réponse est appelée la fonction d'étalement du point ou PSF (de l'anglais *Point Spread Function*). Pour un système composé d'une seule lentille mince, et dans l'approximation de Fraunhofer, l'expression de la PSF en coordonnées radiales suit une fonction d'Airy définie comme :

$$\text{PSF}(r) = \left(\frac{k\text{NA}}{4}\right)^2 \left[2\frac{J_1(rk\text{NA})}{(rk\text{NA})}\right]^2, \quad (1.40)$$

avec k le vecteur d'onde et NA l'ouverture numérique de la lentille ($\text{NA} = n \cdot \sin\left[\arctan\left(\frac{D}{2d_i}\right)\right]$) où D est le diamètre de la lentille, d_i la distance entre la lentille et le plan image, et n l'indice optique du milieu). Cette fonction, appelée fonction d'Airy, correspond à l'image à travers la lentille d'un point infiniment petit positionné dans le plan objet. Le premier zéro de cette fonction est défini pour $r_0 = 1.22\frac{\lambda}{2\text{NA}}$.

Il existe plusieurs conventions pour définir le pouvoir de résolution d'un instrument optique. Le critère de Rayleigh, noté R_c est celui le plus couramment utilisé. Avec ce critère, deux points sont considérés comme résolus si la distance qui les sépare est strictement plus grande ou égale au premier minimum de la fonction d'Airy. A une longueur d'onde donnée, le critère de Rayleigh s'exprime alors comme $R_c = r_0$. Sous ce critère, la résolution accessible en microscopie conventionnelle avec un objectif d'ouverture numérique $\text{NA} = 1$ est environ la demi-longueur d'onde.

Il est cependant possible de passer outre la limite de diffraction avec des techniques de microscopie de fluorescence. Dans les parties suivantes nous allons présenter deux d'entre elles qui ont été utilisées au cours de cette thèse. L'une basée sur l'utilisation d'une pointe de microscope de champ proche optique à balayage et l'autre reposant sur la détection de molécules uniques photoactivables.

1.4.2 Sondes fluorescentes à balayage

La microscopie de balayage à sonde fluorescente, ou f-SNOM (de l'anglais *fluorescent Scanning Near-field Optical Microscopy*), consiste à mesurer le signal de fluorescence d'un émetteur greffé à la pointe d'un microscope à force atomique (ou AFM de l'anglais *Atomic Force Microscopy*) comme schématisé sur la figure 1.7(a). La pointe AFM est asservie par un système de régulation qui maintient sa position à une distance de quelques nanomètres de la surface de l'échantillon. La fluorescence de l'émetteur fixé sur la pointe est collectée par un objectif pour être ensuite dirigée vers un détecteur de photons uniques connecté à un module TCSPC. Grâce à ce type de montage, il est possible de balayer la surface de l'échantillon et de mesurer simultanément sa topographie ainsi que l'intensité de fluorescence et le taux d'émission spontanée de l'émetteur pour différentes positions (figures 1.7(b,c,d)). Pour réaliser ce balayage, la sonde fluorescente est déplacée par l'intermédiaire d'un moteur piézoélectrique. Ce dernier donne accès à la position de l'émetteur avec une précision du nanomètre. Cette technique de microscopie permet donc de réaliser des mesures avec une résolution de

l'ordre de quelques nanomètres, bien au-delà de la limite de diffraction aux longueurs d'onde optiques.

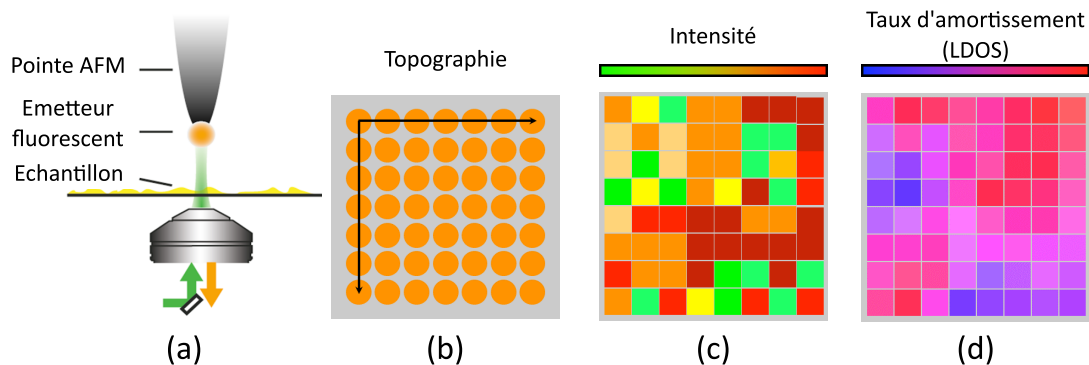


FIGURE 1.7 – (a) Schéma d'un microscope à sonde fluorescente à balayage. Carte schématique de la topographie (b), l'intensité (c), et du taux d'émission spontanée (LDOS) (d) obtenue avec ce type d'instrument.

Après les travaux pionniers de [ANGER et collab. \[2006\]](#), et de [KÜHN et collab. \[2006\]](#) sur le développement des f-SNOM, la première carte de durée de vie au voisinage d'une nanostructure métallique a été réalisée par [FRIMMER et collab. \[2011\]](#). Très rapidement les géométries, matériaux, et techniques utilisés pour concevoir les pointes du f-SNOM se sont diversifiés, donnant lieu à une large gamme de nouvelles études.

Les travaux de [MALETINSKY et collab. \[2012\]](#) proposent par exemple une pointe f-SNOM originale fabriquée à partir d'une technique de gravure sur diamant (etching). Les pointes f-SNOM obtenues présentent un faible rayon de courbure d'environ 200 nm. De plus, il est possible d'implanter avec une très bonne précision un centre NV (nitrogen vacancy) en extrémité de pointe via un faisceau d'électrons. Ces centres NV sont des émetteurs fluorescents qui ont la particularité de posséder deux types de transitions radiatives : l'une magnétique et l'autre électrique. La transition magnétique des centres NV permet de réaliser des mesures de magnétométrie très sensibles avec une résolution spatiale de quelques nanomètres [[PELLICIONE et collab., 2016](#); [THIEL et collab., 2016](#)].

Un autre type de pointe f-SNOM permettant de capturer des émetteurs fluorescents en solution a été développée par [BERTHELOT et collab. \[2014\]](#). Sur l'extrémité de cette pointe un motif en forme de papillon est gravé (deux triangles inversés positionnés pointe-à-pointe); ce motif va jouer le rôle d'antenne plasmonique. En illuminant l'extrémité de la pointe via la pointe elle-même, l'exaltation du champ induite par cette antenne va permettre de piéger des émetteurs fluorescents selon le même principe que les pinces optiques. Une fois l'émetteur capturé, il est alors possible de le déplacer en actionnant la pointe f-SNOM.

En 2013, notre équipe de l'Institut Langevin a également développé un dispositif de microscopie à balayage à sonde fluorescente utilisant une pointe en silice [[KRACHMALNICOFF et collab., 2013](#)]. Grâce à ce dispositif, il a été possible de sonder l'interaction radiative et non-

radiative d'émetteurs fluorescents avec des objet nanostructurés métalliques [CAO et collab., 2015], ou diélectriques [BOUCHET et collab., 2016]. Dans le chapitre 4 nous montrerons que ce f-SNOM peut être utilisé pour sonder le champ diffusé au voisinage d'une nanofibre par des mesures d'intensité de fluorescence [LOO et collab., 2019].

Cette technique de microscopie de fluorescence à balayage est très performante pour venir sonder l'interaction de la lumière avec la matière aux échelles nanométriques. Néanmoins, ce genre d'expérience demande un savoir-faire expérimental important et nécessite des installations relativement onéreuses. De plus, la pointe f-SNOM peut perturber localement le champ optique et donc créer des artefacts sur les mesures. Des techniques de mesure super-résolue alternatives aux sondes fluorescentes à balayage, moins invasives, commencent à être utilisées en nanophotonique. Elles reposent principalement sur la détection en champ lointain d'un grand nombre d'émetteurs fluorescents dispersés à la surface d'un échantillon.

1.4.3 Microscopie super-résolue en molécule unique

La capacité technique de détecter le rayonnement de molécules fluorescentes en champ lointain à l'échelle de la molécule unique [ORRIT et BERNARD, 1990], est à l'origine d'une révolution dans le domaine de la microscopie optique plein champ. En 2006, deux équipes ont développé en parallèle une technique appelée PALM (*Photo-Activated Localisation Microscopy*) [BETZIG et collab., 2006] [HESS et collab., 2006] permettant de localiser des molécules fluorescentes photo-activables avec une précision de l'ordre de la dizaine de nanomètres. La même année, RUST et collab. [2006] proposent une technique de microscopie similaire dite STORM pour *Stochastic Optical Reconstruction Microscopy*. Ces méthodes de microscopie ont donné naissance à ce que l'on appelle aujourd'hui la microscopie de fluorescence super-résolue en molécule unique (ou SMLM pour *Single Molecule Localisation Microscopy*). Comme nous le verrons dans la suite, ces techniques se sont révélées être un outil d'investigation scientifique remarquable en biophysique et sont de plus en plus utilisées aussi en nanophotonique.

Localisation et incertitude

Le principe de la SMLM repose sur la détection individuelle des PSFs de molécules fluorescentes par l'intermédiaire d'une caméra de très haute sensibilité. Le contrôle des propriétés d'émission de ces molécules (dites photo-activables [PATTERSON et LIPPINCOTT-SCHWARTZ, 2002]) permet de mesurer leur PSFs individuelles même si leur distance est en dessous de la limite de diffraction. Lorsqu'elles sont dans un milieu homogène non résonnant, les molécules photo-activables peuvent être considérées comme des sources de lumière ponctuelles. Leur position peut donc être estimée en réalisant un ajustement paramétrique gaussien sur leur PSF échantillonnée sur plusieurs pixels de la caméra, ce qui permet d'extraire la position de la molécule avec une très bonne précision. L'erreur sur la localisation d'une molécule suite

à cet ajustement est donnée par la relation suivante [QUAN et collab., 2010] :

$$\Delta x^2 = \frac{2\sigma^2 + a^2/12}{N} + \frac{8\pi\sigma^4 b}{a^2 N^2}, \quad (1.41)$$

avec σ la largeur de la gaussienne, a la taille d'un pixel de la caméra, N le nombre de photons de fluorescence, et b la déviation standard du bruit de fond résiduel entre la PSF mesurée et celle estimée. Cette équation montre que l'erreur sur la position de l'émetteur fluorescent est principalement conditionnée par le nombre de photons collectés, ainsi que la largeur de la PSF estimée par l'ajustement gaussien. Nous verrons dans le chapitre 3 que des molécules en interactions de champ proche avec des nanostructures résonnantes peuvent avoir leur PSF fortement modifiées et donc entraîner des erreurs de localisation.

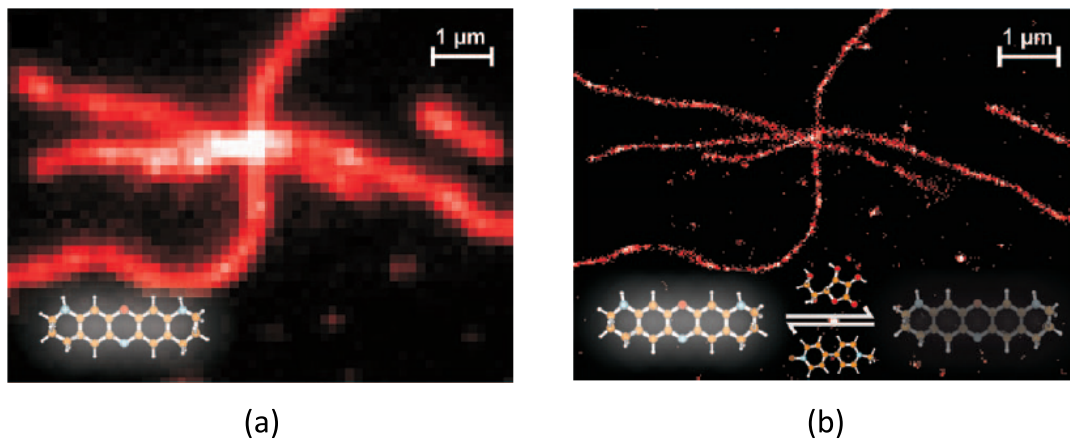


FIGURE 1.8 – (a) Image en microscopie conventionnelle ((b) super-résolue) de filaments d'actine [VOGELSANG et collab., 2010].

Grâce à cette méthode de super-localisation il est possible de réaliser des images avec une résolution nanométrique aux longueurs d'onde optiques. La figure 1.8(a) représente une image de filaments d'actine obtenue par microscopie de fluorescence conventionnelle. La résolution des structures présentes sur l'échantillon est de l'ordre de la demi longueur d'onde. Lorsque la méthode de super-résolution est appliquée à ce même échantillon (image 1.8(b)) la résolution est améliorée d'un facteur 20. Avec cette technique d'imagerie, l'organisation des filaments d'actine devient clairement visible et certains filaments qui pouvaient sembler uniques en microscopie conventionnelle font apparaître leur multiplicité, ainsi que leur dimension réelle.

Les molécules fluorescentes photo-activables

Les échantillons comme celui présenté sur la figure 1.8 sont généralement marqués avec un très grand nombre de molécules fluorescentes. Pour appliquer la méthode de SMLM et ob-

tenir des images super-résolues, il est impératif de pouvoir mesurer les PSFs des molécules à l'échelle de la molécule unique. En effet, si deux molécules voisines l'une de l'autre et séparées par une distance inférieure à celle définie par le critère de Rayleigh émettent simultanément, il sera alors impossible de distinguer clairement les deux PSF et de les associer aux molécules concernées. Pour palier ce problème, il est donc nécessaire d'avoir seulement quelques molécules qui émettent de manière sporadique à la surface de l'échantillon. Ceci est rendu possible par l'utilisation de fluorophores photo-activables.

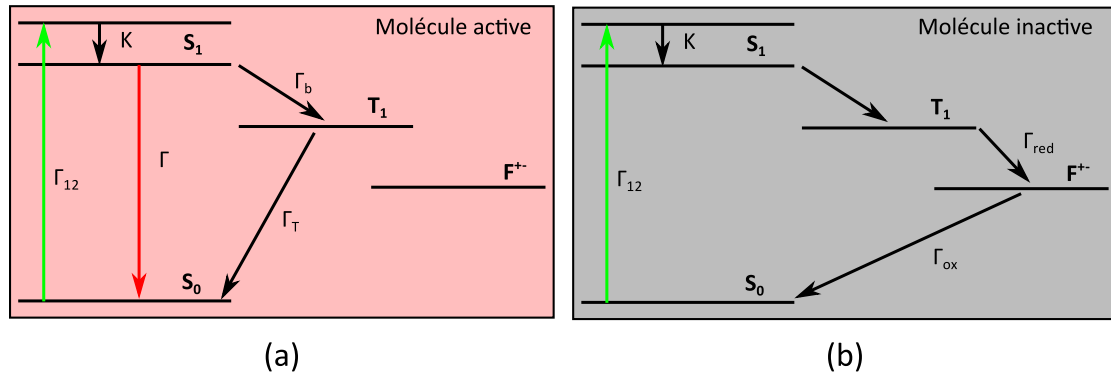


FIGURE 1.9 – Schémas des processus de photo-activation ayant lieu au sein de molécules fluorescentes : (a) Molécule active. (b) Molécule inactive.

Le principe de la photo-activation consiste à contrôler l'émission de fluorescence d'un ensemble de molécules (ou protéines). Ce contrôle permet d'avoir un nombre suffisamment faible de molécules activées simultanément, et donc de pouvoir les distinguer les unes des autres [VOGELSANG et collab., 2010]. Une molécule photo-activable oscille entre deux configurations distinctes, active ou inactive. Lorsque la molécule est active, elle est apte à émettre des photons de fluorescence. Cette configuration est schématisée par le diagramme énergétique de la figure 1.9(a) qui est similaire à celui d'un système à trois niveaux discuté dans la partie 1.1.3. L'état fondamental est représenté par le niveau S_0 , et le niveau d'émission spontanée par S_1 . Ce diagramme énergétique est complété par un niveau métastable T_1 d'une durée de vie généralement de l'ordre de la milliseconde. La transition vers cet état, ainsi que sa relaxation vers l'état fondamental se fait via des transitions non radiatives. Cet état est à l'origine du scintillement très rapide de la molécule (blinking). Lorsque le fluorophore est dans l'état T_1 , il existe une probabilité Γ_{red} pour que ce dernier passe dans l'état F^{+-} . La transition de T_1 vers F^{+-} se produit suite à une reconfiguration à l'échelle atomique de l'émetteur par réduction (perte d'un dioxygène). Lorsque l'émetteur est dans le niveau F^{+-} (schéma 1.9(b)), il est alors inactif et ne peut plus émettre de photon. La transition de F^{+-} vers l'état fondamental S_0 se fait également chimiquement par oxydation du fluorophore (capture d'un dioxygène), la probabilité régissant ce processus est notée Γ_{ox} . Les probabilités d'oxydo-réduction Γ_{ox} et

Γ_{red} peuvent être ajustées chimiquement en contrôlant la concentration en catalyseur de réduction et la concentration en dioxygène au sein de la solution tampon dans laquelle baigne le fluorophore. En ajustant correctement ces concentrations, il est possible d'avoir la quasi totalité des émetteurs à la surface d'un échantillon dans l'état inactif F^{+-} , et seulement quelques-uns actifs sur une période de quelques dizaines de millisecondes [VAN DE LINDE et collab., 2011].

Comme nous venons de le voir, le contrôle des propriétés de fluorescence d'émetteurs uniques via les processus de photo-activation est allé de pair avec le développement de la microscopie de fluorescence super-résolue. Cette technique de microscopie a rencontré un très vif succès principalement dans la communauté de la biologie [SCHERMELLEH et collab., 2019] et commence également à se démocratiser dans le domaine de la nanophotonique.

1.4.4 Microscopie super-résolue en nanophotonique

En plus de la localisation des molécules uniques à l'échelle nanométrique et donc la densité de molécules sur l'échantillon, la microscopie de super-résolution permet d'extraire l'intensité de fluorescence ainsi que la durée de vie à l'échelle de l'émetteur unique. Les techniques de microscopie de super-résolution en nanophotonique sont principalement basées sur des méthodes de type STORM/PALM et PAINT (de l'anglais *Points Accumulation for Imaging in Nanoscale Topography*). Cette dernière technique, contrairement au PALM et au STORM, n'utilise pas des molécules photoactivables. Les molécules fluorescentes sont en solution et vont venir se fixer sur des sites d'amarrage répartis sur toute la surface de l'échantillon ou à des endroits spécifiques. Les molécules alors fixées vont rester liées à la surface de l'échantillon pendant quelques dizaines de millisecondes avant d'être libérées de nouveau. Grâce à ce processus d'absorption et de désorption les PSFs des molécules fluorescentes peuvent être mesurées de manière individuelle.

Mesure d'intensité super-résolue

L'intensité rayonnée par un émetteur fluorescent permet de fournir certaines informations sur les propriétés de son environnement proche. Grâce à des mesures d'intensité à l'échelle de la molécule unique réalisées par PAINT, WERTZ et collab. [2015] ont montré qu'au voisinage de nanodisques plasmoniques, l'intensité de fluorescence des molécules peut être modifiée. A la résonance plasmonique de la nanostructure, l'intensité de fluorescence des molécules est exaltée par un facteur 15. En revanche, lorsque le nanodisque n'est pas accordé, l'intensité de fluorescence n'est pas modifiée.

Une étude a également été menée par [JOHLIN et collab., 2016] au voisinage d'un nanofil de silicium. En comparant l'intensité de fluorescence mesurée à proximité du nanofil à des simulations FDTD, les auteurs ont pu caractériser la fraction d'énergie rayonnée en champ lointain ou couplée à des modes guidés dans le nanofil. La même année, [SU et collab., 2016]

ont pu déterminer le diagramme de rayonnement d'un nanobâtonnet excité par des molécules fluorescentes en combinant la microscopie super-résolue à la microscopie de fluorescence défocalisée.

Plus récemment, une étude menée par [TAYLOR et collab., 2018] a montré qu'il est possible de reconstruire correctement la forme d'un nanobâtonnet d'or en choisissant des molécules dont la longueur d'onde d'émission est décalée par rapport à la résonance de la nanoparticule. Cet article est particulièrement intéressant car il permet de pointer du doigt un des problèmes majeurs concernant l'application de cette technique de microscopie à l'étude de structures plasmoniques. En effet, comme nous le verrons plus en détail dans le chapitre 3 une structure plasmonique émet selon un diagramme de rayonnement qui lui est propre. Ceci pose des problèmes pour la localisation des molécules par mesure de leur PSF. Ce phénomène a été mis en évidence entre autre à travers les travaux de RAAB et collab. [2017]. Cette étude sera discutée plus amplement dans la partie 3.3.1.

Imagerie super-résolue de la durée de vie

L'ensemble des travaux présentés précédemment est basé sur la mesure de l'intensité de fluorescence ou de la densité de marqueurs au voisinage de la nanostructure. Or, pour caractériser en détail l'interaction rayonnement-matière proche d'une structure plasmonique, la grandeur la plus pertinente est la LDOS. Cette grandeur est directement proportionnelle au taux d'émission spontanée d'un émetteur fluorescent. De plus, la mesure du taux de désexcitation est plus robuste qu'une mesure d'intensité car elle est indépendante de l'illumination de l'échantillon, ne dépend pas de la probabilité d'absorption de l'émetteur et n'est pas liée à la capacité de collection du système optique utilisé, contrairement à une mesure d'intensité.

Une technique originale couplant mesure du taux d'émission et microscopie de super-résolution a été proposée par GUO et collab. [2016]. L'expérience consiste à mesurer simultanément la position et le taux d'émission spontanée de plusieurs billes fluorescentes (de 40 nm de diamètre) dispersées sur un échantillon composé d'un ensemble de structures plasmoniques (de 140 nm de diamètre) agencées selon un motif périodique. La périodicité de cet échantillon permet de définir une cellule élémentaire. En répétant la mesure de position et de durée de vie sur différentes billes à différents endroits de l'échantillon pour échantillonner la cellule élémentaire, et en superposant les résultats obtenus sur plusieurs nanostructures, les auteurs ont pu reconstruire une carte du taux d'émission de la cellule élémentaire.

Une seconde expérience proposée par ROPP et collab. [2013] utilise une boîte quantique comme émetteur fluorescent. Cet émetteur est enfermé dans une chambre microfluidique au sein de laquelle un écoulement peut être généré et contrôlé via quatre pipettes microfluidiques. Grâce à ce contrôle, l'émetteur peut être déplacé et sa position connue de manière relative avec une précision de l'ordre de quelques nanomètres. La position de l'émetteur étant connue a priori, les auteurs ont pu réaliser des cartes du taux d'émission spontanée en dépla-

çant l'émetteur au voisinage d'un nanofil d'argent et en mesurant point par point son taux d'émission à la manière d'un f-SNOM.

Ces deux dernières expériences ont l'originalité de coupler la mesure de durée de vie d'un émetteur fluorescent à sa position sans l'utilisation d'une pointe f-SNOM. Néanmoins, ces techniques présentent certaines contraintes expérimentales. Par exemple, la méthode proposée par [GUO et collab. \[2016\]](#) ne peut être utilisée que sur des échantillons périodiques, et celle de [ROPP et collab. \[2013\]](#) nécessite une mise en œuvre ainsi qu'un savoir faire expérimental important. C'est dans ce contexte qu'une nouvelle méthode d'imagerie super-résolue de durée de vie a été développée par Dorian Bouchet dans le cadre de sa thèse de doctorat à l'Institut Langevin. Cette technique est plus simple d'utilisation et plus versatile que celles présentées jusqu'à maintenant. Un des enjeux de la présente thèse a été d'en améliorer les performances.

1.4.5 Microscopie de durée de vie de fluorescence avec des molécules photo-activables

La technique que nous allons maintenant présenter combine la microscopie de super-résolution et la mesure de durée de vie. En plus de la position et de l'intensité, l'information sur la durée de vie à l'échelle d'un émetteur unique est également extraite par cette méthode [[BOUCHET et collab., 2019](#)]. L'intérêt majeur de ce montage expérimental est de pouvoir réaliser simultanément des cartes de densité, d'intensité et de taux d'émission spontanée (LDOS) sur des échantillons marqués avec un très grand nombre d'émetteurs fluorescents. De plus, cette technique est facile à mettre en œuvre par rapport à tout ce qui a été fait jusqu'à présent.

L'expérience consiste à exciter un ensemble de molécules photo-activables tapissant la surface d'un échantillon via un laser pulsé. Le caractère photo-activable des molécules permet de moduler à son gré le nombre de molécules allumées simultanément dans une région de l'échantillon de taille donnée. Comme nous le verrons dans la suite, ce paramètre est très important pour la viabilité de notre technique. Une fraction de la lumière de fluorescence issue d'une molécule active est dirigée vers une caméra de très haute sensibilité. L'autre fraction est quant à elle envoyée vers un détecteur de photons uniques (SPAD de l'anglais *Single Photon Avalanche Diode*) connecté à un module TCSPC. Le temps d'intégration d'une image provenant de la caméra est de 30 ms. Cette durée correspond au temps typique d'activation d'une molécule.

Le schéma de la figure [1.10\(a\)](#) représente la mesure de la PSF d'une molécule active sur une image de la caméra. Cette PSF est ajustée par une fonction gaussienne pour obtenir la position super-résolue de la molécule considérée (voir l'image [1.10\(b\)](#)). La courbe [1.10\(c\)](#) représente la trace d'intensité de fluorescence en fonction du temps provenant de cette même molécule, mesurée cette fois-ci par le SPAD. A partir des photons de fluorescence, l'histogramme de décroissance (cf figure [1.10\(d\)](#)) est reconstruit et ajusté par une fonction mono-exponentielle décroissante pour extraire le taux d'émission spontanée de la molécule (figure

1.10). La position, ainsi que le taux d'émission mesuré sont alors associés à une seule et unique molécule.

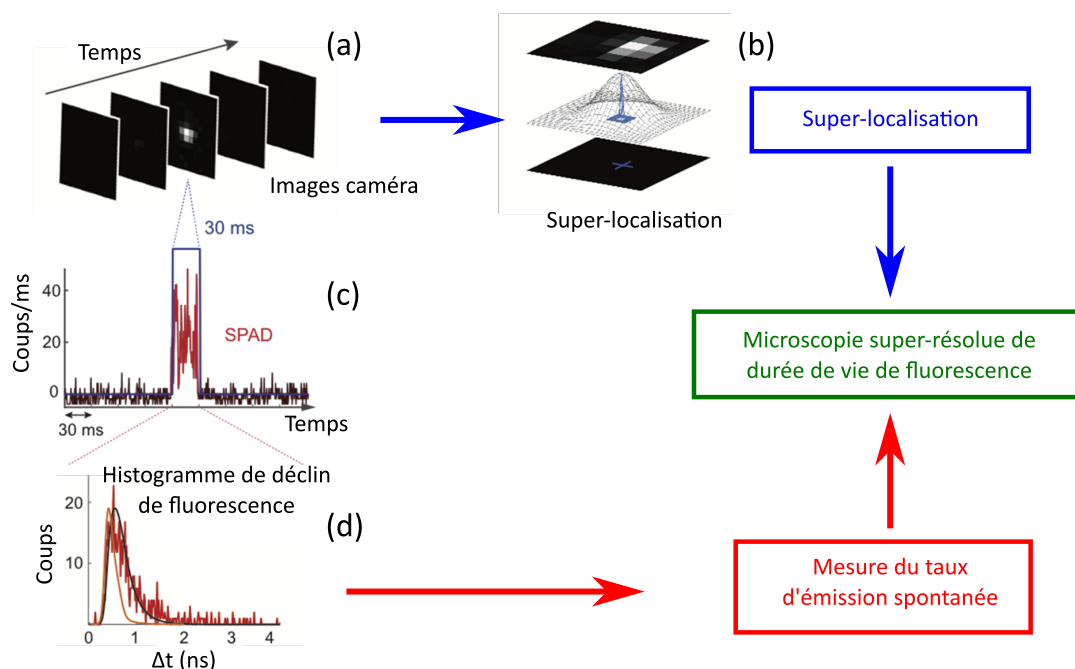


FIGURE 1.10 – Méthode d'acquisition de microscopie super-résolue de durée de vie. (a) Images enregistrées par la caméra. Une molécule fluorescente est détectée sur l'image centrale. (b) Méthode de super-localisation appliquée à un événement détecté par la caméra. (c) Intensité de fluorescence en fonction du temps mesurée par le SPAD. La partie rouge de la courbe correspond à une émission de fluorescence de la molécule détecté sur l'image (a). (d) Histogramme de déclin de fluorescence (courbe rouge) associé à l'événement détecté simultanément par la caméra et le SPAD. La courbe orange représente la fonction de réponse impulsionnelle du laser et la courbe noire l'ajustement paramétrique de l'histogramme de déclin de fluorescence.

La combinaison de la position avec le taux d'émission spontanée est réalisée pour chaque molécule détectée simultanément par la caméra et le SPAD. Une fois cette étape de traitement terminée, il est possible de reconstruire une carte du taux d'émission sur l'ensemble de la zone de l'échantillon imagée avec une précision de l'ordre de la dizaine de nanomètres. Pendant cette thèse nous avons construit un nouveau montage expérimental complètement dédié à cette nouvelle technique de microscopie [BLANQUER et collab., 2020]. Le dispositif expérimental sera présenté plus en détail dans le chapitre suivant. Nous discuterons également des modifications et améliorations apportées à cette expérience lors de cette thèse notamment celles concernant l'extension du champ de vue expérimental.

1.5 Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons vu que l'émission d'un émetteur fluorescent est conditionnée par son environnement. Les propriétés d'émission d'un fluorophore assimilé à un dipôle ont été formalisées à partir des fonction de Green. De ce formalise découlent naturellement les expressions de la puissance rayonnée, du taux d'amortissement et de la densité locale d'états électromagnétiques. De plus, ces trois grandeurs sont reliées entre elles. Mesurer le taux d'amortissement d'un émetteur fluorescent revient donc à mesurer la LDOS. Cette grandeur représente la densité de modes disponibles pour la désexcitation d'un émetteur. Plus elle sera importante plus l'émetteur pourra se désexciter rapidement, et donc plus il sera couplé à son environnement. C'est pourquoi il est pertinent d'utiliser la LDOS pour caractériser au mieux l'interaction rayonnement-matière.

Les objets nanostructurés comme les antennes plasmoniques présentent des propriétés remarquables notamment pour convertir le champ proche en champ lointain et réciproquement. Sonder la LDOS au voisinage de ces nano-objets permet de caractériser au mieux leurs propriétés optiques. Pour réaliser ces mesures, deux familles de techniques permettant d'extraire la LDOS avec une précision sub-longueur d'onde ont été présentées. Premièrement, la microscopie à sonde fluorescente à balayage (f-SNOM). Cette méthode consiste à mesurer la lumière de fluorescence d'un émetteur greffé au bout d'une pointe f-SNOM. En déplaçant la pointe f-SNOM à la surface d'un échantillon, et en mesurant point par point le taux d'émission de l'émetteur, il est possible de reconstruire une carte de la distribution de la LDOS à la surface de l'échantillon. La deuxième technique est basée sur la microscopie de fluorescence super-résolue. Cette méthode utilise un ensemble d'émetteurs fluorescents activés de manière sporadique. Grâce au contrôle de l'activation des molécules fluorescentes, il est possible de localiser un fluorophore avec une précision de l'ordre du nanomètre en ajustant une gaussienne sur la PSF mesurée par une caméra à haute sensibilité. Cette technique permet également d'extraire le taux de déclin de ce même fluorophore via une mesure effectuée simultanément à l'aide d'un SPAD et d'un module TCSPC.

La technique expérimentale initialement développée lors de la thèse de doctorat de **BOUCHET [2017]** a permis de réaliser des mesures de LDOS au voisinage d'un nanofil d'argent. Ces mesures ont pu servir de preuve de concept, et ont démontré la viabilité de la nouvelle méthode. Néanmoins, le champ de vue avec la première version de l'expérience était limité à une zone de $1 \times 1 \mu\text{m}^2$. Une partie de cette thèse a été consacrée à l'extension du champ de vue via un prototype constitué de 8 détecteurs SPADs adjacents les uns aux autres. Le développement expérimental sera présenté en détail dans le chapitre suivant. Les résultats expérimentaux obtenus avec ce prototype sur un échantillon de nanofils d'argent seront exposés dans le chapitre 3. Ces résultats seront accompagnés d'une étude poussée du comportement des molécules au voisinage de cette structure.

1.6 Références

- ANGER, P., P. BHARADWAJ et L. NOVOTNY. 2006, «Enhancement and quenching of single-molecule fluorescence», *Physical review letters*, vol. 96, n° 11, p. 113 002. [23](#)
- BERTHELOT, J., S. AĆIMOVIĆ, M. JUAN, M. KREUZER, J. RENGER et R. QUIDANT. 2014, «Three-dimensional manipulation with scanning near-field optical nanotweezers», *Nature nanotechnology*, vol. 9, n° 4, p. 295. [23](#)
- BETZIG, E., G. H. PATTERSON, R. SOUGRAT, O. W. LINDWASSER, S. OLENYCH, J. S. BONIFACINO, M. W. DAVIDSON, J. LIPPINCOTT-SCHWARTZ et H. F. HESS. 2006, «Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution», *Science*, vol. 313, n° 5793, p. 1642–1645. [24](#)
- BHARADWAJ, P., B. DEUTSCH et L. NOVOTNY. 2009, «Optical antennas», *Advances in Optics and Photonics*, vol. 1, n° 3, p. 438–483. [21](#)
- BLANQUER, G., B. VAN DAM, A. GULINATTI, G. ACCONCIA, M. Y. DE WILDE, I. IZEDDIN et V. KRACHMALNICOFF. 2020, «Relocating single-molecules in super-resolved fluorescence lifetime images near a plasmonic nanostructure», *ACS Photonics*. [30](#)
- BOUCHET, D. 2017, *Plasmon-mediated energy transfer and super-resolution imaging in the near field of nanostructured materials*, thèse de doctorat, PSL Research University. [31](#)
- BOUCHET, D., M. MIVELLE, J. PROUST, B. GALLAS, I. OZEROV, M. F. GARCIA-PARAJO, A. GULINATTI, I. RECH, Y. DE WILDE, N. BONOD et collab.. 2016, «Enhancement and inhibition of spontaneous photon emission by resonant silicon nanoantennas», *Physical Review Applied*, vol. 6, n° 6, p. 064 016. [24](#)
- BOUCHET, D., J. SCHOLLER, G. BLANQUER, Y. DE WILDE, I. IZEDDIN et V. KRACHMALNICOFF. 2019, «Probing near-field light–matter interactions with single-molecule lifetime imaging», *Optica*, vol. 6, n° 2, p. 135–138. [29](#)
- CAO, D., A. CAZÉ, M. CALABRESE, R. PIERRAT, N. BARDOU, S. COLLIN, R. CARMINATI, V. KRACHMALNICOFF et Y. DE WILDE. 2015, «Mapping the radiative and the apparent non-radiative local density of states in the near field of a metallic nanoantenna», *ACS Photonics*, vol. 2, n° 2, p. 189–193. [24](#)
- CARMINATI, R., A. CAZÉ, D. CAO, F. PERAGUT, V. KRACHMALNICOFF, R. PIERRAT et Y. DE WILDE. 2015, «Electromagnetic density of states in complex plasmonic systems», *Surface Science Reports*, vol. 70, n° 1, p. 1–41. [7, 8](#)
- CHANCE, R., A. PROCK et R. SILBEY. 1978, «Molecular fluorescence and energy transfer near interfaces», *Advances in chemical physics*, vol. 37, p. 1–65. [16](#)

- CURTO, A. G., G. VOLPE, T. H. TAMINIAU, M. P. KREUZER, R. QUIDANT et N. F. VAN HULST. 2010, «Unidirectional emission of a quantum dot coupled to a nanoantenna», *Science*, vol. 329, n° 5994, p. 930–933. [21](#)
- DREXHAGE, K. 1970a, «Influence of a dielectric interface on fluorescence decay time», *Journal of luminescence*, vol. 1, p. 693–701. [15](#), [16](#)
- DREXHAGE, K. H. 1970b, «Monomolecular layers and light», *Scientific American*, vol. 222, n° 3, p. 108–120. [16](#)
- FRIMMER, M., Y. CHEN et A. F. KOENDERINK. 2011, «Scanning emitter lifetime imaging microscopy for spontaneous emission control», *Physical review letters*, vol. 107, n° 12, p. 123 602. [23](#)
- GRAMOTNEV, D. K. et S. I. BOZHEVOLNYI. 2014, «Nanofocusing of electromagnetic radiation», *Nature Photonics*, vol. 8, n° 1, p. 13. [21](#)
- GUO, K., M. A. VERSCHUUREN et A. F. KOENDERINK. 2016, «Superresolution imaging of the local density of states in plasmon lattices», *Optica*, vol. 3, n° 3, p. 289–298. [28](#), [29](#)
- HESS, S. T., T. P. GIRIRAJAN et M. D. MASON. 2006, «Ultra-high resolution imaging by fluorescence photoactivation localization microscopy», *Biophysical journal*, vol. 91, n° 11, p. 4258–4272. [24](#)
- JOHLIN, E., J. SOLARI, S. A. MANN, J. WANG, T. S. SHIMIZU et E. C. GARNETT. 2016, «Super-resolution imaging of light–matter interactions near single semiconductor nanowires», *Nature communications*, vol. 7, p. 13 950. [27](#)
- KOSAKO, T., Y. KADOYA et H. F. HOFMANN. 2010, «Directional control of light by a nano-optical yagi–uda antenna», *Nature Photonics*, vol. 4, n° 5, p. 312. [21](#)
- KRACHMALNICOFF, V., D. CAO, A. CAZÉ, E. CASTANIÉ, R. PIERRAT, N. BARDOU, S. COLLIN, R. CARMINATI et Y. DE WILDE. 2013, «Towards a full characterization of a plasmonic nanostructure with a fluorescent near-field probe», *Optics express*, vol. 21, n° 9, p. 11 536–11 545. [23](#)
- KRETSCHMANN, E. et H. RAETHER. 1968, «Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light», *Zeitschrift für Naturforschung A*, vol. 23, n° 12, p. 2135–2136. [19](#)
- KÜHN, S., U. HÅKANSON, L. ROGOBETE et V. SANDOGHDAR. 2006, «Enhancement of single-molecule fluorescence using a gold nanoparticle as an optical nanoantenna», *Physical review letters*, vol. 97, n° 1, p. 017 402. [23](#)

- VAN DE LINDE, S., A. LÖSCHBERGER, T. KLEIN, M. HEIDBREDER, S. WOLTER, M. HEILEMANN et M. SAUER. 2011, «Direct stochastic optical reconstruction microscopy with standard fluorescent probes», *Nature protocols*, vol. 6, n° 7, p. 991. [27](#)
- LOO, V., G. BLANQUER, M. JOOS, Q. GLORIEUX, Y. DE WILDE et V. KRACHMALNICOFF. 2019, «Imaging light scattered by a subwavelength nanofiber, from near field to far field», *Optics express*, vol. 27, n° 2, p. 350–357. [24](#)
- MAIER, S. A. 2007, *Plasmonics : fundamentals and applications*, Springer Science & Business Media. [17](#), [18](#)
- MALETINSKY, P., S. HONG, M. S. GRINOLDS, B. HAUSMANN, M. D. LUKIN, R. L. WALSWORTH, M. LONCAR et A. YACOBY. 2012, «A robust scanning diamond sensor for nanoscale imaging with single nitrogen-vacancy centres», *Nature nanotechnology*, vol. 7, n° 5, p. 320. [23](#)
- NOVOTNY, L. 2007, «Effective wavelength scaling for optical antennas», *Physical Review Letters*, vol. 98, n° 26, p. 266 802. [21](#)
- NOVOTNY, L. et B. HECHT. 2012, *Principles of nano-optics*, Cambridge university press. [7](#)
- NOVOTNY, L. et N. VAN HULST. 2011, «Antennas for light», *Nature photonics*, vol. 5, n° 2, p. 83. [21](#)
- ORRIT, M. et J. BERNARD. 1990, «Single pentacene molecules detected by fluorescence excitation in a p-terphenyl crystal», *Physical review letters*, vol. 65, n° 21, p. 2716. [24](#)
- OTTO, A. 1968, «Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection», *Zeitschrift für Physik A Hadrons and nuclei*, vol. 216, n° 4, p. 398–410. [19](#)
- PATTERSON, G. H. et J. LIPPINCOTT-SCHWARTZ. 2002, «A photoactivatable gfp for selective photolabeling of proteins and cells», *Science*, vol. 297, n° 5588, p. 1873–1877. [24](#)
- PELLICCIONE, M., A. JENKINS, P. OVARTCHAIYAPONG, C. REETZ, E. EMMANOUILIDOU, N. NI et A. C. B. JAYICH. 2016, «Scanned probe imaging of nanoscale magnetism at cryogenic temperatures with a single-spin quantum sensor», *Nature nanotechnology*, vol. 11, n° 8, p. 700. [23](#)
- PURCELL, E. M., H. C. TORREY et R. V. POUND. 1946, «Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid», *Physical review*, vol. 69, n° 1-2, p. 37. [15](#)
- QUAN, T., S. ZENG et Z. HUANG. 2010, «Localization capability and limitation of electron-multiplying charge-coupled, scientific complementary metal-oxide semiconductor, and charge-coupled devices for superresolution imaging», *Journal of biomedical optics*, vol. 15, n° 6, p. 066 005. [25](#)

- RAAB, M., C. VIETZ, F. D. STEFANI, G. P. ACUNA et P. TINNEFELD. 2017, «Shifting molecular localization by plasmonic coupling in a single-molecule mirage», *Nature communications*, vol. 8, p. 13 966. [28](#)
- ROPP, C., Z. CUMMINS, S. NAH, J. T. FOURKAS, B. SHAPIRO et E. WAKS. 2013, «Nanoscale imaging and spontaneous emission control with a single nano-positioned quantum dot», *Nature Communications*, vol. 4, p. 1447. [28](#), [29](#)
- RUST, M. J., M. BATES et X. ZHUANG. 2006, «Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (storm)», *Nature methods*, vol. 3, n° 10, p. 793. [24](#)
- SCHERMELLEH, L., A. FERRAND, T. HUSER, C. EGGELING, M. SAUER, O. BIEHLMAIER et G. P. DRUMMEN. 2019, «Super-resolution microscopy demystified», *Nature cell biology*, vol. 21, n° 1, p. 72–84. [27](#)
- SU, L., H. YUAN, G. LU, S. ROCHA, M. ORRIT, J. HOFKENS et H. UJI-I. 2016, «Super-resolution localization and defocused fluorescence microscopy on resonantly coupled single-molecule, single-nanorod hybrids», *ACS nano*, vol. 10, n° 2, p. 2455–2466. [27](#)
- SUNDARAMURTHY, A., K. CROZIER, G. KINO, D. FROMM, P. SCHUCK et W. MOERNER. 2005, «Field enhancement and gap-dependent resonance in a system of two opposing tip-to-tip au nanotriangles», *Physical Review B*, vol. 72, n° 16, p. 165 409. [20](#)
- TAYLOR, A., R. VERHOEF, M. BEUWER, Y. WANG et P. ZIJLSTRA. 2018, «All-optical imaging of gold nanoparticle geometry using super-resolution microscopy», *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 122, n° 4, p. 2336–2342. [28](#)
- THIEL, L., D. ROHNER, M. GANZHORN, P. APPEL, E. NEU, B. MÜLLER, R. KLEINER, D. KOELLE et P. MALETINSKY. 2016, «Quantitative nanoscale vortex imaging using a cryogenic quantum magnetometer», *Nature nanotechnology*, vol. 11, n° 8, p. 677. [23](#)
- VOGELANG, J., C. STEINHAEUER, C. FORTHMANN, I. H. STEIN, B. PERSON-SKEGRO, T. CORDES et P. TINNEFELD. 2010, «Make them blink : Probes for super-resolution microscopy», *ChemPhysChem*, vol. 11, n° 12, p. 2475–2490. [25](#), [26](#)
- WERTZ, E., B. P. ISAACOFF, J. D. FLYNN et J. S. BITEEN. 2015, «Single-molecule super-resolution microscopy reveals how light couples to a plasmonic nanoantenna on the nanometer scale», *Nano letters*, vol. 15, n° 4, p. 2662–2670. [27](#)
- WYLIE, J. M. et J. SIPE. 1984, «Quantum electrodynamics near an interface», *Physical Review A*, vol. 30, n° 3, p. 1185. [7](#)
- YAKUBOVSKY, D. I., A. V. ARSENIN, Y. V. STEBUNOV, D. Y. FEDYANIN et V. S. VOLKOV. 2017, «Optical constants and structural properties of thin gold films», *Optics express*, vol. 25, n° 21, p. 25 574–25 587. [20](#)

Première partie

Microscopie super-résolue de la durée de vie de fluorescence de molécules uniques

Chapitre 2

Montage expérimental avec la matrice linéaire de SPADs

Sommaire

2.1 Description du montage expérimental	41
2.2 Illumination en réflexion totale interne	42
2.3 Système de mesure des durées de vie	45
2.4 Dimensionnement du système optique	47
2.5 Formation d'images à partir d'une ligne de microlentilles	49
2.5.1 Formalisme des matrices de transfert optique	50
2.5.2 Estimation du taux de recouvrement spatial des SPADs	52
2.5.3 Mesure expérimentale de la réponse de la matrice linéaire de SPADs	53
2.6 Acquisition de données	54
2.6.1 Calibration de la caméra EMCCD avec la matrice linéaire de SPADs	55
2.6.2 Méthode d'acquisition	55
2.7 Reconstruction et analyse des données	57
2.7.1 Analyse des données de la caméra	57
2.7.2 Analyse des données des SPADs	59
2.8 Association des taux d'émission aux positions des molécules	60
2.8.1 Corrélacion spatiale des détections EMCCD/SPADs	60
2.8.2 Corrélacion temporelle des détections EMCCD/SPADs	61
2.8.3 Ajustement paramétrique des déclins de fluorescence	64
2.9 Conclusion	65
2.10 Références	65

Comme nous l'avons vu au cours du chapitre précédent, les techniques de microscopie de champ proche du type f-SNOM nécessitent un savoir faire expérimental important, et sont généralement invasives et onéreuses. C'est pourquoi le développement de nouvelles techniques basées sur la détection d'émetteurs uniques, sans l'utilisation d'une pointe f-SNOM, suscite un grand intérêt dans la communauté de la nanophotonique. La diversification de ces techniques peut également trouver des applications en biophysique. En effet, ce type de mesure sur des échantillons biologiques fonctionnalisés avec des émetteurs fluorescents permet une caractérisation fine de ces derniers [BEREZIN et ACHILEFU, 2010]. La nature de ces échantillons nécessite qu'ils soient conservés dans un environnement aqueux. Cette contrainte rend donc ardue l'utilisation d'un f-SNOM avec ce genre d'échantillon. Le FLIM-FRET (acronyme anglais pour *Fluorescence Lifetime Imaging - Förster Resonance Energy Transfer*) est une technique couramment utilisée et bien établie pour réaliser ce type de mesure. Cette méthode permet de mettre en évidence des phénomènes biologiques à des échelles nanométriques grâce à des mesures de durée de vie. Cependant, elle nécessite de balayer l'échantillon avec un faisceau laser focalisé, et la mesure du déclin de fluorescence ne se fait pas au niveau de la molécule unique.

Au cours des deux dernières années, notre équipe a développé une nouvelle technique de microscopie super-résolue en durée de vie basée uniquement sur des mesures de microscopie de champ lointain. Elle permet de sonder les propriétés de l'interaction rayonnement-matière avec une résolution spatiale de l'ordre de la dizaine de nanomètres sans balayage et sans utilisation d'une pointe de f-SNOM. Cette méthode de mesure couple la microscopie de super-résolution de champ lointain que nous avons introduite dans la section 1.4.5 à des mesures de durée de vie. L'expérience consiste à collecter simultanément l'émission d'un émetteur fluorescent sur une caméra de très haute sensibilité et sur un détecteur de photons uniques comme expliqué dans la partie 1.4.5. Dans cette configuration, l'émission de fluorescence collectée par la caméra va permettre de mesurer la position de l'émetteur sur l'échantillon avec une précision nanométrique, alors que le détecteur de photons uniques va pouvoir mesurer la durée de vie de ce même fluorophore [BLANQUER et collab., 2020; BOUCHET et collab., 2019b].

La première version du montage expérimental développée par Dorian Bouchet lors de ses travaux de thèse, a permis de réaliser la preuve de concept pour valider la faisabilité de cette expérience [BOUCHET, 2017]. Le montage initial donnait accès à un champ de vue total de $1 \times 1 \mu\text{m}^2$. Au cours de ce chapitre nous verrons comment le champ de vue a été étendu via l'emploi d'un prototype d'une matrice lineaire de SPADs (MLS). Nous discuterons également des contraintes induites par l'utilisation de ce prototype sur les méthodes d'acquisition et d'analyse des données.

Dans un premier temps le dispositif expérimental sera présenté, ainsi que la nouvelle méthode d'illumination utilisée pour exciter les molécules fluorescentes à la surface de l'échantillon. Nous discuterons ensuite du montage optique choisi pour exploiter pleinement les propriétés de la ligne de microlentilles disposée en amont de la MLS; propriétés qui seront am-

plement discutées en s'appuyant sur le formalisme des matrices de transfert optique. Enfin, dans les trois dernières parties de ce chapitre, nous verrons comment les données provenant de la caméra et de la ligne de SPADs sont acquises, traitées, puis unifiées pour associer la mesure du taux d'émission spontanée à la mesure de la position de chaque émetteur.

2.1 Description du montage expérimental

L'échantillon tapissé de molécules fluorescentes photo-activables est disposé sur un microscope inversé (IX 70, Olympus). Les molécules fluorescentes sont immergées dans une solution tampon qui permet de garantir les propriétés de photo-activation de ces dernières (cf partie 1.4.3). Plus de détails sur la préparation de l'échantillon seront donnés dans la partie 3.1. L'excitation des molécules à la surface de l'échantillon est réalisée par une diode laser pulsée (D-C-640, PicoQuant) filtrée à une longueur d'onde de 642 nm. Le faisceau laser est focalisé au plan focal arrière d'un objectif à immersion (x100 NA = 1.49, Olympus) via une lentille de focale $F_C = 300$ mm comme représenté sur la figure 2.1. De cette manière, le faisceau en sortie d'objectif est collimaté et illumine une zone de 20 μm de diamètre à la surface de l'échantillon. Notons que l'angle d'incidence du faisceau laser sur la surface de l'échantillon doit être égal ou légèrement supérieur à l'angle de réflexion totale interne, de sorte à ce que l'excitation des molécules fluorescentes se fasse par l'intermédiaire d'une onde évanescente; on parle alors d'illumination TIRF (acronyme anglais pour *Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy*). Cette méthode d'illumination sera décrite plus en détail dans la section 2.2.

La lumière de fluorescence résultante de cette excitation est collectée par le même objectif à immersion. Un miroir dichroïque et deux filtres interférentiels permettent de séparer la lumière de fluorescence collectée par l'objectif de la lumière excitatrice. L'émission de fluorescence est ensuite divisée en deux par un miroir semi-réfléchissant. Une moitié du rayonnement de fluorescence est dirigée vers une caméra (iXon Ultra, Andor) de type EMCCD (acronyme pour *Electron-multiplying Charge-Coupled Device*). L'autre moitié est dirigée sur une matrice de microlentilles alignée devant la MLS. Chacun des SPADs formant la MLS est connecté à une électronique TCSPC (acronyme anglais pour *Time Correlated Photon Counting*) embarquée sur un module de comptage. Ce dispositif, conçu et fourni par Ivan Rech et Angelo Gulinatti (Politecnico di Milano) dans le cadre d'une collaboration, est un prototype unique en son genre qui n'est pas encore commercialisé. Plus de détails sur le détecteur et la ligne de microlentilles seront donnés dans les sections 2.3 et 2.5.

Dans cette configuration expérimentale, la lumière de fluorescence d'un émetteur unique peut être simultanément détectée par l'EMCCD et l'un des 8 SPADs, à condition que l'émetteur sur l'échantillon soit dans le champ de vue des deux instruments. En utilisant la technique de super-localisation (cf partie 1.4.3), la position de l'émetteur de photons uniques sur l'échantillon peut être déterminée à partir de l'EMCCD. La mesure du SPAD va nous rensei-

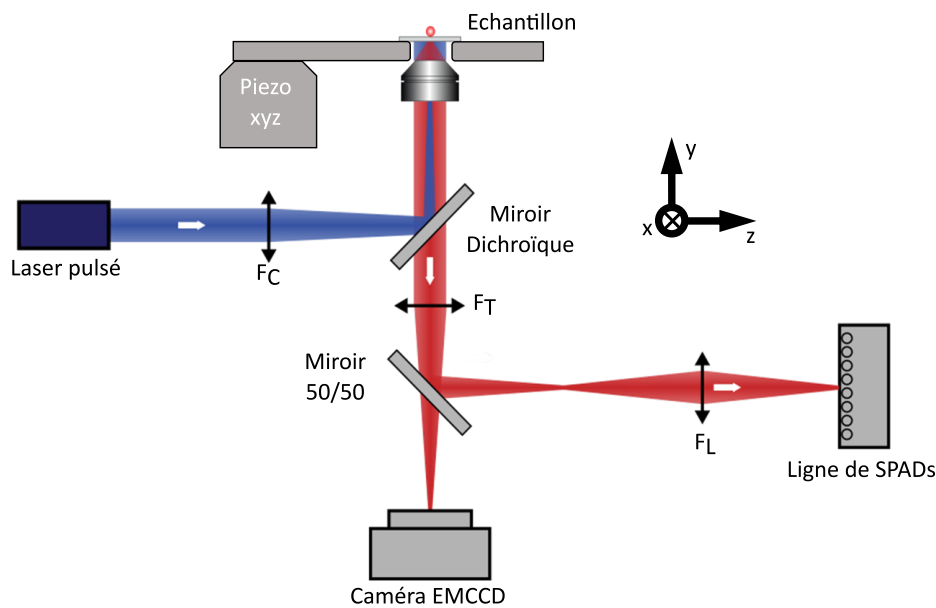


FIGURE 2.1 – Schéma du dispositif expérimental. F_C , F_T et F_L indiquent respectivement la lentille utilisée pour focaliser le laser d'excitation dans le plan focal arrière de l'objectif, la lentille de tube et la lentille pour focaliser le faisceau sur la ligne de microlentilles.

gner sur la dynamique temporelle de l'émetteur et nous permettre de réaliser une mesure du taux de déclin à l'échelle d'un fluorophore unique. Comme les SPADs sont des détecteurs monocanaux, il est crucial de détecter un seul fluorophore par SPAD à la fois. Si plusieurs émetteurs étaient détectés simultanément par le même SPAD, il serait impossible d'avoir une mesure fiable de la durée de vie de chaque émetteur. Dans la partie 2.7 nous expliquerons comment et sous quels critères une détection de molécule fluorescente est conservée ou non.

La différence fondamentale entre ce montage expérimental et celui présenté dans la section 1.4.5 est l'ajout de la MLS. Grâce à cette innovation, le champ de vue effectif de l'expérience a pu être augmenté d'environ un facteur 10 par rapport aux travaux de thèse de Dorian Bouchet. L'utilisation de la MLS a nécessité de modifier le chemin optique de détection (cf partie 2.4), ainsi qu'une refonte profonde des algorithmes d'acquisition et d'analyse des données. Ces modifications seront présentées en détail dans les parties 2.6 et 2.7 de ce chapitre.

La première version de l'expérience utilisait une illumination laser en incidence normale sur l'échantillon. Nous allons discuter dans la partie suivante des avantages apportés par l'illumination de type TIRF que nous avons adopté dans cette thèse.

2.2 Illumination en réflexion totale interne

Comme décrit précédemment, les molécules fluorescentes à la surface de l'échantillon sont illuminées par le faisceau laser avec un angle proche de la réflexion total interne. Ce type

d'illumination, couramment utilisé en microscopie de super-résolution, présente deux avantages. Premièrement, le rapport signal sur bruit d'une émission de fluorescence est meilleur que sous une illumination en incidence normale. Deuxièmement, il est possible de contrôler la polarisation de l'excitation à la surface de l'échantillon dans deux plans qui sont perpendiculaires l'un à l'autre et qui ne sont pas accessibles avec une illumination en incidence normale.

Pour qu'il y ait réflexion totale interne, l'angle de réfraction doit être égal à 90° . En implémentant cette condition dans la loi de Snell-Descartes, l'angle critique de réflexion total interne est défini par $\theta_C = \arcsin(\frac{n_s}{n_v})$ avec n_s l'indice optique de la solution dans laquelle baignent les molécules et n_v l'indice optique de la lamelle de verre. Pour que cet angle critique puisse exister, les indices optiques doivent vérifier la relation $n_s < n_v$ sans quoi la réflexion totale interne est impossible.

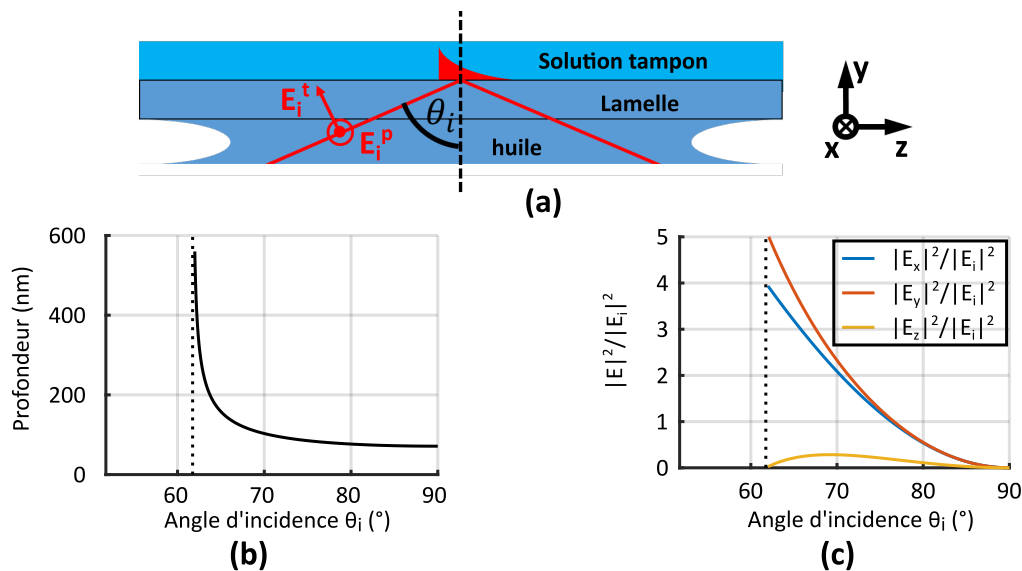


FIGURE 2.2 – (a) Schéma de l'illumination en TIRF à travers l'échantillon. (b) Distance de pénétration de l'onde évanescente dans la solution tampon (pour une longueur d'onde d'illumination de 642 nm). (c) Intensité relative des composantes du champ évanescent à la surface de l'échantillon pour les deux orientations de polarisation du faisceau incident : courbe bleue (orange et jaune) pour une polarisation parallèle (transversale) au plan de l'échantillon ($n_s = 1.33$ et $n_v = 1.5$). Les lignes en pointillés noirs sur les deux graphiques symbolisent la position de l'angle de réflexion totale interne.

Le TIRF consiste à illuminer la surface de l'échantillon avec un faisceau laser de manière à ce que la totalité du faisceau soit réfléchi par l'interface verre/solution comme schématisé sur la figure 2.2(a). Sous une illumination en réflexion totale interne, une onde évanescente est générée à la surface de l'échantillon. Cette onde évanescente s'étend dans la solution sur quelques centaines de nanomètres (cf graphique 2.2(b)). L'extension spatiale de l'onde éva-

nescente est définie par [MARTIN-FERNANDEZ et collab., 2013] :

$$d = \frac{\lambda_0}{4\pi} (n_v^2 \sin^2(\theta_i) - n_s^2)^{-1/2} \quad (2.1)$$

avec λ_0 la longueur d'onde du faisceau incident et θ_i son angle d'incidence. La distance de pénétration de l'onde dans la solution tampon est indépendante de la polarisation incidente, mais dépend en revanche de la longueur d'onde et de l'angle d'incidence. Sous une illumination TIRE, le volume dans lequel est confiné le champ optique au niveau de la surface de l'échantillon est plus petit qu'avec une excitation normale. La faible extension spatiale dans la direction y fait que l'onde évanescente va exciter uniquement les objets fluorescents proches de la surface. Cette technique d'illumination réduit drastiquement le bruit de fond causé par la lumière de fluorescence issue des plans situés au dessus de la surface de l'échantillon, et améliore donc le ratio signal sur bruit par rapport à une illumination en incidence normale. Nous allons voir dans la suite que le confinement de la lumière permet également d'avoir une intensité du champ à la surface de l'échantillon plus élevée sous ce type d'illumination qu'avec une illumination en incidence normale.

Le faisceau laser incident peut présenter deux polarisations caractéristiques, une polarisation parallèle à la surface de l'échantillon, notée E_i^p , ou bien transverse, notée E_i^t . En fonction de la polarisation et de l'angle d'incidence du faisceau laser, l'intensité des composantes du champ évanescent ne vont pas être les mêmes. Lorsque le faisceau incident est polarisé parallèlement à la surface de l'échantillon, la polarisation du champ évanescent est entièrement définie selon l'axe x . Elle a pour expression [MARTIN-FERNANDEZ et collab., 2013] :

$$E_x = E_i^p \frac{2 \cos \theta_i}{(1 - n^2)^{1/2}} \exp(-i \delta_p), \quad (2.2)$$

avec θ_i l'angle d'incidence, $n = \frac{n_s}{n_v}$ le rapport des indices optiques des deux interfaces, E_i^p l'amplitude du champ incident, et δ_p le facteur de phase défini comme :

$$\delta_p = \arctan\left(\frac{(\sin^2 \theta_i - n^2)^{1/2}}{\cos \theta_i}\right). \quad (2.3)$$

En revanche, lorsque le faisceau incident présente une polarisation transverse au plan d'incidence, le champ électrique de l'onde évanescente se décompose selon deux orientations. L'une perpendiculaire au plan de l'échantillon que l'on note E_y , et une seconde dans le plan de l'échantillon orientée selon l'axe z du schéma de la figure 2.2(a). Ces deux composantes de champ se forment par :

$$E_y = E_i^t \frac{2 \cos \theta_i (\sin^2 \theta_i - n^2)^{1/2}}{(n^4 \cos^2 \theta_i + \sin^2 \theta_i - n^2)^{1/2}} \exp\left(i(\delta_t + \pi/2)\right) \quad (2.4)$$

où E_i^t est l'amplitude du champ incident transverse et

$$E_z = E_i^t \frac{2 \cos \theta_i \sin \theta_i}{(n^4 \cos^2 \theta_i + \sin^2 \theta_i - n^2)^{1/2}} \exp(i\delta_t) \quad (2.5)$$

avec le terme de phase δ_t définie par :

$$\delta_t = \arctan \left(\frac{(\sin^2 \theta_i - n^2)^{1/2}}{n^2 \cos \theta_i} \right). \quad (2.6)$$

Remarquons que dans le cas d'une illumination transverse, les composantes E_y et E_z sont déphasées l'une par rapport à l'autre de $\pi/2$. La polarisation de l'onde évanescente est donc elliptique. Néanmoins, comme l'intensité de la composante E_z est bien plus faible que E_y (voir figure 2.2(c)), la polarisation effective de l'onde évanescente est donc principalement orientée perpendiculairement à l'échantillon.

Pour résumer : une illumination TIRF permet un contrôle de la polarisation principalement dans les deux directions X et Y, une exaltation de l'intensité à la surface de l'échantillon, un confinement important du volume d'illumination, et un meilleur contraste d'intensité qui améliore la détection de molécules fluorescentes et la rend plus précise.

2.3 Système de mesure des durées de vie

La mesure de durée de vie d'un émetteur fluorescent se fait à partir d'un laser pulsé synchronisé avec un module de comptage de photons couramment appelé TCSPC (cf partie 1.2.1). Un SPAD, lui même relié au module TCSPC va détecter les photons de fluorescence de l'émetteur excité par un laser pulsé. Lorsqu'un photon entre en contact avec le volume actif d'un détecteur, une paire électron-trou est créée. Ce volume étant soumis à une différence de potentiel, les porteurs de charges vont être accélérés, l'électron vers l'anode, et le trou vers la cathode. L'accumulation d'énergie cinétique par ces porteurs va, par un processus d'ionisation en cascade, générer de nouveaux porteurs et donc amplifier le signal à détecter. La principale source de bruit sur ce type de détecteur est due aux électrons thermiques générés dans le volume actif de détection. Pour réduire ce bruit de fond, les SPADs que nous utilisons sont refroidis par un module Peltier. De plus, il est capital que les détecteurs soient maintenus dans un environnement sec car le refroidissement peut générer de la condensation sur les détecteurs et les endommager. C'est pourquoi la ligne de SPADs est enfermée dans une chambre étanche sous une atmosphère d'azote, que nous purgeons périodiquement pour garantir un environnement sec au sein de la chambre.

La MLS comprend au total 32 SPADs de 50 μm de diamètre, espacés de 250 μm (distance centre à centre). Huit SPADs contigus sont sélectionnés sur la base des spécifications requises (faible bruit de fond et peu de jitter) pour être connectés de manière indépendante à des modules TCSPC. La figure 2.3(a) montre une image du module de détection, et l'image 2.3(b)

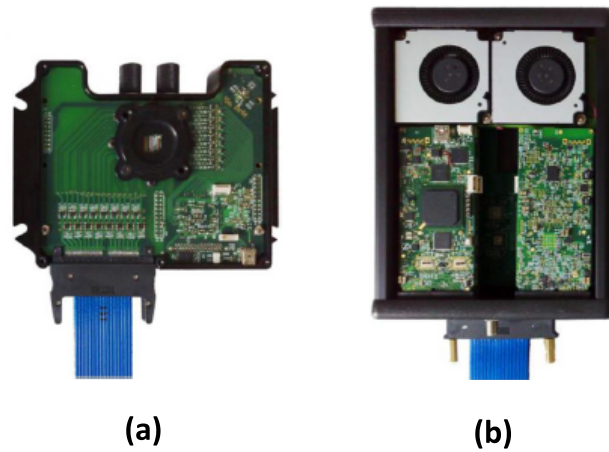


FIGURE 2.3 – (a) Module de détection de photon unique (SPADs). (b) Module TCSPC.

du module TCSPC. Cette technologie est développée par l’Institut Polytechnique de Milan en partenariat avec la société MPD (Micro Photonique Devices) [CUCCATO et collab., 2013].

Afin de caractériser notre montage, il est plus pertinent de reporter l’IRF (acronyme de l’anglais *Instrument Response Function*) de notre système plutôt que seulement le jitter de chaque détecteur, car la mesure du taux d’émission spontanée d’un émetteur fluorescent est convoluée par l’IRF. Pour extraire une mesure précise de ce dernier, il faut donc déconvoluer le signal de fluorescence par l’IRF. Les caractéristiques de nos détecteurs, mesurées dans des conditions expérimentales typiques avec la diode laser qui a été utilisée pour exciter l’échantillon dans les mesures de super-résolution qui seront présentées dans le chapitre 3, sont reportées dans le tableau suivant :

SPAD	1	2	3	4	5	6	7	8
IRF (ps)	98	99	93	93	110	92	99	104
Bruit (cps)	751	727	629	77	2082	573	218	302

TABLEAU 2.1 – Valeur de l’IRF, et du bruit de fond pour chacun des huit SPADs reliés au module TCSPC, et refroidis à -5°C .

La distance minimale entre deux SPADs contigus ($200\ \mu\text{m}$) est soumise à des contraintes technologiques liées à l’encombrement des contacts électroniques. Afin de pouvoir augmenter considérablement le facteur de remplissage, ou *filling factor*, de la région conjuguée à l’échantillon sur laquelle se fait la détection, une ligne de microlentilles (Microlens Array Nr. 18-00047, SUSS-Optic) est placée en face des détecteurs à une distance de $1.1\ \text{mm}$. Les microlentilles ont un diamètre de $250\ \mu\text{m}$, sont accolées, et ont une distance focale de $f_{\mu} = 1\ \text{mm}$.

Chaque détecteur va imager une zone différente de l’échantillon. La taille de cette zone fait l’objet d’un compromis entre le champ de vue accessible à un SPAD et le bruit de fond causé par la présence de l’échantillon. En effet, comme les SPADs sont des détecteurs mono-

canaux, plus la zone de l'échantillon à imager est grande sur le SPAD, plus le bruit de fond provenant de l'échantillon est important. Sous ces conditions, nous avons choisi d'imager une zone d'environ $2.2 \mu\text{m}$ de diamètre. Ce diamètre permet d'avoir accès à un champ de vue par SPAD suffisamment grand tout en ayant un bruit de fond relativement faible, entre 1500 et 3500 coups par seconde selon le SPAD concerné. Dans la section 2.1 nous avons discuté de la nécessité de n'avoir qu'une seule détection à la fois par SPAD. La taille du champ de l'échantillon de vu par un SPAD est donc également définie pour répondre à ce critère.

2.4 Dimensionnement du système optique

Afin de reconstruire une image super-résolue du taux de déclin, il faut créer une image de l'échantillon sur la MLS. Autrement dit, cette dernière doit être conjuguée avec le plan focal de la lentille de tube du microscope ($f_T = 180 \text{ mm}$) où se forme une image intermédiaire de l'échantillon. Le schéma optique est présenté en figure 2.4(b) pour le cas simple où l'on considère une seule microlentille L_μ en face d'un seul SPAD. Dans la section 2.5 nous considérerons le cas réel d'une ligne de microlentilles et de SPADs.

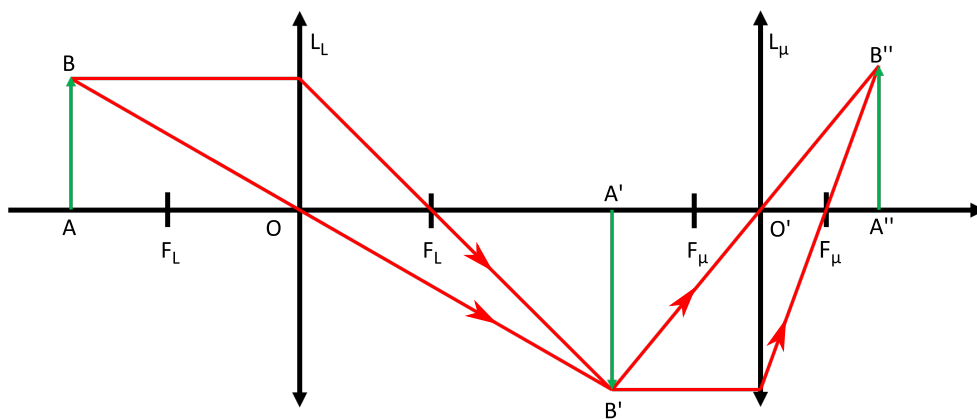


FIGURE 2.4 – Schéma optique entre l'image de la lentille de tube (AB) et celle créée au niveau d'un SPAD ($A''B''$).

La conjugaison entre l'image de l'échantillon AB issue de la lentille de tube et $A''B''$ au plan détecteur, ainsi que le grossissement, sont assurés par l'intermédiaire de la microlentille et d'une lentille L_L de focale $f_L = 80 \text{ mm}$ placée entre AB et la microlentille. Le positionnement de la ligne de SPADs et de la lentille L_L par rapport à l'image AB est crucial. En effet, nous allons voir qu'il est possible d'ajuster le grandissement de l'image de l'échantillon sur un détecteur en jouant uniquement sur la distance OA entre la lentille L_L et l'image AB . La formation de l'image $A''B''$ créée au plan objet de la microlentille est soumise à trois conditions :

1. La taille de $|A''B''|$ doit être équivalente à celle d'un détecteur, soit $50 \mu\text{m}$ ou plus petite.

2. L'image $A''B''$ doit être formée sur le plan des détecteurs, soit à $|O'A''| = 1.1$ mm de la microlentille. Cette distance est fixée lors de la conception du détecteur.
3. L'image du détecteur sur l'échantillon doit être de $2.2 \mu\text{m}$.

Ces conditions vont donc entièrement conditionner la distance entre les différentes optiques du système d'imagerie. Nous allons dans la suite déduire les distances $|OA|$, $|OA'|$, et $|O'A'|$ permettant de respecter les trois conditions qui viennent d'être mentionnées.

Pour déterminer ces distances, la première étape consiste à évaluer la distance $|OA|$ entre la lentille L_L et l'image $|AB|$ de l'échantillon issue de la lentille de tube. Pour cela, il est commode de définir le grandissement γ entre les images $|AB|$ et $|A''B''|$ comme :

$$\gamma = \frac{|A''B''|}{|AB|} = \gamma_L \gamma_\mu, \quad (2.7)$$

avec

$$\gamma_L = \frac{|OA'|}{|OA|}, \quad (2.8)$$

et

$$\gamma_\mu = \frac{|O'A''|}{|O'A'|}. \quad (2.9)$$

En injectant les expressions de γ_μ et γ_L dans l'équation 2.7 on obtient :

$$\frac{|OA'|}{|OA|} = \frac{|O'A'|}{|O'A''|} \frac{|A''B''|}{|AB|}. \quad (2.10)$$

Cette équation permet d'exprimer $|OA'|$ et $|OA|$ en fonction de grandeurs connues et imposées par les contraintes expérimentales. En utilisant la relation de conjugaison liée à la lentille L_L

$$\frac{1}{|OA|} + \frac{1}{|OA'|} = \frac{1}{f_L}, \quad (2.11)$$

et celle de L_μ

$$\frac{1}{|O'A'|} + \frac{1}{|O'A''|} = \frac{1}{f_\mu}, \quad (2.12)$$

l'expression 2.10 peut se mettre sous la forme suivante :

$$|OA| = f_L \left(\frac{|AB|}{|A''B''|} \left(\frac{|O'A''|}{f_\mu} - 1 \right) + 1 \right). \quad (2.13)$$

Le terme clef de cette dernière expression est le rapport $\frac{|AB|}{|A''B''|}$. Ce ratio permet de contrôler la taille de la zone de l'échantillon à imager sur le détecteur. Le modifier revient donc à changer la distance $|OA|$, la distance $|O'A''|$ étant fixe. Sachant que le grandissement du système formé par l'objectif et la lentille de tube vaut 100, cela implique qu'une zone de $2.2 \mu\text{m}$ sur l'échantillon correspond à une image $|AB|$ de $220 \mu\text{m}$. Comme nous voulons imager $|AB|$ sur

un détecteur, la valeur de $|A''B''|$ dans l'équation 2.13 est fixée à $50 \mu\text{m}$. Sous ces conditions la distance $|OA|$ vaut 115 mm , et en réinjectant ce résultat dans l'équation 2.12 on peut évaluer la distance $|OA'|$ qui vaut alors 262 mm .

Reste maintenant à déterminer la distance $|O'A'|$ entre la microlentille et l'image $|A'B'|$. L'équation 2.12 est entièrement conditionnée par la focale de la microlentille $f_{\mu} = 1 \text{ mm}$, ainsi que par la distance entre la microlentille et son plan image $O'A'' = 1.1 \text{ mm}$ qui a été fixée lors de la conception du détecteur. Sous ces conditions, la distance $|O'A'|$ vaut 11 mm . Il faut alors positionner la microlentille à 11 mm de l'image $|A'B'|$ créée par la lentille L_L pour former une image nette sur le plan des détecteurs. A noter que cette condition ne dépend pas de γ , mais uniquement de la position du plan du détecteur par rapport à la microlentille.

Grâce à ces dérivations, nous avons vu qu'il est possible d'ajuster la taille de l'image formée sur le plan d'un détecteur via la position de la lentille L_L par rapport à l'image AB . Dans notre configuration, et sous les contraintes expérimentales, nous avons pu déterminer la distance $|OA| = 115 \text{ mm}$ entre l'image de l'échantillon $|AB|$ après la lentille de tube et la lentille L_L . Cette distance impose la formation de l'image $|A'B'|$ à une distance $|OA'| = 262 \text{ mm}$ de la lentille L_L . Enfin, nous avons également vu qu'il faut positionner le plan des microlentilles à une distance $|O'A'| = 11 \text{ mm}$ de l'image $|A'B'|$ pour créer une image nette sur le plan des détecteurs. La distance $|O'A'|$ est entièrement conditionnée par la position du plan des détecteurs par rapport aux microlentilles ainsi qu'à leur focale.

Jusqu'à présent, nous avons considéré une seule lentille face à un seul SPAD. Nous allons voir dans la partie suivante que l'utilisation d'une ligne de microlentilles va permettre à chaque détecteur de voir une partie différente et adjacente de l'échantillon.

2.5 Formation d'images à partir d'une ligne de microlentilles

Il est tout a fait envisageable d'imager huit zones différentes de l'échantillon en formant une image de ce dernier à travers une lentille unique sur l'ensemble des huit détecteurs. En revanche, avec cette méthode, il existera forcément des espaces entre les différentes régions imagées à cause de l'espacement entre deux SPADs contigus. Pour palier ce problème, l'utilisation d'une ligne de microlentilles est indispensable. Disposer une microlentille devant chacun des huit détecteurs va permettre de créer huit images de différentes régions de l'échantillon adjacentes les unes aux autres. Pour mieux comprendre cela, nous allons dans un premier temps introduire le formalisme des matrices de transfert optique. Nous comparerons ensuite le recouvrement des différentes zones de l'échantillon obtenu expérimentalement avec celui estimé théoriquement.

2.5.1 Formalisme des matrices de transfert optique

Pour modéliser la formation d'image via des microlentilles, il est commode d'utiliser le formalisme des matrices de transfert optique comme présenté par LINDLEIN [2002] et PARK et collab. [2015]. Les matrices de transfert optique permettent de déterminer la fonction de transfert d'un système optique en définissant chaque élément de ce dernier par une matrice. Le produit matriciel de l'ensemble des éléments optiques permet d'évaluer la matrice de transfert globale du système. A partir de cette matrice de transfert, il est possible de réaliser le tracé de rayons à travers les différents éléments constituant le système optique modélisé.

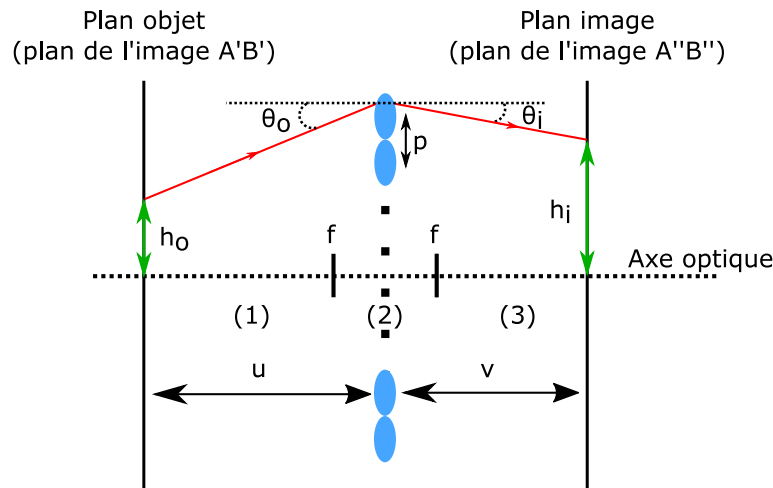


FIGURE 2.5 – Schéma de simulation pour une ligne de microlentilles par une approche matricielle

Le schéma 2.5 présente une ligne de N microlentilles de focale f espacées d'une distance p . L'altitude h_o représente la hauteur à laquelle est issu un rayon se trouvant à une distance u de la ligne de microlentilles. Ce même rayon arrive sur le plan des microlentilles avec un angle θ_o et en ressort avec un angle θ_i comme défini sur le schéma 2.5. Le rayon arrive à une hauteur h_i de l'axe optique situé à une distance v du plan de microlentilles avec un angle θ_i .

La matrice de transfert de ce système est notée dans la suite M_{sys} et se formule par [PARK et collab., 2015] :

$$M_{sys} = \begin{pmatrix} 1 & v & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ -1/f & 1 & Np/f \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & u & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}. \quad (2.14)$$

La matrice au centre de l'équation 2.14 permet de prendre en compte l'effet des microlentilles sur la trajectoire d'un rayon lumineux en faisant intervenir la distance focale, le nombre, et l'espacement entre ces dernières. Les matrices de droite et de gauche décrivent la propagation d'un faisceau avant et après le plan de microlentilles. Si l'angle d'incidence θ_o et la hauteur h_o à la distance u sont connus, il est possible d'évaluer l'angle de sortie θ_i et la hauteur h_i à une

distance v fixée par la résolution du système suivant :

$$\begin{pmatrix} h_i \\ \theta_i \\ 1 \end{pmatrix} = M_{sys} \begin{pmatrix} h_o \\ \theta_o \\ 1 \end{pmatrix}. \quad (2.15)$$

La figure 2.6(a) représente un tracé de rayon à travers huit microlentilles pour deux points sources issus d'un même plan à une distance $u = 11$ mm de la ligne de microlentilles, avec une hauteur initiale différente (1.5 et 2.5 mm). Pour rappel, cette distance de 11 mm correspond à la position optimale d'un objet devant une microlentille pour former une image nette sur le plan des détecteurs situés à une distance $v = 1.1$ mm (déterminé dans la section 2.4 par l'équation 2.12). Les microlentilles sont représentées par la ligne bleue claire crénelée de bleu plus foncé, chaque microlentille est à l'échelle (250 μm). Les plots de différentes couleurs, positionnés sur la même figure à 1.1 mm de l'origine, modélisent les huit SPADs indexés de D_1 à D_8 également à l'échelle (50 μm).

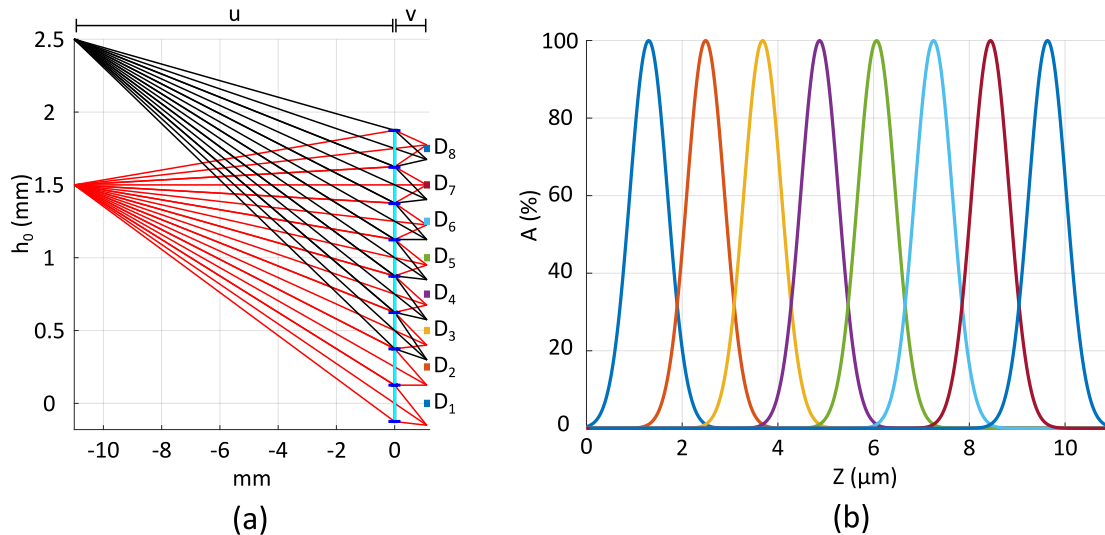


FIGURE 2.6 – (a) Tracé de rayon à travers huit microlentilles pour deux hauteurs de points sources différentes. Les carrés de couleurs représentent la position des détecteurs notée de D_1 à D_8 . (b) Efficacité de détection pour chaque détecteur. L'axe des abscisses est mis à l'échelle de l'échantillon en prenant en compte les grandissements successifs du système optique.

Les rayons issus du point à 1.5 mm de l'axe optique recouvrent l'ensemble des huit microlentilles (lignes rouges sur la figure 2.6(a)). Comme les rayons ne traversent pas une lentille unique mais un ensemble de lentilles alignées et adjacentes, huit images de ce point sont formées au plan image de la ligne de microlentilles. Trois de ces images peuvent être détectées par trois détecteurs. Une est formée au centre du détecteur D_7 , et les deux autres aux bords des détecteurs D_6 et D_8 . En déplaçant la position du point source objet parallèlement au plan des microlentilles, l'image de ce dernier formée par chacune des microlentilles va se déplacer

dans la direction opposée à celle de l'objet. La focale des microlentilles, leur distance au plan des détecteurs, l'espacement entre chaque SPAD, ainsi que leur dimension font que le déplacement de l'ensemble des huit images se fait toujours de sorte à ce qu'au moins un des huit détecteurs soit illuminé par l'une des images du point source.

En continuant de déplacer le point source toujours dans la même direction, l'image de ce point finirait par intersecter de nouveau un détecteur ayant déjà imagé une zone de l'échantillon. Ceci poserait un problème, car un détecteur serait à même d'imager deux zones différentes de l'échantillon. Prenons par exemple les rayons issus du point source à 2.5 mm de l'axe optique (lignes noires sur la figure 2.6(a)). Sans prendre en compte l'ouverture numérique des microlentilles dans le tracé de rayon, le détecteur D_1 serait illuminé par ce point source via la microlentille en face du détecteur D_2 . En réalité, chacune des microlentilles présentent une ouverture numérique de $NA_{\mu} = 0.125$ soit environ 11° . Cette ouverture numérique impose que seul des rayons présentant un angle θ_o inférieur à 11° peuvent être collectés par cette dernière. L'ouverture numérique d'une microlentille permet donc d'imager une seule et unique zone de l'échantillon par détecteur.

D'un point de vue expérimental, la formation de l'image d'un point source sur le plan objet de la ligne de microlentilles se fait par l'intermédiaire de la lentille L_L (cf schéma 2.1). La faible ouverture numérique de cette dernière impose que le point source illumine une zone de la ligne de microlentilles d'environ 250 μm de diamètre. La lumière émise par un point source va donc éclairer un seul détecteur lorsque le point source est situé en face d'une microlentille ou deux détecteurs s'il est à une position intermédiaire.

2.5.2 Estimation du taux de recouvrement spatial des SPADs

Jusqu'à maintenant l'efficacité de détection d'un SPAD a toujours été considérée comme homogène sur l'ensemble du détecteur. En réalité, la probabilité de détecter un photon va être maximal au centre et quasi-nulle sur les bords de la zone active du détecteur. La fonction de réponse liée à ce type de détecteur suit une distribution gaussienne centrée sur le détecteur. Pour modéliser l'efficacité de détection des huit SPADs, le point source est déplacé parallèlement à la ligne de microlentilles. A chaque position de ce point, les hauteurs respectives des huit images formées après les microlentilles sont relevées. A chaque hauteur d'image, et à chaque détecteur, est associé une valeur notée A qui modélise l'efficacité de détection de chaque SPAD. Des mesures, qui seront présentées dans la section 2.5.3, justifient une forme gaussienne pour l'efficacité de détection telle que :

$$A(Z) = \exp\left(\frac{-(h_i(Z) - X_d)^2}{2\sigma^2}\right), \quad (2.16)$$

où $h_i(Z)$ est la hauteur d'une image créée sur le plan des détecteurs en fonction de la hauteur $Z = \frac{h_0}{100 \cdot \gamma_L}$ de l'objet mis à l'échelle de l'échantillon en prenant en compte les grandissements

induits par le système d'imagerie (cf partie 2.4). X_d est la position du centre d'un des détecteurs sur l'échantillon de sorte à ce que $A(Z = h_i(Z) = X_d) = 1$. Cette efficacité de détection sera donc maximale et vaudra 1 si l'image est formée au centre d'un détecteur, décroîtra jusqu'à une valeur proche de 0 lorsqu'elle sera sur son bord et restera nulle au delà.

A partir de ces considérations, il est possible d'évaluer l'efficacité de détection théorique de chaque détecteur en fonction de la position d'un point source sur l'échantillon. Nous traçons sur la figure 2.6(b) l'efficacité de détection en fonction de la position d'un point source placé sur l'échantillon. Chaque détecteur est représenté par une couleur différente, suivant le même code que pour la figure 2.6(a). Comme attendu, l'efficacité de détection est maximale au centre des détecteurs. De plus, entre deux détecteurs, le recouvrement théorique de deux zones adjacentes sur l'échantillon admet une efficacité de détection minimale de 30%. En dessous de 25% d'efficacité nous considérons que le SPAD n'est plus capable de dissocier le rayonnement d'une molécule photo-activée du bruit de fond. Ceci a pour conséquence d'induire un champ de vue effectif d'environ $1.2 \mu\text{m}$ de diamètre par SPAD.

La présence de la microlentille permet donc de passer d'une zone de l'échantillon à une autre de manière continue. Remarquons toutefois que l'extension de la zone imagée par les huit détecteurs est plus petite en utilisant une ligne de microlentilles qu'avec une seule lentille de même focale devant la ligne de SPADs. En effet, avec une seule lentille devant le plan des détecteurs, la zone de l'échantillon imagée par chaque SPAD présenterait toujours un diamètre de $1.2 \mu\text{m}$, mais l'espacement entre chaque zone imagée serait alors de $8.8 \mu\text{m}$. D'après cette étude théorique, l'utilisation d'une ligne de microlentilles permet d'imager huit zones adjacentes de l'échantillon d'un diamètre de $2 \mu\text{m}$ sur chacun des SPADs, représentant une zone totale d'environ $10 \times 1.2 \mu\text{m}^2$ sur l'échantillon.

2.5.3 Mesure expérimentale de la réponse de la matrice linéaire de SPADS

Afin de comparer les prévisions théoriques avec la réalité de notre montage expérimental, une bille fluorescente, placée sur une lamelle de verre, est déplacée dans le champ de vue de la MLS par intervalles de 160 nm par l'intermédiaire du moteur piézoélectrique. Pour chaque position de la bille, la lumière de fluorescence est enregistrée sur les SPADs sur un intervalle de temps d'environ 30 ms . A la fin de l'acquisition, nous obtenons donc une carte de fluorescence propre à chaque détecteur. La carte 2.7(a) est le résultat de la somme des 8 cartes d'intensité après soustraction du bruit de fond. Chaque spot lumineux correspond à l'image d'un détecteur sur l'échantillon. Si certains spots sont plus intenses que d'autres, cela est dû aux spécificités particulières à chaque détecteur. En effet, certains présentent une efficacité de détection plus importante que d'autres, et le bruit de fond est propre à chaque SPAD. Comme attendu, aucune zone aveugle entre les détecteurs n'est visible sur cette carte grâce à l'action des microlentilles sur la formation de l'image sur le plan des détecteurs.

Pour appréhender au mieux l'effet de recouvrement spatial induit par la ligne de micro-

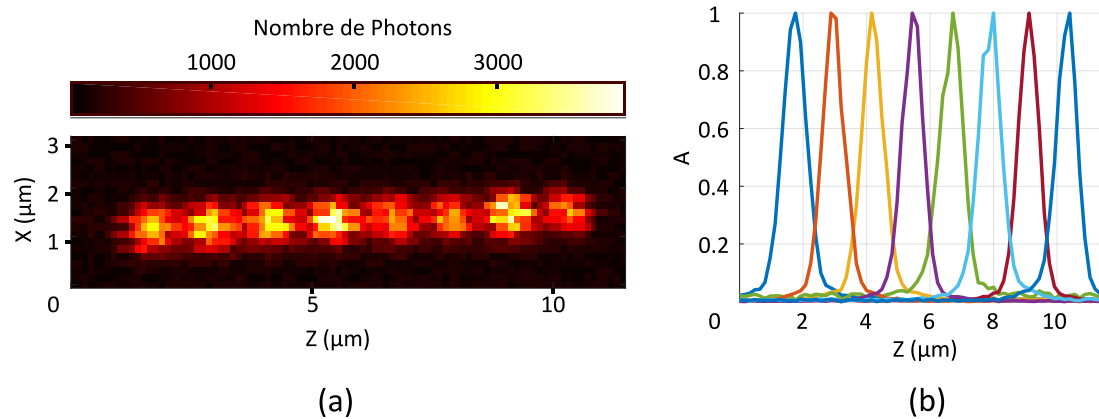


FIGURE 2.7 – (a) Carte de fluorescence vue par les SPADs. (b) Efficacité de détection expérimentale de la ligne de SPADs

lentilles entre les détecteurs, chacune des 8 cartes de fluorescence obtenues par cette mesure est projetée selon l'axe X puis normalisée par son maximum. De cette façon, nous obtenons le profil d'efficacité de détection normalisé selon l'axe Z pour les 8 détecteurs. Ces profils sont représentés sur la figure 2.7(b), et directement comparables aux estimations théoriques présentées sur le graphique 2.6(b). L'efficacité de détection minimale entre deux détecteurs est en moyenne de 25%, et le champ de vue de la ligne de SPADs est d'environ de $10 \times 1.2 \mu\text{m}^2$. Ces mesures expérimentales sont en très bon accord avec les prévisions théoriques. Les légères différences entre les valeurs théoriques et expérimentales peuvent être expliquées par l'incertitude sur la position exacte du plan de microlentilles par rapport au plan des détecteurs ainsi que sur le positionnement de la lentille L_L et de la ligne de microlentilles le long de l'axe optique.

2.6 Acquisition de données

Nous allons maintenant décrire la méthode d'acquisition des données développée et implémentée au cours de cette thèse. La MLS utilisée est un prototype, et comme nous allons le voir, l'extraction des données provenant du détecteur matriciel est sensiblement différente de celle utilisée dans les électroniques de détection TCSPC commerciales pour SPAD unique (développées par exemple par PicoQuant), ce qui va imposer des contraintes fortes sur la méthode d'acquisition par rapport aux travaux précédents menés au sein de l'équipe.

2.6.1 Calibration de la caméra EMCCD avec la matrice linéaire de SPADs

Pour que l'émission de fluorescence d'une molécule unique soit détectée simultanément par la caméra et la MLS, il est crucial de connaître la zone de la caméra qui est conjuguée avec le champ de vue de chaque SPAD. Pour cela, un balayage avec une bille fluorescente est effectué. La lumière de fluorescence détectée sur chaque SPAD de la matrice est enregistrée comme il a déjà été expliqué dans la section 2.5.3. A la différence près que cette fois-ci, l'intensité de fluorescence est également enregistrée par la caméra pour chaque position de la bille. Une fois le balayage terminé, chaque image de la caméra est utilisée pour connaître la position de la bille fluorescente sur la caméra en la super-localisant. En reliant l'intensité mesurée sur chaque SPAD à la position de la bille sur la caméra, il est possible de remonter à la position de chaque SPAD sur la caméra ainsi qu'à l'efficacité de détection relative entre les SPADs et la caméra. Une fois cette étape de calibration effectuée, l'acquisition peut démarrer.

2.6.2 Méthode d'acquisition

L'expérience est entièrement automatisée via un script d'acquisition développé sous Matlab lors de cette thèse. Le diagramme de la figure 2.8 décrit les différentes étapes de l'acquisition. La première étape consiste à initialiser la caméra et le module TCSPC. Comme ces deux détecteurs ont des modes de fonctionnement différents, il est nécessaire de les faire travailler sur des processeurs différents. La couleur des cases renseigne sur quel processeur est effectué l'opération. Les cases bleues représentent les opérations liées à la caméra, et les violettes celles propres au module TCSPC.

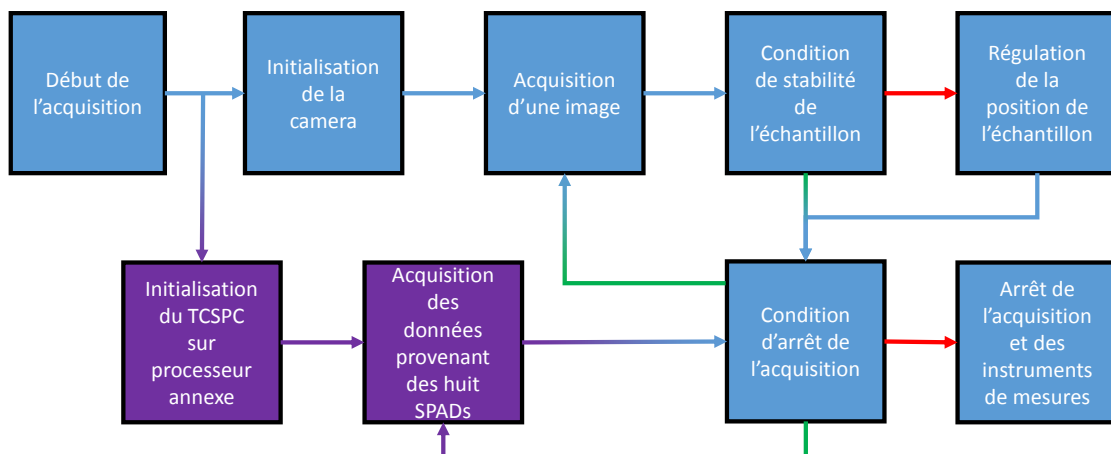


FIGURE 2.8 – Diagramme de l'algorithme d'acquisition.

Acquisition des images par la caméra

Le mode d'acquisition de la caméra fait en sorte de minimiser le temps mort entre deux images. Chaque image prise par la caméra est enregistrée sur la mémoire tampon de celle-ci. A chaque itération du code, l'image la plus ancienne est enregistrée sur l'ordinateur. Le temps d'exposition de chaque image est réglé à 30 ms, temps typique de photoblanchiment des émetteurs utilisés. Notons également que la zone d'acquisition de la caméra est un rectangle de 21 pixels par 73 pixels, correspondant à un champ de vue de $40 \mu\text{m}^2$.

Une acquisition complète dure environ trois heures. Pour contrebalancer la dérive de l'échantillon, une bille fluorescente est utilisée comme marqueur fiduciaire. Toute les 2 minutes, la position de la bille est déterminée par super-localisation. Si la position mesurée diffère de celle de référence, alors la platine piézoélectrique qui contrôle le porte-échantillon dans les trois directions de l'espace est activée pour ramener la bille à sa position d'origine. Un algorithme de minimisation basé sur la taille de la PSF est utilisé pour compenser la dérive de l'échantillon selon l'axe optique. En minimisant la taille de la PSF, nous nous assurons que l'échantillon reste bien dans le plan focal objet de l'objectif.

Acquisition du signal par la MLS

Comme expliqué dans la partie 1.2.1, les systèmes TCSPC commerciaux permettent de mesurer le temps absolu de détection de chaque photon sur le SPAD par rapport au début de l'expérience, ainsi que le temps relatif écoulé entre la détection d'un photon de fluorescence et l'impulsion laser d'excitation correspondante. A partir de la mesure du temps absolu, il est possible de reconstruire la trace d'intensité en fonction du temps avec une très bonne résolution temporelle, alors que le temps relatif donne accès à l'histogramme du déclin de fluorescence avec une résolution temporelle de l'ordre de la picoseconde.

Dans notre cas, le module TCSPC fourni directement les histogrammes des temps d'arrivée correspondants à chaque SPAD avec un échantillonnage temporel également de l'ordre de la picoseconde. Pour optimiser la vitesse d'acquisition, les 8 histogrammes sont stockés sur la mémoire tampon du module TCSPC et sont incrémentés en continu. Dès qu'un photon arrive sur l'un des huit détecteurs, son temps d'arrivée est ajouté dans l'histogramme correspondant. Lorsque le module TCSPC est interrogé par l'algorithme d'acquisition, l'ensemble des 8 histogrammes est téléchargé et sauvegardé. Le temps caractéristique entre deux téléchargements définit la fréquence d'acquisition des histogrammes. Cette fréquence est conditionnée par le temps de communication entre l'ordinateur et le TCSPC, ainsi que par le temps d'enregistrement. Ce temps est de l'ordre de 16 ms.

La différence entre deux histogrammes successifs permet de déterminer le nombre de photons détectés entre ces deux acquisitions. Si l'on répète cette action sur l'ensemble des histogrammes associés à un détecteur on peut donc déterminer le nombre de photons détectés en fonction du temps pour le SPAD considéré, avec une résolution temporelle de 16 ms en

moyenne. La méthode d'extraction des traces d'intensité propres à chaque SPAD sera décrite en détail dans la partie 2.7.2.

Avec un taux de répétition des impulsions laser de 80 MHz, les histogrammes présentent une fenêtre de mesure de 12.5 ns (l'intervalle entre deux impulsions laser), et sont constitués de 16 384 intervalles de 0.7 ps de durée dans lesquels vont être classés les temps d'arrivée. L'échantillonnage temporel des histogrammes, de l'ordre de la picoseconde, est bien supérieur à celui nécessaire pour mesurer les temps de vie au regard de l'IRF du laser utilisé (IRF \approx 100 ps). La résolution temporelle de chaque histogramme est donc ramenée à environ 16 ps en fusionnant 16 intervalles entre eux. De cette façon, chaque histogramme est alors constitué de 1 024 intervalles, permettant de surcroît de réduire le temps de sauvegarde des histogrammes, d'augmenter la vitesse d'acquisition et de diviser par 16 l'espace mémoire nécessaire au stockage des données ¹.

2.7 Reconstruction et analyse des données

Les données acquises par la caméra et le module TCSPC vont être analysées séparément avant d'être combinées pour construire la carte de durée de vie super-résolue de l'échantillon. Dans cette partie nous nous intéresserons uniquement à la première étape. Dans un premier temps, nous verrons comment une détection sur la caméra est définie comme une molécule fluorescente, et comment cet événement est super-localisé. Nous verrons ensuite plus en détail la méthode que nous avons mise en place pour extraire la trace du nombre de photons en fonction du temps associé à chaque SPAD, et comment une détection de fluorescence est identifiée à partir de la trace d'un SPAD.

2.7.1 Analyse des données de la caméra

Les données de la caméra sont analysées via le logiciel ThunderSTORM d'ImageJ développé par [OVESNÏ et collab., 2014]. Ce logiciel libre d'accès permet de déterminer la position des molécules par super-résolution image par image. Sur chacune des images, un filtrage en ondelette est appliqué comme proposé par [IZEDDIN et collab., 2012]. Ce filtrage permet de retirer le bruit sur l'image, et donc d'identifier de manière plus précise si une ou plusieurs molécules sont allumées sur l'image en question.

L'image 2.9(a) représente une image acquise par l'EMCCD avec la PSF d'une molécule fluorescente encadrée en rouge dans le coin supérieur droit. Une détection par seuillage per-

1. Il est important de noter que la mémoire du module TCSPC est effacée toute les 40 s. Sans cela, le nombre de détections par intervalle, codé sur 16 bits positifs, finirait par excéder la valeur maximale pouvant être écrite, à savoir 65 535. Il est possible d'enregistrer les histogrammes en 32 bits positifs, et donc de pouvoir coder jusqu'à 4 294 967 295 détections par intervalle. En contrepartie, le temps d'enregistrement augmente car le volume de données est multiplié par un facteur deux. C'est pourquoi nous avons choisi le format 16 bits positifs pour un enregistrement rapide du flux de données en provenance du TCSPC, et un volume d'information moindre sans remettre en jeu l'intégrité des données.

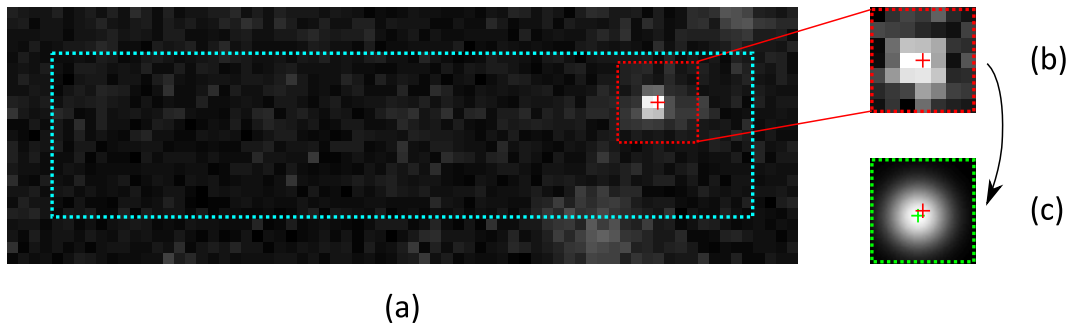


FIGURE 2.9 – (a) Détection d'un événement sur la caméra. (b) Sélection d'une zone de 8 pixels par 8 pixels autour de la PSF sur laquelle va être réalisé l'ajustement paramétrique. (c) Ajustement paramétrique de la PSF par une fonction gaussienne.

met de localiser le pixel où l'intensité de la PSF est maximum (croix rouge). La position ainsi que la valeur du maximum déterminées dans cette mesure seront utilisées comme valeurs d'entrée pour réaliser l'ajustement paramétrique gaussien sur cette PSF. La figure 2.9(b) représente la zone sur laquelle l'ajustement paramétrique va être effectué, à savoir une zone de 8 par 8 pixels. La taille de cette zone détermine le champ de vue effectif de la caméra. En effet, les événements détectés à moins de 4 pixels du bord de l'image ne pourront pas être super-localisés car la zone d'ajustement ne peut pas être définie. Une bande de quatre pixels délimitée par le cadre cyan sur la figure 2.9(a) définit donc la zone où les événements peuvent être détectés.

La figure 2.9(c) représente le résultat de l'ajustement paramétrique sur la figure 2.9(b) par une gaussienne symétrique normalisée, définie par :

$$\text{PSF}_G = \frac{N_i}{2\pi\sigma_i^2} \exp\left(-\frac{(x-x_i)^2 + (y-y_i)^2}{2\sigma_i^2}\right) + b_i, \quad (2.17)$$

avec N_i le nombre de photons sous la gaussienne, σ_i la déviation standard de la gaussienne qui correspond à la largeur de la PSE, x_i et y_i les coordonnées cartésiennes du centre de la gaussienne et b_i le bruit de fond. La croix verte sur cette même figure représente le centre de la gaussienne.

En appliquant cette méthode de super-localisation à l'ensemble des images de la caméra, nous obtenons donc la position de l'ensemble des molécules détectées par cet instrument. En plus de la position, le nombre de photons détectés ainsi que la largeur des PSFs peuvent être extraits via ce logiciel. L'incertitude sur la position (comme décrite dans la section 1.4.3) est également calculée par le logiciel. Avec notre configuration expérimentale, nous obtenons une erreur médiane de 15 nm sur la localisation des émetteurs.

2.7.2 Analyse des données des SPADs

Comme décrit dans la partie 2.6.2, les données extraites du module TCSPC sont des histogrammes du nombre de photons détectés après un délai Δt de l'impulsion laser. La figure 2.10(a) représente trois histogrammes pris à trois temps différents notés t_0 pour le premier histogramme (bleu), $t_0 + 8$ s pour le deuxième (orange) acquis 8 s après le premier, et $t_0 + 16$ s pour le troisième (jaune) acquis après 16 s. L'accumulation du nombre de détections entre les différents histogrammes dépend du bruit de fond sur le détecteur, mais également du nombre de photons de fluorescence.

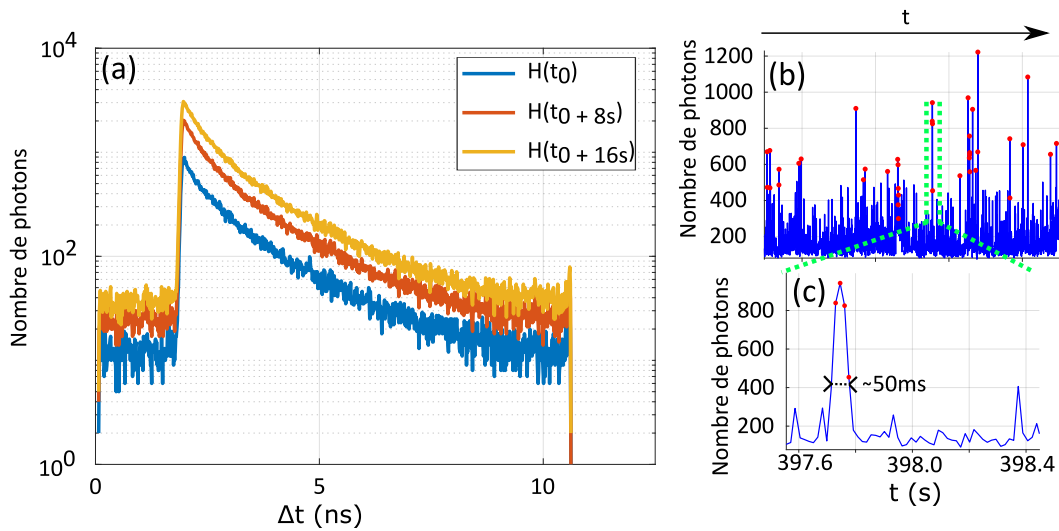


FIGURE 2.10 – (a) Histogrammes cumulés mesurés par un détecteur à différents temps de l'acquisition. (b) Trace d'intensité (en bleue) et détection des pics de fluorescence (points rouges) sur un détecteur. (c) Zoom sur une partie de la trace d'intensité autour d'une détection de fluorescence.

Pour remonter à la trace du nombre de photons en fonction du temps mesuré par à un SPAD, chaque histogramme acquis par un détecteur au temps t_{i+1} est soustrait au précédent acquis au temps t_i . Cette opération peut être formulée par :

$$dH(t_i) = H(t_{i+1}) - H(t_i). \quad (2.18)$$

L'intégrale de $dH(t_i)$ détermine donc le nombre de photons vu par un détecteur sur l'intervalle de temps $\delta t_i = t_{i+1} - t_i$. Comme expliqué précédemment, le temps d'acquisition d'un histogramme est d'environ 16 ms. Ce temps d'acquisition correspond donc à la résolution temporelle de la trace du nombre de photons en fonction du temps. Notons que le temps d'acquisition entre deux histogrammes n'est pas constant et fluctue de ± 4 ms autour de 16 ms. Ces fluctuations sont dues à des délais de communications variables entre le module TCSPC et l'ordinateur. La valeur de δt_i ne reflète donc pas forcément le temps exacte entre deux acquisitions. Une mesure d'intensité précise n'est donc pas possible avec ce mode d'ac-

quisition. En revanche, le nombre de photons de fluorescence peut être déterminé de manière exhaustive à condition de connaître le bruit de fond associé à chaque détecteur.

Le graphique 2.10(b), représente le nombre de coups vu par un détecteur en fonction du temps d'acquisition sur une plage de 40 s. Chaque pic bleu surmonté de point rouge représente la détection d'une émission de fluorescence par le SPAD en question. Ce type d'événements est identifié lorsque le nombre de détections dépasse une certaine valeur seuil. Lorsqu'un événement est identifié, son histogramme $dH(t_i)$ est sauvegardé pour être utilisé dans la suite de l'analyse. Remarquons que la valeur du bruit de fond sur un détecteur ainsi que ses fluctuations sont fortement dépendantes de l'échantillon étudié mais également des caractéristiques intrinsèques du détecteur (cf tableau 2.1).

Enfin, la figure 2.10(c) représente un zoom sur la trace du nombre de détection autour d'une émission de fluorescence. Cette émission se produit sur environ 50 ms (ce qui correspond à quatre points). Les histogrammes reliés aux points assimilés à une émission de fluorescence seront conservés pour les étapes de corrélation entre les SPADs et la caméra pour pouvoir associer, comme nous le verrons dans la suite, à chaque molécule détectée simultanément par les deux détecteurs son taux de désexcitation.

Comme le SPAD est un détecteur monocanal et le temps d'intégration de chaque histogramme est important, il est extrêmement difficile de différencier une émission de fluorescence provenant d'un émetteur unique de celle de plusieurs molécules séparées spatialement dans le champ de vue d'un SPAD en utilisant uniquement le nombre de coups en fonction du temps. C'est pourquoi la combinaison des données caméra avec celles des SPADs est capitale pour discriminer un événement unique de plusieurs dans le champ de vue d'un SPAD.

2.8 Association des taux d'émission aux positions des molécules

L'étape clef de la reconstruction des données est celle de la corrélation entre les données obtenues par la caméra EMCCD avec celles de la ligne de SPADs. Cette corrélation doit être effectuée spatialement mais aussi temporellement pour qu'à chaque molécule détectée par la caméra, soit associée son histogramme de déclin de fluorescence. Avant cette étape de synchronisation, les événements détectés via la méthode de super-localisation vont être fusionnés. Si la détection d'une molécule apparaît sur plusieurs images successives, et que la position de cette dernière dévie de moins de 40 nm entre les différentes images, alors ces détections consécutives sont définies comme un seul et même événement.

2.8.1 Corrélation spatiale des détections EMCCD/SPADs

Dans un premier temps, il faut déterminer quelles sont les zones de la caméra conjuguées avec le champ de vue des huit SPADs suivant la méthode décrite dans la partie 2.6.1. Par conséquent, chaque événement détecté par la caméra peut être attribué à un SPAD. Comme

nous l'avons remarqué dans la section 2.5.3, l'efficacité de détection du SPAD n'est pas homogène sur l'aire du détecteur, mais suit une réponse gaussienne. Au contraire, l'efficacité de détection de la caméra est constante. Par conséquent, une molécule très brillante à la caméra, localisée sur le bord de la zone de détection du SPAD, sera peu intense sur le SPAD. Pour contrer ce biais, nous associons à chaque détection mesurée via ThunderSTORM une pondération gaussienne dans l'optique de mimer l'efficacité de détection d'un SPAD. Cette pondération est définie comme :

$$A_i = C_d N_i \exp\left(-\frac{(x_d - x_i)^2 + (y_d - y_i)^2}{2\sigma_d^2}\right), \quad (2.19)$$

avec N_i le nombre de photons d'une molécule fluorescente déterminé par ThunderSTORM, x_d et y_d les coordonnées cartésiennes du centre d'un des détecteurs sur la caméra, x_i et y_i celle d'un événement vu par la caméra, et σ_d la dimension caractéristique d'un détecteur sur l'échantillon. Le préfacteur C_d est un facteur de conversion entre l'efficacité de détection de l'EMCCD et les SPADs. Ce facteur est propre à chaque SPAD, son estimation est réalisée lors de l'étape de calibration présentée dans la section 2.6.1. La valeur de A_i , homogène à un nombre de photons, est calculée pour l'ensemble des détections de la caméra. Un événement sera associé au détecteur si la valeur de A_i dépasse un certain nombre de photons N_{seuil} . La valeur de ce seuil est choisie pour que l'incertitude sur la mesure de durée de vie soit aux alentours de 10%. L'incertitude sur la mesure de la durée de vie est calculé selon le formalisme de Cramer-Rao comme par BOUCHET [2017] et BOUCHET et collab. [2019a] (cf annexe A).

Une seconde condition est appliquée pour que l'événement sélectionné soit définitivement associé à l'un des huit détecteurs. Cette condition impose qu'un seul et unique événement soit présent dans la zone de détection d'un SPAD. Comme ces détecteurs sont monocanaux, si plusieurs événements sont détectés simultanément par un même SPAD, il sera impossible de leur associer le taux d'émission spontanée qui leur est propre. C'est pourquoi les événements multiples apparaissant sur une même image de la caméra, dans le champ de vue du SPAD en question, sont retirés de la reconstruction. Notons que grâce au recouvrement spatial des détecteurs entre eux, un même événement peut être attribué à deux détecteurs à la fois si les deux conditions précédemment décrites sont réunies.

2.8.2 Corrélation temporelle des détections EMCCD/SPADs

Jusqu'à maintenant, nous nous sommes uniquement intéressés à la corrélation spatiale entre les données de la caméra EMCCD et celles provenant du module TCSPC. Or, du fait de la méthode d'enregistrement sur deux processeurs, il est essentiel de corrélérer les données entre les deux instruments également sur le plan temporel avant de pouvoir associer à chaque molécule sa position et son déclin de fluorescence.

Correction de la dérive temporelle entre l'EMCCD et les SPADs

A chaque image de la caméra enregistrée est associé un temps ayant pour référence le début de l'acquisition. Ce temps est obtenu via une horloge à quartz d'une précision de l'ordre de la nanoseconde embarquée sur la caméra. En revanche, les données provenant du module TCSPC ne sont pas marquées temporellement par rapport au début de l'acquisition. Un temps d'acquisition obtenu via la fonction chronomètre de Matlab leur est associé juste avant leur enregistrement. L'utilisation de deux chronomètres différents va entraîner un décalage systématique entre les données de la caméra et celles acquises par le module TCSPC. De plus, les deux instruments de mesure sont initialisés sur des processeurs différents avec des méthodes qui leur sont propres. Cela va donc engendrer un décalage temporel initial entre eux. Il sera donc essentiel de synchroniser les deux jeux de données pour pouvoir établir les coïncidences entre les événements détectés par la caméra et les SPADs. Le temps de référence est défini comme étant celui donné par la caméra car il est le plus précis et la dérive qui lui est associée peut être négligée.

Pour rappel, le temps d'acquisition des images provenant de la caméra est de 30 ms, et celle du module TCSPC d'environ 16 ms. Ces temps caractéristiques définissent la résolution temporelle d'acquisition de ces instruments. Pour corréler ces deux jeux de données, les deux échelles de temps sont ré-échantillonnées avec un pas de 1 ms. En même temps, les traces du nombre de détections en fonction du temps obtenues pour chacun des SPADs (voir partie 2.7.2) sont binarisées, tout comme les événements de la caméra attribués à chaque SPAD.

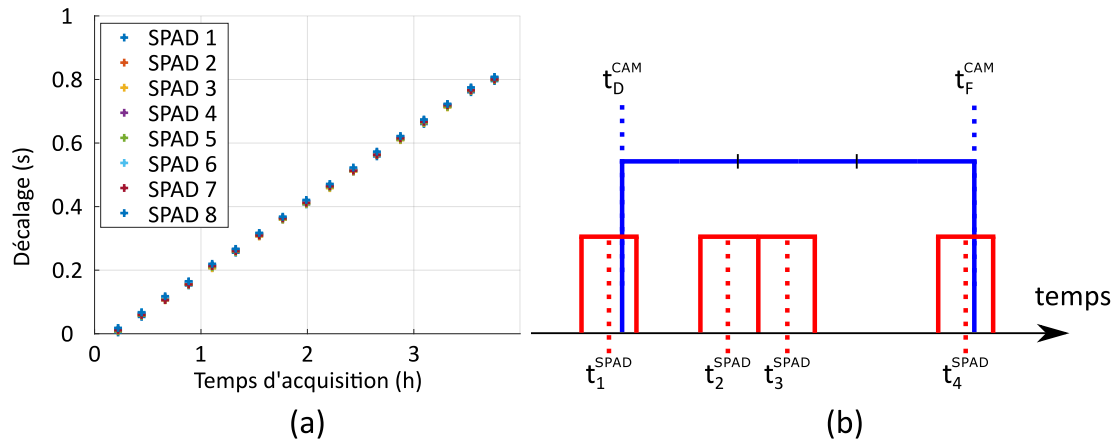


FIGURE 2.11 – (a) Décalage temporel entre les données enregistrées via la caméra et le module TCSPC. (b) Représentation schématique d'une association de données entre la caméra et un SPAD. Le créneau bleu représente une détection du rayonnement de fluorescence d'une molécule sur trois images de la caméra. Les créneaux rouges modélisent les histogrammes mesurés par le TCSPC associé au même événement mais vu cette fois-ci par un SPAD. La meilleure résolution temporelle du SPAD permet de discerner les temps morts de l'émission associée au blinking

Les données provenant des SPADs sont ensuite divisées en blocs de 15 minutes, et recalés

par rapport à la caméra. De cette manière, l'effet du décalage temporel systématique entre les deux instrument impact dans une moindre mesure la précision de corrélation entre les deux jeux de données. Chaque croix du graphique 2.11(a) représente le décalage en temps qu'il faut appliquer à un groupe de données associées à un détecteur pour les ajuster avec celles de la caméra. La tendance linéaire nous permet d'évaluer la dérive temporelle de 1 μ s par téléchargement d'histogramme. Cette valeur de dérive temporelle est en accord avec le temps d'appel de la fonction du chronomètre Matlab. Une autre information pouvant être extraite de ce graphique est la différence initiale entre la caméra et le module TCSPC induite lors des procédures d'initialisation de ces instruments sur les deux processeurs. Cette différence de temps initiale est de 15 ms. Notons que les histogrammes de chaque SPAD étant téléchargés simultanément, il est normal que les 8 détecteurs présentent une dérive temporelle similaire. Chaque histogramme est donc décalé en temps de la quantité extraite par régression linéaire des données de la figure 2.11(a).

Association des détections EMCCD / SPADs

Les deux jeux de données étant corrélés temporellement et spatialement, il est maintenant possible d'associer à chaque événement détecté par la caméra, un histogramme de déclin de fluorescence. La figure 2.11(b) représente une vision schématique des traces des détections binaires en fonction du temps des deux instruments après corrélation. Le créneau bleu représente une molécule fluorescente détectée sur trois images de la caméra. A chaque événement détecté par la caméra est associé un temps de début t_D^{CAM} et un temps de fin t_F^{CAM} . Les créneaux rouges représentent les histogrammes de déclin de fluorescence extraits du TCSPC et recalés temporellement. Ici quatre histogrammes sont schématisées et à chacun d'entre eux nous associons le temps $t_{1,\dots,4}^{SPAD}$, qui marque le milieu de la fenêtre d'acquisition. La condition que doit respecter un histogramme enregistré au temps t^{SPAD} pour être associé à un événement détecté à la caméra est la suivante :

$$t^{SPAD} \geq t_D^{CAM} \wedge t^{SPAD} \leq t_F^{CAM}, \quad (2.20)$$

où \wedge symbolise l'opérateur logique ET. Un histogramme est attribué à une détection de la caméra si leur recouvrement temporel est d'au moins 50%. Sous ces conditions, les détections du SPAD, schématisées sur la figure 2.11(b), pouvant être attribuées à l'évènement de la caméra sont acquises aux temps t_2^{SPAD} , t_3^{SPAD} , et t_4^{SPAD} . Les trois histogrammes sont ensuite sommés pour former l'histogramme de déclin de fluorescence associé à une molécule unique détectée simultanément par un SPAD et la caméra.

2.8.3 Ajustement paramétrique des déclin de fluorescence

La dernière étape du traitement de données consiste à extraire le taux de désexcitation des molécules qui ont été détectées simultanément par l'un des 8 SPADs et par la caméra EMCCD. Pour extraire cette information, l'histogramme qui a été associé à un événement va être ajusté paramétriquement par une fonction mono-exponentielle décroissante. Pour prendre en compte la réponse temporelle globale du système d'excitation, cette fonction d'ajustement est convoluée par l'IRF du laser. La fonction d'ajustement s'exprime alors comme :

$$F(t) = \text{IRF}(t) \otimes A \exp(\Gamma t) + N_b, \quad (2.21)$$

où les paramètres ajustables sont A l'amplitude, et Γ le taux d'émission spontané de l'émetteur fluorescent. Le bruit de fond, noté N_b , est mesuré expérimentalement et ajouté au modèle d'ajustement paramétrique. L'IRF(t) propre à chaque détecteur est également mesurée expérimentalement en fin d'acquisition et normalisée pour ensuite être incorporée à ce modèle d'ajustement paramétrique.

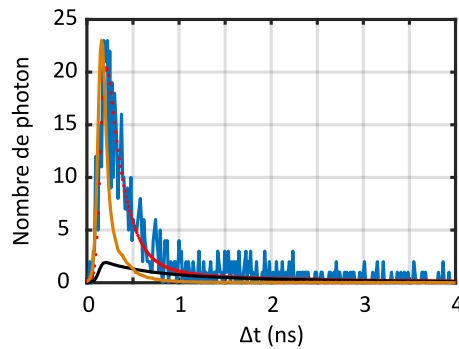


FIGURE 2.12 – Ajustement mono-exponentiel de durée de vie d'une molécule fluorescente détectée simultanément sur la caméra EMCCD et un des huit SPADs. La courbe bleue représente le signal de fluorescence d'une molécule et celle en pointillé rouge l'ajustement paramétrique associé. La courbe orange est l'IRF du SPAD sur lequel est détecté l'émission de fluorescence et la noire le bruit de fond.

La figure 2.12 montre le résultat d'un ajustement paramétrique (courbe en pointillé rouge) sur les données associées à une émission de fluorescence provenant d'une molécule unique (courbe bleue). La courbe orange représente le profil de l'IRF pour le détecteur associé à cet événement. Enfin, la courbe noire représente la composante ajoutée au modèle d'ajustement pour prendre en compte le bruit de fond.

En appliquant cette analyse sur l'ensemble des données acquises, il est donc possible de reconstruire une carte super-résolue du taux d'émission spontanée de l'échantillon étudié. Dans le chapitre suivant, nous présenterons les résultats obtenus à partir d'un échantillon de nanofils d'argent en employant les méthodes d'acquisitions et d'analyse discutées au cours de ce chapitre.

2.9 Conclusion

L'expérience de microscopie super-résolue en durée de vie permet de mesurer simultanément la position et le taux d'émission spontanée d'un ensemble de molécules fluorescentes de manière individuelle. Une partie de la lumière de fluorescence provenant d'une molécule unique est envoyée sur une caméra EMCCD pour mesurer sa position sur l'échantillon avec une précision de localisation moyenne de 15 nm. L'autre fraction de la lumière est dirigée vers un SPAD appartenant à la MLS pour la mesure du taux d'émission spontanée.

Le champ de vue global de cette expérience est entièrement défini par la zone de l'échantillon imagée sur chaque SPAD. Les travaux réalisés lors de cette thèse ont permis d'étendre le champ de manière significative via l'utilisation d'une MLS composée de 8 SPADs. La ligne de microlentilles disposée devant les détecteurs, ainsi que le système d'imagerie en amont permettent d'imager une zone sur l'échantillon d'environ $10 \times 1.2 \mu\text{m}^2$. Grâce au formalisme des matrices de transfert optique, l'action des microlentilles sur la formation de l'image dans le plan des détecteurs a pu être appréhendée. Nous avons vu qu'avec ce type d'optique, il est possible de créer une image sur chacun des huit détecteurs, les zones de l'échantillon correspondantes étant adjacentes les unes aux autres. Leur recouvrement, ainsi que l'efficacité de détection dans la zone entre les détecteurs estimés via ce formalisme sont en très bon accord avec les mesures expérimentales. Ces deux caractéristiques, induites par l'utilisation d'une ligne de microlentilles, sont entièrement conditionnées par la focale de ces dernières, la distance entre le plan des microlentilles et celui des détecteurs, ainsi que par l'espacement entre les huit SPADs. Le recouvrement spatial et l'efficacité de détection sont donc fixés lors de la conception du détecteur.

Une étape cruciale pour l'analyse des données est la corrélation spatiale et temporelle des données de la caméra avec celles de la MLS. Une fois cette étape franchie, nous pouvons associer à chaque évènement sa position ainsi que sa durée de vie et reconstruire la carte super-résolue du taux d'émission spontanée en champ proche de l'échantillon.

2.10 Références

- BEREZIN, M. Y. et S. ACHILEFU. 2010, «Fluorescence lifetime measurements and biological imaging», *Chemical reviews*, vol. 110, n° 5, p. 2641–2684. [40](#)
- BLANQUER, G., B. VAN DAM, A. GULINATTI, G. ACCONCIA, M. Y. DE WILDE, I. IZEDDIN et V. KRACHMALNICOFF. 2020, «Relocating single-molecules in super-resolved fluorescence lifetime images near a plasmonic nanostructure», *ACS Photonics*. [40](#)
- BOUCHET, D. 2017, *Plasmon-mediated energy transfer and super-resolution imaging in the near field of nanostructured materials*, thèse de doctorat, PSL Research University. [40](#), [61](#)

- BOUCHET, D., V. KRACHMALNICOFF et I. IZEDDIN. 2019a, «Cramer-rao analysis of lifetime estimations in time-resolved fluorescence microscopy», *Optics express*, vol. 27, n° 15, p. 21 239–21 252. [61](#)
- BOUCHET, D., J. SCHOLLER, G. BLANQUER, Y. DE WILDE, I. IZEDDIN et V. KRACHMALNICOFF. 2019b, «Probing near-field light–matter interactions with single-molecule lifetime imaging», *Optica*, vol. 6, n° 2, p. 135–138. [40](#)
- CUCCATO, A., S. ANTONIOLI, M. CROTTI, I. LABANCA, A. GULINATTI, I. RECH et M. GHIONI. 2013, «Complete and compact 32-channel system for time-correlated single-photon counting measurements», *IEEE Photonics Journal*, vol. 5, n° 5, p. 6801 514–6801 514. [46](#)
- IZEDDIN, I., J. BOULANGER, V. RACINE, C. SPECHT, A. KECHKAR, D. NAIR, A. TRILLER, D. CHOQUET, M. DAHAN et J. SIBARITA. 2012, «Wavelet analysis for single molecule localization microscopy», *Optics express*, vol. 20, n° 3, p. 2081–2095. [57](#)
- LINDLEIN, N. 2002, «Simulation of micro-optical systems including microlens arrays», *Journal of Optics A : Pure and Applied Optics*, vol. 4, n° 4, p. S1. [50](#)
- MARTIN-FERNANDEZ, M., C. TYNAN et S. WEBB. 2013, «A ‘pocket guide’ to total internal reflection fluorescence», *Journal of microscopy*, vol. 252, n° 1, p. 16–22. [44](#)
- OVESNÝ, M., P. KRÍŽEK, J. BORKOVEC, Z. ŠVINDRYCH et G. M. HAGEN. 2014, «Thunderstorm : a comprehensive imagej plug-in for palm and storm data analysis and super-resolution imaging», *Bioinformatics*, vol. 30, n° 16, p. 2389–2390. [57](#)
- PARK, H. S., R. HOSKINSON, H. ABDOLLAHI et B. STOEBER. 2015, «Compact near-eye display system using a superlens-based microlens array magnifier», *Optics express*, vol. 23, n° 24, p. 30 618–30 633. [50](#)

Chapitre 3

Imagerie de LDOS en molécule unique avec la matrice linéaire de SPADs

Sommaire

3.1 Préparation de l'échantillon	68
3.2 Résultats expérimentaux	70
3.2.1 Carte de la densité d'évènements	71
3.2.2 Carte du nombre de photons détectés	73
3.2.3 Carte du taux de désexcitation	75
3.3 Position apparente d'une molécule au voisinage d'une structure plasmonique	78
3.3.1 Effet de mirage plasmonique	78
3.3.2 Étude sur les nanofils d'argent : aperçu de état de l'art	80
3.3.3 Position apparente obtenue avec un ajustement gaussien 2D	81
3.4 Classification des molécules au voisinage du nanofil d'argent	82
3.4.1 Distribution du champ exciteur	83
3.4.2 Sélection des molécules en fonction de la valeur du taux d'émission spontanée	84
3.4.3 Classification des molécules en fonction de la taille de la PSF	86
3.4.4 Repositionnement des différentes classes de molécules	89
3.5 Étude d'un échantillon de nanotriangles d'or	90
3.6 Conclusion	92
3.7 Références	93

Au cours de ce chapitre, nous allons présenter et analyser les résultats obtenus sur un échantillon de nanofils d'argent avec l'expérience décrite au chapitre 2. Cette expérience permet de mesurer la position d'un ensemble de molécules photo-activables par l'intermédiaire d'une caméra EMCCD, ainsi que leur taux d'émission spontanée via une matrice linéaire de SPADs. La mesure de la position et du taux d'amortissement se fait à l'échelle de l'émetteur unique de sorte qu'à chaque molécule détectée simultanément par les deux instruments, soient associées sa position et son taux d'amortissement.

L'utilisation d'un échantillon de nanofils d'argent est motivée par le fait qu'il présente un contraste important en terme de taux d'émission spontanée entre les molécules fluorescentes fixées au voisinage du nanofil, et celles présentes à la surface du substrat. Comme nous le verrons dans la partie 3.2, ce fort contraste nous permet de construire des cartes du taux d'amortissement où le nanofil apparaît distinctement sur les 8 SPADs, et donc de valider la viabilité de notre système expérimental avec l'utilisation de la matrice linéaire de SPADs. Via cette expérience, nous pouvons également extraire les cartes de densité de détection, ainsi que le nombre de photons émis par chaque molécule [BLANQUER et collab., 2020].

En s'appuyant sur des simulations FDTD réalisées avec le logiciel Lumerical, nous présenterons une étude poussée du comportement des molécules proches d'un nanofil d'argent en fonction de leur position et de leur orientation. Ces simulations montrent notamment que le couplage d'une molécule au nanofil d'argent peut déformer la PSF détectée et donc introduire une erreur sur la position mesurée.

Nous montrerons enfin que la comparaison entre les données expérimentales et les simulations nous permet de remonter à l'orientation du moment dipolaire des molécules ainsi qu'à leur position réelle, grâce à une sélection sur le taux d'émission spontanée et la taille de la PSF. Ceci constitue l'un des résultats majeurs obtenus durant cette thèse. En effet, l'association de chaque molécule avec sa position réelle fait sauter un des verrous majeurs pour l'application des techniques de super-résolution en champ lointain à la nanophotonique, rendant possible l'imagerie de la LDOS en molécule unique sans balayage et sans une connaissance a priori de la position de l'émetteur.

Dans une dernière partie, nous présenterons les résultats obtenus sur un échantillon de nanotriangles d'or par microscopie super-résolue de durée de vie. Ces échantillons sont synthétisés par Sylvie Marguet du CEA Paris Saclay.

3.1 Préparation de l'échantillon

Les nanofils d'argent présentent une géométrie cylindrique d'un diamètre de l'ordre de 115 nm en moyenne et une longueur de plusieurs micromètres comme le montre l'image 3.1(a) obtenue à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB). L'échantillon est composé de nanofils d'argent, de molécules fluorescentes (Streptavidin, Alexa Fluor 647 conjugué, Thermofisher) fixées sur la lamelle de verre et aux nanofils grâce à de la BSA (Bovine

Serum Albumin, Sigma-Aldrich). Ces molécules fluorescentes présentent un taux d'émission spontanée de 1 ns^{-1} et une efficacité quantique de 0.33 en moyenne dans l'eau. Les spectres d'émission et d'absorption de ces dernières sont représentés sur le graphique 3.1(b). Des billes fluorescentes (Crimson, Thermofisher) de 200nm de diamètre sont également dispersées sur l'échantillon et jouent le rôle de marqueurs fiduciaires. Une représentation schématique de l'échantillon est présentée sur la figure 3.2(c).

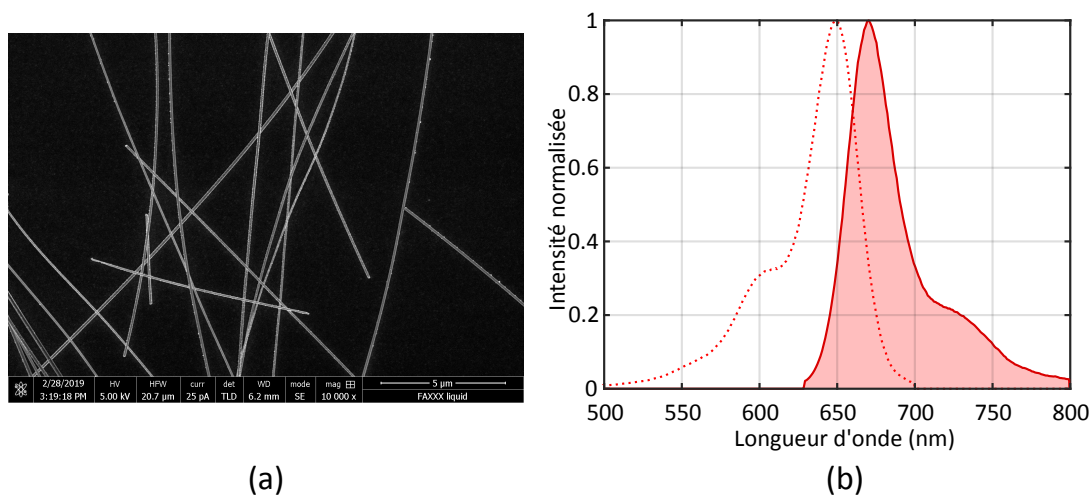


FIGURE 3.1 – (a) Image de nanofils d'argent obtenue par microscopie électronique à balayage. (b) Spectre d'émission (courbe en pointillé) et d'absorption (zone pleine) de molécules fluorescentes commerciales de type Alexa 647. Spécifications données par le fournisseur Thermofisher.

La préparation de l'échantillon consiste dans un premier temps à disperser une solution diluée de nanofils d'argent (Sigma-Aldrich) sur une lamelle de verre ($24 \times 24 \text{ mm}^2$) qui a été au préalable nettoyée et passée à l'ozone cleaner. Les molécules fluorescentes utilisées doivent être dans une solution à pH neutre pour préserver leur photostabilité. C'est pourquoi la lamelle sur laquelle les nanofils ont été dispersés est ensuite enfermée dans une chambre microfluidique. Les schémas 3.2(a) et (b) présentent les différentes étapes de la conception de la chambre microfluidique. Quatre plots de parafilm, représentés en jaune sur le schéma 3.2(a), sont disposés sur les coins de la lamelle, puis une seconde lamelle en verre plus petite ($20 \times 20 \text{ mm}^2$) est déposée par dessus. Pour remplir et purger la microchambre, deux pipettes microfluidiques sont également insérées sur deux des plots de parafilm. La chambre microfluidique est ensuite scellée par un polymère bicomposant représenté en rouge sur le schéma de la figure 3.2(b). Une fois la chambre microfluidique scellée, on y injecte une solution de PBS (phosphate buffered saline, Sigma-Aldrich) dans laquelle de la BSA est diluée à 1 g.L^{-1} . La BSA va se déposer et se fixer à la surface de la lamelle et des nanofils. Après deux heures d'attente, la microchambre est rincée plusieurs fois avec du PBS pour retirer les molécules de BSA résiduelles. Les molécules d'Alexa 647 conjuguées à de la streptavidine, diluée à 5 mg.L^{-1}

dans une solution de PBS, sont ensuite injectées dans la microchambre. Cette solution est laissée deux heures dans la microchambre. Pendant ces deux heures, les molécules de streptavidine vont pouvoir créer des liaisons covalentes avec les molécules de BSA et donc amarrer les Alexa 647 à l'échantillon. Grâce à cette méthode, un tapis de molécules fluorescentes est formé sur l'ensemble de la surface de l'échantillon. La microchambre est de nouveau rincée plusieurs fois avec une solution de PBS pour retirer l'excédant de fluorophores qui n'a pas pu s'accrocher aux molécules de BSA.

Les billes fluorescentes sont ensuite injectées dans la microchambre en très faible concentration de sorte à avoir en moyenne 8×10^{-3} billes par μm^2 . Enfin, la solution tampon, préparée suivant le protocole expérimental décrit par [VAN DE LINDE et collab., 2011], est injectée dans la microchambre. Cette dernière étape est cruciale car elle permet aux molécules d'Alexa 647 d'être photo-activables.

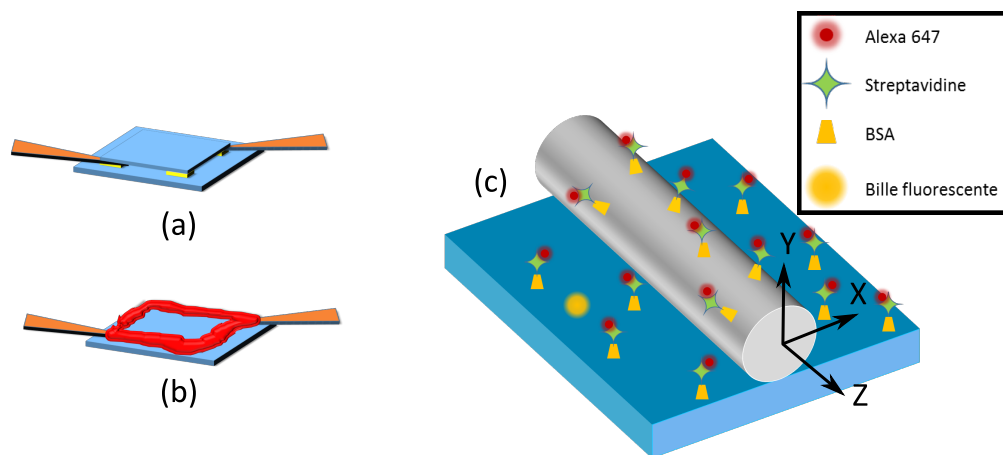


FIGURE 3.2 – (a) et (b) schéma de la chambre microfluidique : les pipettes microfluidiques sont représentées en orange, les plots de parafilm en jaune, et en rouge le polymère bicomposant utilisé pour seller la microchambre. (c) Vision schématique de la surface de l'échantillon au voisinage d'un nanofil d'argent.

3.2 Résultats expérimentaux

Nous allons maintenant discuter les différents résultats obtenus grâce à l'expérience de mesure de durée de vie spatialement super-résolue. Nous discuterons de la densité d'émetteurs à la surface de l'échantillon dans la section 3.2.1, de la carte d'intensité dans la partie 3.2.2 et de la carte de durée de vie dans la section 3.2.3. Rappelons qu'avec notre montage expérimental nous pouvons illuminer la surface de l'échantillon sous deux polarisations croisées (cf partie 2.2). L'une est orientée dans le plan de l'échantillon selon l'axe X et perpendiculaire au nanofil d'argent, et l'autre selon l'axe Y perpendiculaire à la surface de l'échantillon (cf figure 3.2(c) pour l'orientation du système de coordonnées).

3.2.1 Carte de la densité d'évènements

La figure 3.3 représente les distributions de la densité de détection de molécules fluorescentes à la surface de l'échantillon sous les deux polarisations d'excitation X et Y pour un même nanofil. L'acquisition a été répétée deux fois sur la même zone de l'échantillon avec, comme unique variation, la polarisation de l'excitation à la surface de l'échantillon. Chacune de ces deux cartes a nécessité trois heures d'acquisition et a été obtenue en utilisant uniquement les données de la caméra EMCCD. La densité est déterminée via la formule suivante :

$$\phi(X, Z) = \sum_{i, |d_i| \leq \frac{\sigma}{2}} \left[\frac{1}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{d_i^2}{2\sigma^2}\right) \right] \quad (3.1)$$

où σ est l'erreur typique sur la localisation des molécules estimée à partir de l'ensemble des détections mesurées par l'EMCCD et d_i la distance entre la position (X, Z) et la position de la molécule d'indice i . La somme est effectuée sur les détections présentes dans un rayon $\sigma/2$ autour de la position (X, Z) . Ces deux cartes sont construites avec environ 400 000 évènements.

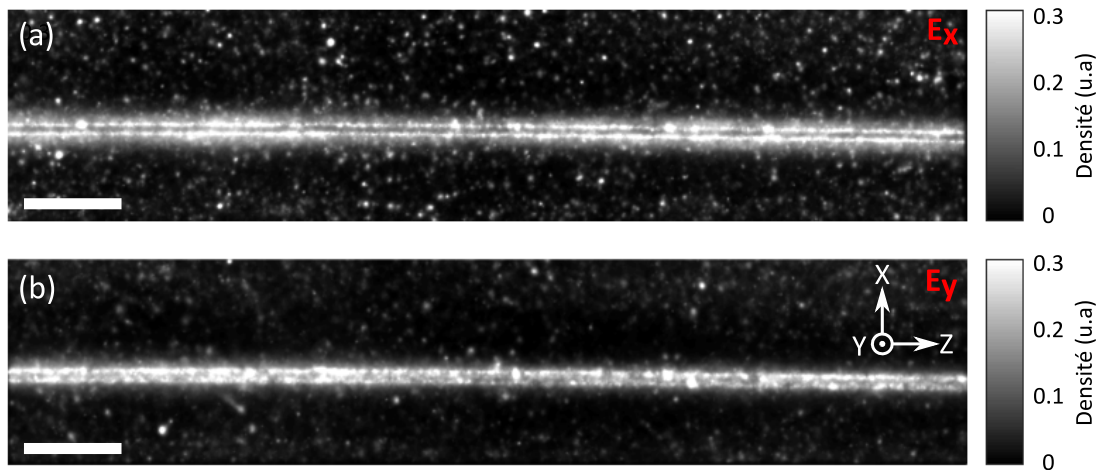


FIGURE 3.3 – (a) Carte super-résolue de densité au voisinage d'un nanofil d'argent de 115 nm de diamètre sous une illumination TIRF polarisée selon l'axe X, et (b) selon l'axe Y. La barre d'échelle représente 1 μm .

La probabilité de détecter un évènement en champ lointain est liée au produit entre la probabilité d'exciter l'émetteur et celle d'émission de ce dernier. La carte de densité d'évènements devrait donc représenter ce produit. Cependant, l'expression de la densité de détections $\phi(X, Z)$ définie par l'équation 3.1 ne fait pas intervenir le nombre de photons détectés. Une molécule est comptabilisée que si le nombre de photons émis par cette dernière dépasse un certain seuil défini comme 2.5 fois le bruit de fond mesuré par la caméra. Un évènement de forte intensité de fluorescence et un autre de plus faible intensité seront donc considérés de manière équivalente. La carte de densité ainsi construite est donc peu sensible à la proba-

bilité d'émission d'une molécule. En revanche, elle reflète la probabilité d'excitation et donc l'intensité du champ excitateur.

La distribution d'intensité du champ excitateur simulée avec Lumerical est représentée sur les figures 3.4(a,c) selon une coupe perpendiculaire à l'axe du nanofil pour les deux polarisations d'excitation. Ces simulations FDTD montrent que, dans les deux cas, le champ excitateur est fortement exalté au voisinage du nanofil dans la direction de polarisation. Lorsque l'excitation est polarisée selon l'axe X, le champ autour du nanofil présente deux lobes de forte intensité sur les côtés du nanofil. En revanche, sous une illumination polarisée selon l'axe Y, le maximum d'intensité se trouve sur le sommet du nanofil. Cette dépendance singulière du champ excitateur à la polarisation d'excitation est clairement visible sur les données expérimentales. En effet, lorsque la polarisation d'excitation est selon X (cf figure 3.3(a)), une zone avec un faible nombre de détections apparaît au centre du nanofil. D'après la figure 3.4(a) le champ excitateur est principalement confiné sur les côtés du nanofil, donc il sera plus probable de détecter une molécule située sur les côtés du nanofil que sur son sommet. En revanche, la densité de détections sur le nanofil est plus homogène lorsque l'acquisition est effectuée avec une illumination polarisée selon l'axe Y. Avec cette illumination, le champ excitateur est principalement confiné sur le sommet du nanofil (figure 3.4(c)). L'excitation et la détection des molécules sur le haut du nanofil est donc favorisée contrairement à ce qui se passe pour les molécules situées sur les côtés.

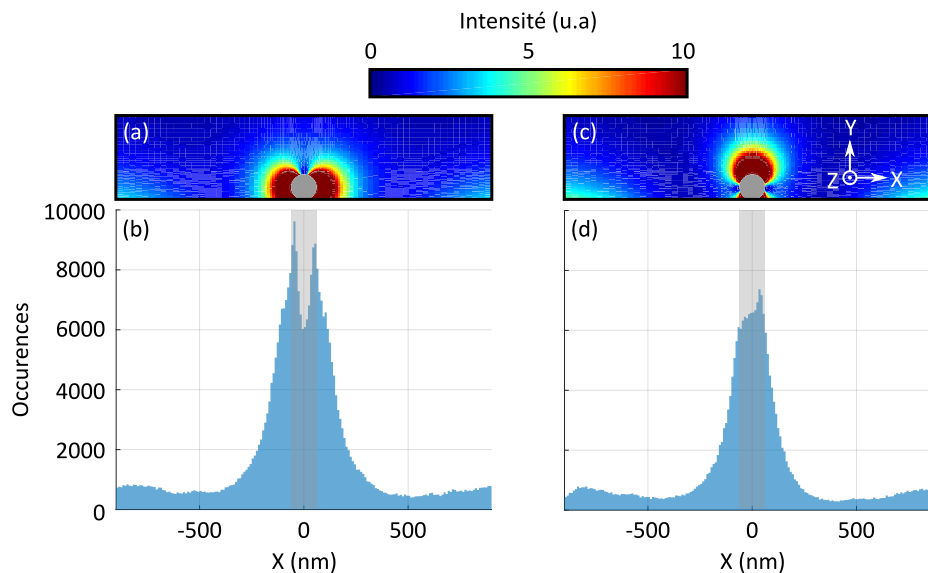


FIGURE 3.4 – (a) Simulation FDTD de la distribution d'intensité autour d'un nanofil d'argent sous une illumination TIRF polarisée selon l'axe X ((c) selon l'axe Y). (b) Projection des événements super-localisés sous une illumination TIRF polarisée selon l'axe X ((d) selon l'axe Y).

Le nanofil d'argent étant invariant par translation le long de l'axe Z, il est possible de pro-

jeter l'ensemble des détections sur cet axe. Ceci nous permet d'effectuer une analyse plus quantitative des données. Les deux graphiques 3.4(b,d) représentent le nombre d'événements détectés par la caméra selon l'axe X avec respectivement une illumination de l'échantillon polarisée selon l'axe X et Y. La zone grisée sur les graphiques délimite la zone occupée par le nanofil d'argent. L'origine de l'asymétrie de la distribution reportée en figure 3.4(d) provient d'une légère inclinaison de la polarisation du faisceau d'excitation par rapport à la surface de l'échantillon. On remarque, comme expliqué précédemment, que le nombre de détections est bien plus important au voisinage du nanofil que sur le substrat avec les deux illuminations. La largeur de la distribution est plus grande si la polarisation est selon X que selon Y, ce qui confirme le fait que, dans ce dernier cas, les molécules sur les côtés du nanofil sont excitées moins efficacement. A 500 nm du nanofil le nombre de détections est très faible, et remonte légèrement à partir de 600 nm du nanofil. Ce comportement est observable quelle que soit l'orientation de la polarisation d'excitation. Il s'explique par un phénomène d'interférence induit par l'interaction du champ incident avec le nanofil d'argent. Une fraction du champ incident est diffusée par le nanofil. L'interaction du champ diffusé avec le champ incident crée des interférences à la surface de l'échantillon. Ces interférences font varier l'intensité du champ exciteur au voisinage du nanofil, et donc *de facto* modifient la probabilité de détecter les molécules à proximité du nanofil d'argent.

Mesurer la densité de détection des molécules fluorescentes revient donc à mesurer la distribution du champ au voisinage du nanofil. De plus, le contrôle de la polarisation d'excitation via une illumination TIRF nous permet d'exciter de manière préférentielle certaines zones du nanofil plus que d'autres en modifiant la distribution du champ exciteur autour du nanofil d'argent. Nous allons maintenant discuter de la carte du nombre de photons détectés au voisinage du nanofil d'argent.

3.2.2 Carte du nombre de photons détectés

Pour chaque évènement détecté sur la caméra, le nombre de photons associés est estimé par l'intégrale de la gaussienne obtenue par l'ajustement paramétrique sur sa PSE. Pour chaque pixel (X, Z) , le nombre de photons est calculé selon l'expression :

$$N(X, Z) = \frac{1}{\Phi(X, Z)} \sum_{i, |d_i| \leq \frac{\sigma}{2}} \left[\frac{N_i}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{d_i^2}{2\sigma^2}\right) \right], \quad (3.2)$$

avec N_i le nombre de photons associé à l'évènement i . La valeur du nombre de photons à la position (X, Z) est le résultat d'une pondération gaussienne du nombre de photons associé à chaque évènement situé dans une zone de rayon $\sigma/2$ autour de la position (X, Z) . Comme pour les cartes de densité, le nombre d'évènements utilisé pour la construction de ces cartes est d'environ 400 000 par carte. Les cartes du nombre de photons ainsi obtenues sont présentées sur la figure 3.5(a) pour l'excitation polarisée selon l'axe X et 3.5(b) pour celle selon l'axe Y.

L'interprétation de ces deux cartes n'est pas évidente, car le nombre de photons détectés pour chaque évènement dépend de plusieurs facteurs qu'il est difficile de traiter séparément, tels que l'intensité d'excitation à la position de la molécule, le diagramme de rayonnement de chaque molécule (dépendant de sa position et de l'orientation de son moment dipolaire), ainsi que la probabilité de détection en champ lointain. Nous allons tout de même donner quelques pistes pour leur interprétation.

En comparant les cartes de densité 3.3(a,b) et du nombre de photons 3.5(a,b) pour les deux polarisations, nous remarquons que, contrairement à la densité de détection, le nombre de photons détectés semble dépendre très faiblement de la polarisation d'excitation. En effet, pour les deux polarisations, le maximum d'émission est atteint pour des molécules situées sur les côtés du nanofil d'argent. Les deux facteurs principalement responsables de ce comportement sont le diagramme de rayonnement et le taux d'émission radiatif. Un troisième facteur, lié à une possible mauvaise localisation des molécules, sera discuté plus loin dans ce chapitre.

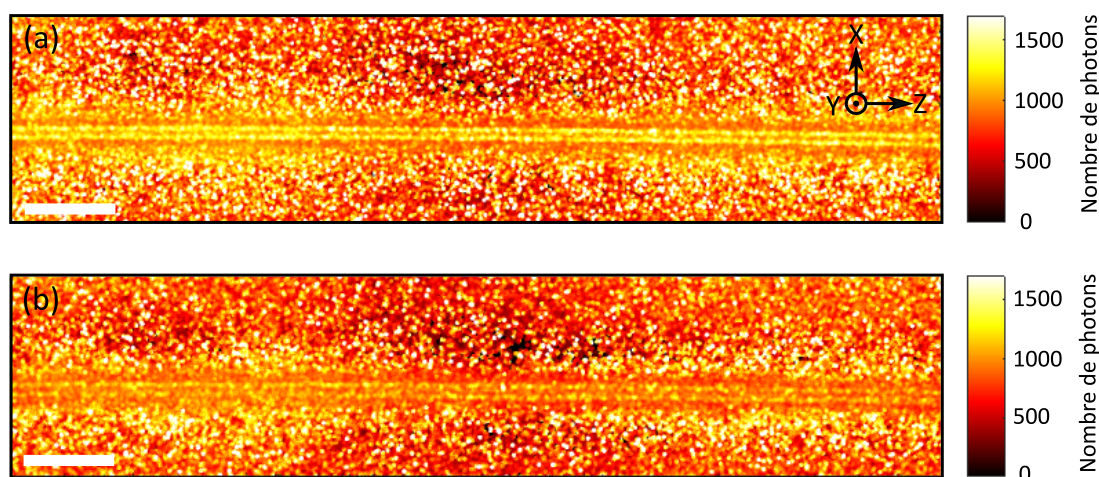


FIGURE 3.5 – (a) Carte super-résolue du nombre de photons au voisinage d'un nanofil d'argent de 115 nm de diamètre sous une illumination TIRF polarisée selon l'axe X, et (b) selon l'axe Y. La barre d'échelle blanche représente 1 μm .

De part la géométrie cylindrique du nanofil, ainsi que le faible contraste d'indice entre la solution tampon et le substrat de verre, nous nous attendons à ce que le taux d'amortissement de type non radiatif et radiatif (intégré sur tout l'angle solide de détection) entre une molécule située sur le côté, ou bien au sommet du nanofil soit similaire pour une orientation fixée du moment dipolaire. Si le taux d'émission spontanée de type radiatif est constant autour du nanofil, il devrait en être de même pour le nombre de photons émis par les molécules autour du nanofil. Or ce n'est pas le cas et ceci est dû au fait que, comme la détection se fait sous un angle solide limité, le nombre de photons effectivement détectés dépend fortement du diagramme de rayonnement. Il a été montré par [SU et collab. \[2015\]](#) que les molécules situées sur les côtés du nanofil ne présentent pas le même diagramme de rayonnement que celle fixées en son

sommet. La collection de la lumière de fluorescence par l'objectif est plus efficace lorsque les molécules sont situées sur les côtés plutôt que sur le sommet du nanofil. C'est pourquoi le nombre de photons moyen est toujours plus important sur les côtés du nanofil plutôt que sur son sommet, et ceci pour les deux polarisations d'excitation.

3.2.3 Carte du taux de désexcitation

Les deux cartes de la figure 3.6 représentent la distribution du taux d'émission au voisinage d'un nanofil d'argent pour les deux polarisations d'excitation accessibles avec l'illumination TIRF. La valeur du taux d'émission spontanée à la position (X, Z) est calculée de façon similaire au nombre de photons, à savoir :

$$\Gamma(X, Z) = \frac{1}{\phi(X, Z)} \sum_{i, |d_i| \leq \frac{\sigma}{2}} \left[\frac{\Gamma_i}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{d_i^2}{2\sigma^2}\right) \right], \quad (3.3)$$

avec Γ_i le taux d'émission spontanée associé à la détection i . Le taux d'émission spontanée à une position (X, Z) est donc le résultat d'une pondération gaussienne de l'ensemble des taux d'émission de chaque évènement situé dans une zone de rayon $\sigma/2$ autour de la position (X, Z) . Chacune de ces deux cartes est construite à partir d'environ 50 000 évènements détectés simultanément par l'EMCCD et la MLS. Seulement environ 12.5% des évènements détectés par la caméra est corrélé avec les évènements détectés par la MLS et ceci pour deux raisons. Premièrement, l'efficacité de détection des SPADs est plus faible que celle de la EMCCD (environ 2.5 fois plus faible, d'après nos observations expérimentales). Et deuxièmement, le champ de vue accessible à la ligne de SPADs est plus petit que celui de la caméra.

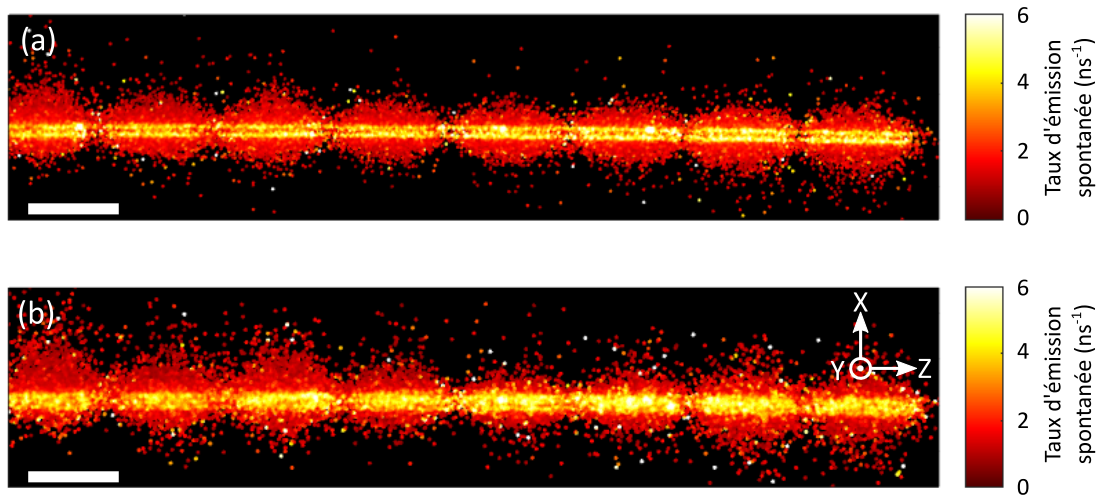


FIGURE 3.6 – (a) Carte super-résolue du taux d'émission spontanée au voisinage d'un nanofil d'argent de 115 nm de diamètre sous une illumination TIRF polarisée selon l'axe X, et (b) selon l'axe Y. La barre d'échelle blanche représente 1 μm .

Comme attendu, le taux d'émission spontanée des molécules fluorescentes est plus important proche du nanofil que loin de ce dernier, quelle que soit la polarisation d'excitation. L'augmentation du taux d'émission traduit un couplage des molécules avec la structure plasmonique. La nature métallique du nanofil d'argent donne accès à des canaux de désexcitation de type non radiatif. Ces derniers permettent aux molécules fluorescentes situées à proximité du nanofil de se désexciter plus rapidement que celles situées sur le substrat de verre. De plus, les nanofils d'argent sont à même de supporter des modes plasmoniques [FALK et collab., 2009; WEI et XU, 2012] qui peuvent être excités par un émetteur fluorescent situé à proximité du nanofil. Ce mode de désexcitation supplémentaire par excitation d'un plasmon va également participer à l'augmentation du taux d'émission spontanée de l'émetteur au voisinage du nanofil. En plus de ces observations générales, nous verrons dans la suite que le taux d'émission est fortement dépendant de l'orientation et de la position des molécules situées à proximité du nanofil.

En observant en détail les cartes de la figure 3.6, nous pouvons remarquer la présence de certains événements isolés, localisés sur le substrat de verre loin du nanofil d'argent. Ces événements, qui constituent environ 0.1% de l'ensemble des détections corrélées entre les deux instruments, présentent un taux de désexcitation élevé, bien supérieur à celui attendu pour des molécules sur du verre. Ces détections peuvent s'expliquer par une erreur d'association entre la position et le taux d'émission lors de la reconstruction des données, ou alors la présence de matériel luminescent sur la surface de verre. A cause de leur faible proportion par rapport aux autres événements, ils ne gênent pas la visualisation des données ou leur interprétation, qui sera faite dans la suite.

Afin d'étudier les données plus en détail, nous avons projeté l'ensemble des détections obtenues sur l'axe X et nous avons affiché leur taux d'émission spontanée en fonction de la distance au centre du nanofil. Les graphiques 3.7(a,b) présentent les données acquises respectivement avec la polarisation d'excitation selon l'axe X et Y. L'aire grisée a une taille égale au diamètre nominal du nanofil. Ces deux distributions font clairement apparaître l'impact du nanofil sur le taux d'émission spontanée qui se traduit par une hausse abrupte de ce dernier pour les molécules proches du nanofil. A partir de ces graphiques, deux types de populations peuvent être clairement identifiés. Une première catégorie de molécules proches de la surface du nanofil avec des taux d'émission spontanée $\Gamma \approx 10 \text{ ns}^{-1}$. Et une seconde population présentant des taux d'émission spontanée compris entre $3 < \Gamma < 10 \text{ ns}^{-1}$, plus élevés que sur du verre loin du nanofil ($\Gamma \approx 1.6 \text{ ns}^{-1}$ sur le verre). Notre méthode d'analyse localise ces molécules sur du verre à différentes distances du nanofil. Nous verrons dans la suite que l'interprétation des données relatives à la deuxième classe de molécules n'est pas triviale et qu'elle met en évidence des problèmes inhérents aux techniques de super-localisation en champ lointain. Dans la suite de cette section, nous nous intéresserons aux événements qui présentent un taux d'émission spontanée élevé.

En sélectionnant uniquement les détections avec un fort taux d'émission spontanée, nous

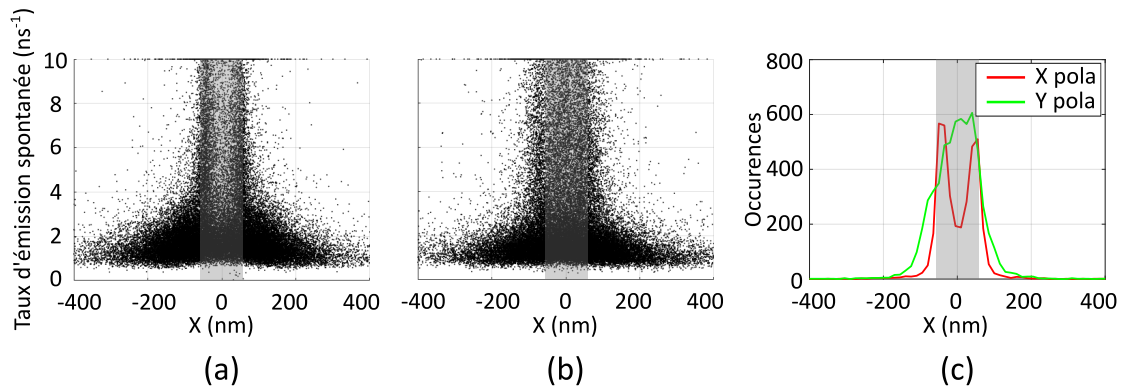


FIGURE 3.7 – (a) Projection du taux d'émission spontanée de chaque détection corrélée entre un SPAD et l'EMCCD sous une illumination TIRF polarisée selon l'axe X, ((b) selon l'axe Y). (c) Nombre de détections en fonction de la distance au nanofil pour des taux d'émission compris entre 8 ns^{-1} et 10 ns^{-1} . La courbe rouge (verte) pour une illumination polarisée selon l'axe X (Y).

nous assurons de ne conserver que les molécules fixées au nanofil d'argent et, comme nous le montrerons dans la suite via des simulations FDTD, avec un moment dipolaire orienté radialement par rapport au nanofil. Les deux courbes du graphique 3.7(c) représentent les projections le long de l'axe X des évènements présentant un taux d'émission spontanée supérieur à 8 ns^{-1} pour les deux polarisations d'excitation. La zone grisée indique la position du nanofil d'argent. La courbe rouge correspond à la distribution des évènements à fort taux d'émission obtenue avec une polarisation d'excitation selon l'axe X, la verte représente la distribution obtenue sous une polarisation d'excitation orientée selon l'axe Y. Remarquons que la largeur des deux courbes, donne une très bonne estimation du diamètre du nanofil.

Il apparaît clairement que ces distributions sont fortement dépendantes de la polarisation d'excitation. Pour une polarisation orientée selon l'axe X, il a été vu dans la partie 3.2.1 qu'il est plus probable d'exciter les molécules situées sur les côtés que celles situées sur le sommet du nanofil, et inversement lorsque la polarisation d'excitation est orientée selon l'axe Y. La technique d'imagerie utilisée revient à projeter les molécules fixées à la surface du nanofil dans le plan (X,Z). Moyennant ces considérations, nous nous attendons à ce que la distribution des molécules autour du nanofil obtenue avec une polarisation selon X soit plus large que celle obtenue sous une illumination polarisée selon Y. Or, d'après nos mesures, nous observons l'opposé. Ce comportement contre intuitif s'explique par l'interaction des molécules avec le nanofil d'argent qui engendre une erreur de localisation. En effet, la position apparente de l'émetteur fluorescent, mesurée sur la base d'un ajustement paramétrique gaussien de la PSF, n'est pas la position réelle de ce dernier. On parle donc d'effet de mirage plasmonique. Nous verrons dans les parties suivantes que l'erreur de localisation est fortement dépendante de l'orientation et de la position des molécules autour du nanofil d'argent.

3.3 Position apparente d'une molécule au voisinage d'une structure plasmonique

En microscopie de super-résolution, l'erreur sur la localisation d'un émetteur fluorescent est estimée via le nombre de photons collectés, le rapport signal sur bruit, la taille des pixels de la caméra sur l'échantillon et la taille de la PSF (cf équation 1.41). Dans un environnement homogène, ou avec de faibles variations d'indice, les molécules fluorescentes possèdent un rayonnement de type dipolaire. Selon l'orientation du moment dipolaire par rapport au substrat, la PSF détectée peut avoir différentes formes. Si le moment dipolaire est contenu dans le plan objet, la PSF est symétrique et peut être ajustée par une gaussienne. En revanche, d'autres orientations du moment dipolaire peuvent donner lieu à des PSF asymétriques ou présentant des formes particulières (bilobées ou trilobées par exemple) pour lesquelles un ajustement gaussien n'est pas justifié. Néanmoins, le faible rapport signal sur bruit et le faible nombre de pixels sur lesquels la PSF est détectée rendent caduque une étude poussée de la PSF et un ajustement gaussien est généralement adopté. L'erreur de localisation peut rester acceptable pour des échantillons de faible épaisseur ou avec de faibles contrastes d'indice optique (comme par exemple des échantillons biologiques en solution aqueuse). En revanche, si les molécules sont hors du plan focal de l'objectif (à plusieurs centaines de nanomètres), avec une orientation du moment dipolaire inclinée par rapport au plan de l'échantillon et de l'axe optique, l'asymétrie de la PSF va être exacerbée et l'erreur commise sur la mesure de la position peut devenir importante [BACKLUND et collab., 2016; ENDERLEIN et collab., 2006; LEW et MOERNER, 2014].

Dans notre cas, la forme de la PSF d'une molécule située au voisinage du nanofil d'argent peut être perturbée par la présence du nanofil d'argent. Comme nous allons le voir, cette perturbation peut entraîner un écart entre la position réelle de la molécule sur l'échantillon et sa position apparente mesurée par un ajustement gaussien de la PSF. Cet effet est appelé dans la littérature un mirage plasmonique [RAAB et collab., 2017].

3.3.1 Effet de mirage plasmonique

Les propriétés d'émission des molécules fluorescentes telles que le taux d'émission spontanée, ou le diagramme de rayonnement sont modifiées au voisinage des structures plasmoniques. Le couplage entre une structure plasmonique et un émetteur va générer un mode d'émission typique résultant du rayonnement provenant de la structure et de l'émetteur. En champ lointain, l'intensité rayonnée sera donnée par l'interférence entre la lumière émise par le dipôle émetteur et la lumière rayonnée par la structure plasmonique. En présence d'une structure plasmonique, la PSF mesurée va donc être différente par rapport à celle d'une molécule dans un milieu homogène.

Les images 3.8(a) et (b) sont tirées de RAAB et collab. [2017] et illustrent très clairement

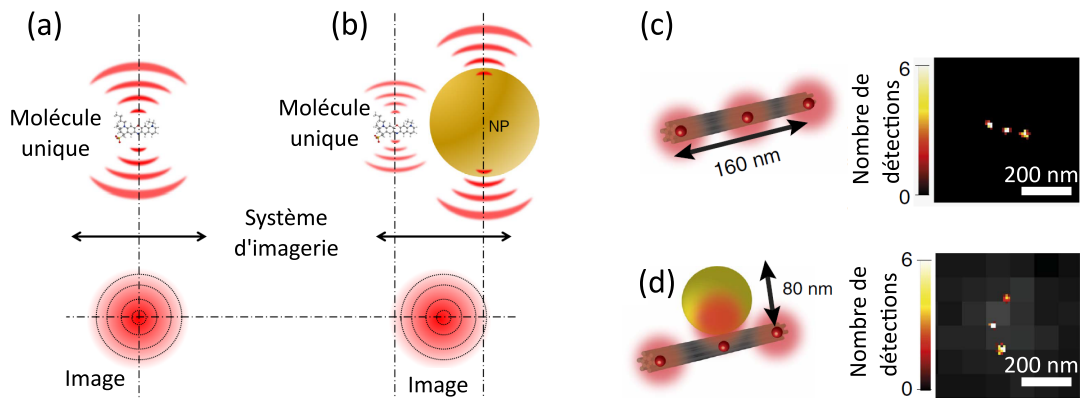


FIGURE 3.8 – (a) Représentation schématique de la PSF d’une molécule fluorescente à travers un système d’imagerie sans particule d’or (b) avec particule d’or). (c) Mesure de référence de trois sites fluorescents le long d’un bâtonnet d’ADN. (d) Même type de mesure, mais cette fois-ci avec l’ajout d’une nanoparticule d’or à proximité du site fluorescent central. Ces figures sont tirées de l’article de RAAB et collab. [2017]

ce phénomène. La première figure représente une vision schématique de l’image d’une molécule dans un milieu homogène à travers un système d’imagerie. Dans ces conditions, le centre de la PSF obtenue est aligné avec celui de la molécule. La seconde image représente la modification appliquée sur la PSF lorsqu’une nanoparticule d’or est positionnée au voisinage d’une molécule fluorescente. Cette fois-ci, le centre de la PSF n’est plus aligné avec la position de l’émetteur. L’effet résultant est donc une erreur de localisation de la molécule lorsqu’un ajustement gaussien est réalisé sur ce type de PSF.

Les travaux de RAAB et collab. [2017] ont mis en évidence de façon très élégante ce phénomène à proximité d’une nanoparticule d’or. Les auteurs ont utilisé un bâtonnet d’ADN de 160 nm de long, sur lequel trois sites d’amarrage sont accessibles à des molécules fluorescentes. Ces molécules sont fonctionnalisées avec un brin d’ADN qui leur permet de s’accrocher sur l’un des trois sites pendant un temps caractéristique de quelques dizaines de millisecondes avant d’être libérées de nouveau (cf schéma de la figure 3.8(c)). En effectuant un ajustement gaussien sur la PSF afin de localiser chaque molécule détectée, les auteurs obtiennent donc trois zones avec un fort taux de détections (cf figure 3.8(c) image de droite). Comme attendu, ces trois points sont alignés et espacés d’environ 50 nm. Une seconde expérience consiste à positionner au voisinage du site d’amarrage central une nanoparticule d’or de 80 nm de diamètre (schéma 3.8(d)), et de répéter la mesure. Cette fois-ci, le point central n’est plus aligné avec les deux autres sites (cf image de droite figure 3.8(d)). Les molécules fluorescentes venant se fixer sur le site central voient leur diagramme de rayonnement modifié par leur interaction avec la nanoparticule d’or. L’ajustement paramétrique d’une gaussienne sur ce type de PSF entraîne donc une erreur sur l’estimation de la position de la molécule. La position apparente

du site central ne correspond donc plus à la localisation exacte de l'émetteur.

3.3.2 Étude sur les nanofils d'argent : aperçu de état de l'art

De part la nature plasmonique des nanofils d'argent, le phénomène de mirage plasmonique peut avoir lieu. Certaines études ont mis en avant ce comportement.

ROPP et collab. [2015] ont étudié l'effet de mirage plasmonique au voisinage d'un nanofil d'argent en utilisant une boîte quantique comme sonde fluorescente. Le principe de l'expérience est le même que [ROPP et collab., 2013], décrit dans la partie 1.4.4. La position de l'émetteur à l'intérieur d'une chambre microfluidique est contrôlée en ajustant finement le flux de liquide. Grâce à cette technique, l'émetteur peut être déplacé au voisinage d'un nanofil d'argent, et la PSF de ce dernier est mesurée pour différents points. Les auteurs ont pu mettre en évidence que la position apparente de l'émetteur n'est pas la même selon la polarisation sélectionnée sur la fluorescence. De plus, connaissant la position de l'émetteur à priori, les auteurs ont pu quantifier cet effet en fonction de la distance réelle au nanofil.

Les études menées par SU et collab. [2015] et BAIYASI et collab. [2019] ont mis en évidence l'influence, sur la forme de la PSF, de la direction du moment dipolaire d'une molécule fluorescente au voisinage d'un nanofil d'argent. Pour cela, les auteurs ont utilisé un échantillon similaire au notre (cf partie 3.1) à la différence près que seul le nanofil est fonctionnalisé par des molécules. L'excitation des molécules se fait via un plasmon de surface excité en focalisant un faisceau laser sur l'une des extrémités du nanofil. Cette méthode d'illumination permet de sélectionner seulement les molécules photo-activables accrochées au nanofil en diminuant drastiquement le signal de fond provenant des éventuelles molécules en solution. Le rapport signal sur bruit des PSF mesurées est donc accru. De plus, la taille d'un pixel de leur détecteur rapportée à l'échantillon est de $48 \times 48 \text{ nm}^2$. Ceci permet d'obtenir une très bonne résolution sur la forme des PSF. En comparant leur résultats expérimentaux à des simulations FDTD, les auteurs ont pu identifier différentes formes de PSF en fonction de la position et de l'orientation des molécules fixées sur le nanofil. La déformation de la PSF en fonction de l'orientation de la molécule induit un déplacement de la position apparente par rapport à la position réelle de la molécule. A partir de ces résultats, les auteurs ont démontré que le moment dipolaire de l'émetteur est orienté selon une direction privilégiée et que, des éventuels mouvements rotatoires, ne sont pas décelables sur les échelles de temps des expériences. Dans le cas contraire, il serait impossible de distinguer ces différentes formes de PSF. Comme la méthode de fonctionnalisation des molécules que nous utilisons est très proche de celle présentée dans cette étude, nous supposons dans notre analyse que les molécules sont orientées selon une direction privilégiée.

Il résulte des expériences présentées dans cette section que, même sur un système aussi simple qu'un fil d'argent, localiser correctement une molécule lorsqu'elle interagit avec une structure plasmonique peut être ardu sur la simple base de l'étude de la PSF. Dans la suite

de ce chapitre nous allons voir que, grâce à une classification des données basée sur le taux de désexcitation et la taille de la PSF, nous allons pouvoir associer à chaque évènement une orientation précise du moment dipolaire ainsi que sa position réelle.

3.3.3 Position apparente obtenue avec un ajustement gaussien 2D

Pour interpréter nos résultats expérimentaux, nous avons réalisé des simulations FDTD dans lesquelles la position apparente des molécules est obtenue par un ajustement gaussien sur la PSF, tout comme pour les données expérimentales.

Les simulations présentées dans la suite ont été réalisées au cours de cette thèse avec le logiciel de calcul FDTD Lumerical. Les simulations consistent à estimer la position apparente d'un dipôle pour différentes orientations et positions connues de l'émetteur au voisinage d'un nanofil d'argent de forme cylindrique. Le système simulé est représenté sur le schéma 3.9(a). Le nanofil d'argent est modélisé par un cylindre de 115 nm de diamètre dont les deux extrémités se terminent dans les PML (perfect matching layer). Le cylindre repose sur une surface de verre représentant le substrat. Il est également entouré par un second diélectrique d'indice 1.33 modélisant la solution tampon. Les positions réelles des dipôles simulés sont représentées sur la figure 3.9(b) par des points noirs. Chaque simulation est réalisée pour une orientation de dipôle donnée, à une position donnée. Les différentes orientations sont représentées sur les figures 3.9(c,e,g).

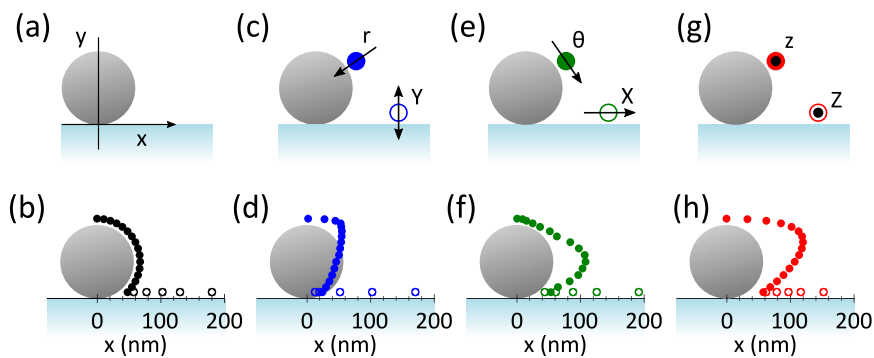


FIGURE 3.9 – (a) Schémas des simulations FDTD. Le nanofil d'argent, représenté en gris est déposé sur un substrat de verre (en bleu). Un milieu diélectrique d'indice optique $n = 1.33$ au dessus du substrat modélise la solution tampon. (b) Représentation de la position réelle des émetteurs (points noirs) autour du nanofil d'argent, et sur le substrat. (c,e,g) Représentation des différentes orientations de dipôle simulés. (d,f,h) Résultats de simulation de la position apparente pour les différentes orientations de dipôle. Les positions apparentes sont obtenues par un ajustement gaussien pour une longueur d'onde d'émission de 670 nm.

Pour chacune des simulations réalisées, le champ proche est enregistré sur un plan (que nous appellerons dans la suite "moniteur") placé dans le substrat de verre à une distance de

250 nm de l'interface verre/solution tampon. Le champ proche est ensuite propagé en champ lointain par un outil fourni par Lumerical. Cet outil de propagation permet de prendre en compte l'ouverture numérique du système d'imagerie à travers lequel est propagé le champ proche, dans notre cas $NA = 1.49$. Ces simulations nous permettent alors d'obtenir la distribution en intensité en champ lointain pour différentes orientations et positions des dipôles sur l'échantillon. Ces distributions sont ensuite ajustées paramétriquement par une gaussienne symétrique. Les coordonnées du centre de la gaussienne nous donnent alors la position apparente de l'émetteur pour ce type d'ajustement.

Les figures 3.9(d,f,h) représentent les positions apparentes obtenues par simulation pour les différentes orientations des dipôles autour du nanofil d'argent. Deux comportements distincts apparaissent clairement. Premièrement, les dipôles orientés radialement par rapport à l'axe du nanofil (figure 3.9(d)) voient leur position apparente légèrement décalée vers le centre du nanofil. L'erreur de localisation induite sur ce type de dipôles est inférieure à 25 nm. Deuxièmement, les dipôles orientés tangentiellement à la surface du nanofil (figure 3.9(f)) et parallèlement avec l'axe du nanofil (figure 3.9(h)), présentent un décalage de leur position apparente par rapport à leur position réelle d'environ 60 nm vers l'extérieur. Notons que les dipôles disposés sur la surface de verre voient leur position faiblement modifiée par la présence du nanofil d'argent.

Ce décalage entre la position réelle et apparente peut s'expliquer en terme d'interférence entre un dipôle source et son image induite au sein du nanofil d'argent [ROPP et collab., 2015]. Un dipôle radialement orienté par rapport au nanofil va induire un dipôle image en phase avec le dipôle réel. Le centre de la PSF résultante est légèrement déplacée vers le centre du nanofil. A contrario, lorsque le dipôle est orienté parallèlement à la surface du nanofil, le dipôle induit va être en opposition de phase par rapport au dipôle source. Le centre de la PSF résultante sera déplacé vers l'extérieur du nanofil.

3.4 Classification des molécules au voisinage du nanofil d'argent

Au vue des résultats des simulations numériques, les limitations de notre méthode expérimentale apparaissent clairement. Non seulement une erreur sur la localisation des molécules est induite par leur interaction avec le nanofil, mais en plus, à cause de l'effet de projection des événements selon l'axe Y, des molécules qui sont physiquement accrochées au nanofil d'argent apparaissent sur le verre. Par conséquent, nous allons détecter au même endroit des événements correspondant à des molécules sur le nanofil et sur le verre. Ceci est tout particulièrement vrai pour les molécules dont le moment dipolaire est orienté tangentiellement à la surface du nanofil ($\vec{\mu} = \mu_\theta$, cf figure 3.9(e,f)) et parallèlement à son axe ($\vec{\mu} = \mu_z$, cf figure 3.9(g,h)).

Dans la suite de ce chapitre nous allons étudier les données expérimentales en détail et, en les comparant aux simulations FDTD, nous allons classifier les molécules fluorescentes

détectées en fonction de leur orientation et de leur position à proximité du nanofil d'argent. Cette méthode de classification combine les informations obtenues sur le taux d'émission spontanée, ainsi que sur la taille de la PSF, pour les événements détectés à la fois par l'EMCCD et l'un des huit SPADs. Dans un premier temps, nous étudierons la distribution du champ autour du nanofil d'argent pour déterminer quelle orientation du moment dipolaire peut être effectivement excitée et détectée par notre expérience. Puis nous séparerons les différentes contributions en fonction du taux d'émission. Enfin, nous combinerons les données du taux d'émission spontanée avec celles sur la taille de la PSF. Nous pourrions alors distinguer les molécules accrochées autour du nanofil d'argent de celle fixées sur le substrat de verre et attribuer à chaque classe de molécules sa position réelle autour du nanofil.

3.4.1 Distribution du champ exciteur

La figure 3.10 présente la distribution du champ exciteur autour du nanofil d'argent pour les deux polarisations d'illumination accessibles par notre expérience. Les simulations ont été faites en coordonnées cylindriques, ayant pour origine le centre du nanofil. Comme pour les cartes de champ en coordonnées cartésiennes (figure 3.4(a,b)), ces simulations FDTD sont obtenues en utilisant une source de type TFSF (*Total-Field Scattered-Field sources*) fournie par le logiciel Lumerical.

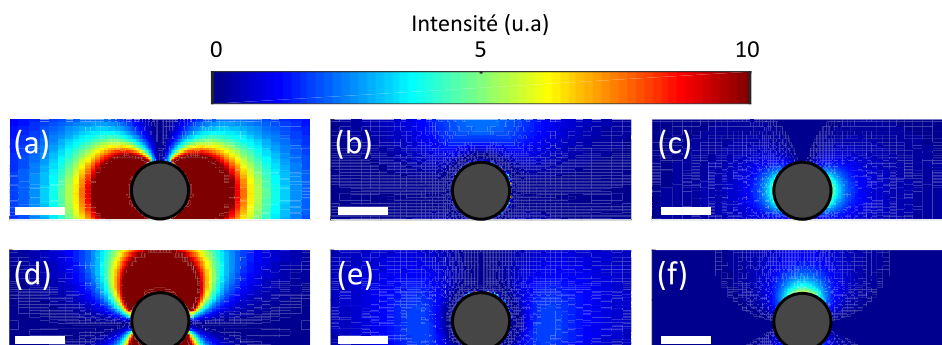


FIGURE 3.10 – Distribution de l'intensité d'excitation autour d'un nanofil d'argent de 115 nm de diamètre illuminé en TIRF en coordonnées cylindriques ayant pour origine le centre du nanofil. (a,b,c) représentent respectivement l'intensité pour une polarisation radiale, tangentielle, coaxiale pour un TIRF selon l'axe X, et (d,e,f) pour un TIRF selon Y. La longueur d'onde d'excitation est de 642 nm.

Les cartes 3.10(a,b,c) sont obtenues pour une illumination TIRF polarisée selon l'axe X et décrivent respectivement la distribution du champ selon r , θ , et z . Les cartes 3.10(d,e,f) représentent la distribution de champ pour les mêmes orientations, mais pour une polarisation d'excitation du nanofil selon l'axe Y. Comme nous l'avons déjà vu dans la partie 3.2.1, la distribution spatiale du champ autour du nanofil est conditionnée par la polarisation de l'illumination TIRF. Cette représentation en coordonnées cylindriques montre que la quasi totalité

du champ est distribuée radialement et coaxialement et ce pour les deux polarisations d'excitation. La composante tangentielle du champ exciteur (cartes 3.10(b,e)) est négligeable devant les deux autres.

Cette distribution typique du champ autour du nanofil s'explique par les SPPs supportés par ce type de structure [WEI et XU, 2012]. Dans la partie 1.3.1, nous avons vu qu'un SSP se propageant dans un plan à l'interface entre un métal et un diélectrique possède deux composantes de champ orientées selon deux directions perpendiculaires l'une à l'autre. L'une est orientée selon la direction de propagation, et la seconde est perpendiculaire à l'interface métal/diélectrique. Pour un nanofil d'argent, la propagation du SPP se fait selon l'axe du nanofil (axe z). La polarisation du SPP se décompose donc selon l'axe z , et l'axe r normale à l'interface métal/diélectrique, et ne possède pas de composante de champ selon l'axe θ .

La probabilité d'exciter une molécule fluorescente est maximum si son moment dipolaire est aligné avec la polarisation du champ exciteur. Sous les conditions d'excitation accessibles via une illumination TIRF, et d'après les résultats de simulation de la figure 3.10, les molécules dont les moments dipolaires sont orientés selon r ou z ont de plus grandes chances d'être excitées. En revanche, les molécules orientées tangentiellement au nanofil d'argent ont très peu de chance d'être excitées par rapport aux autres orientations. C'est pourquoi dans la suite de l'analyse nous ne tiendrons pas compte des molécules tangentiellement orientées autour du nanofil, car la probabilité de les exciter, et donc de les détecter en champ lointain, est très faible par rapport aux deux autres orientations.

3.4.2 Sélection des molécules en fonction de la valeur du taux d'émission spontanée

En s'appuyant sur l'analyse précédente, seules les molécules orientées coaxialement, et radialement au nanofil d'argent, ainsi que les molécules fixées sur le substrat, peuvent être excitées par une illumination de type TIRF. Ces orientations caractéristiques sont représentées sur les deux schémas 3.11(a,b).

Les simulations FDTD que nous venons de décrire, nous permettent d'extraire également l'exaltation de la LDOS. Comme décrit par l'équation 1.13, l'exaltation de la LDOS est directement proportionnelle à la puissance cédée par le dipôle à l'environnement par rapport à celle où le dipôle est dans un milieu homogène de référence. C'est pourquoi, pour chaque simulation, la puissance totale émise par le dipôle traversant la surface d'un moniteur cubique qui l'entoure est enregistrée. L'exaltation de la LDOS s'exprime alors comme $\frac{\rho}{\rho_m} = \frac{P}{P_m}$, avec P la puissance totale cédée par le dipôle et P_m la puissance émise par le dipôle dans un milieu homogène.

L'exaltation de la LDOS simulée est présentée sur la figure 3.11(c). Les cercles pleins représentent les dipôles disposés autour du nanofil. Les dipôles fixés sur le substrat de verre sont modélisés par les courbes de différentes couleurs codant l'orientation de ces derniers.

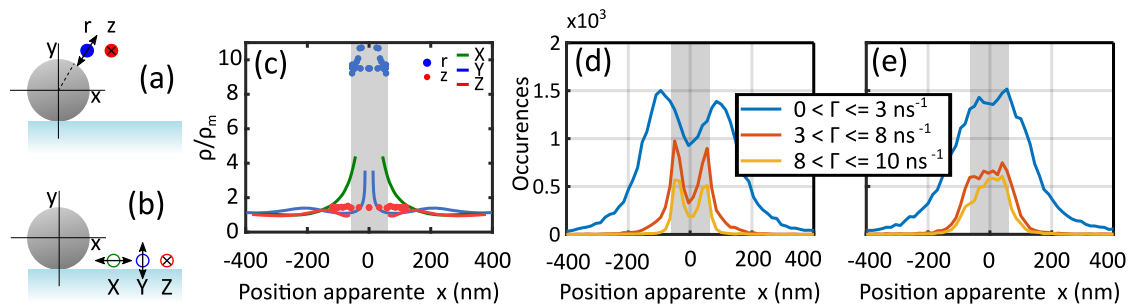


FIGURE 3.11 – (a,b) Orientation des molécules pouvant être détectées par une illumination de type TIRE (c) Simulation de l'exaltation de la LDOS des molécules. Le code couleur est le même que pour les figures (a) et (b). (d) Distributions des détections pour une polarisation d'excitation orientée selon l'axe X (e) selon Y pour différentes valeurs du taux d'émission spontanée Γ . La courbe bleue représente la distribution des évènements tel que $0 < \Gamma \leq 8 \text{ ns}^{-1}$, la rouge pour $3 < \Gamma \leq 8 \text{ ns}^{-1}$, et $8 < \Gamma \leq 10 \text{ ns}^{-1}$ pour la courbe jaune.

L'exaltation de la LDOS est représentée en fonction de la position apparente des dipôles en champ lointain. Deux populations distinctes apparaissent clairement sur ces simulations. La première regroupe les évènements avec une faible exaltation de LDOS, à savoir les dipôles fixés sur le substrat de verre, ainsi que ceux accrochés au nanofil et orientés parallèlement à son axe. La seconde population, constituée uniquement des dipôles radialement orientés par rapport au le nanofil, est caractérisée par une très forte exaltation de la LDOS. Il ressort de ces simulations qu'il est possible d'isoler les évènements correspondants aux dipôles accrochés au nanofil et orientés radialement par rapport à ce dernier. D'un point de vue expérimental, ceci consiste à ne garder que les évènements qui présentent une valeur élevée du taux d'émission spontanée.

Distribution des évènements à fort taux d'émission spontanée

Nous avons remarqué dans la partie 3.2.3 que les distributions des molécules avec $8 < \Gamma \leq 10 \text{ ns}^{-1}$ affichent un comportement contre intuitif pour les deux polarisations d'excitations (cf figure 3.7(c)). En effet, il est apparu que la distribution obtenue sous une polarisation d'excitation orientée selon Y est plus large qu'avec l'autre, alors que par effet de projection nous nous attendons à l'exact opposé.

Les simulations précédentes nous ont montré qu'en sélectionnant les évènements présentant un fort taux d'émission spontanée, nous sélectionnons uniquement les molécules radialement orientées par rapport au nanofil. Pour ces orientations, il apparaît que les positions apparentes des molécules situées sur les côtés du nanofil sont légèrement déplacées vers le centre du nanofil par rapport à leur position réelle (figure 3.9(d) cercles bleus pleins). Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.1, une excitation polarisée selon X permet d'exciter de manière privilégiée les molécules sur les côtés du nanofil (courbe jaune de la figure 3.11 (d))

caractérisées par une position apparente à l'intérieur du nanofil. Au contraire, une excitation polarisée selon Y excitera davantage les molécules situées sur le sommet du nanofil, qui ont une position apparente décalée vers l'extérieur du nanofil. C'est pourquoi la distribution des molécules avec un taux d'émission spontanée $\Gamma > 8 \text{ ns}^{-1}$ (courbe jaune de la figure 3.11(e)), obtenue grâce à un champ exciteur polarisé selon l'axe Y, est plus large que celle obtenue sous une polarisation orientée selon X.

Les courbes oranges des figures 3.11(d,e) représentent les distributions des événements avec des taux d'émission spontanée compris entre $3 < \Gamma \leq 8 \text{ ns}^{-1}$ pour une illumination polarisée selon X et Y respectivement. Ces détections sont principalement constituées de molécules pouvant présenter un moment dipolaire intermédiaire entre une orientation radiale et parallèle par rapport au nanofil d'argent. Nos simulations étant réalisées pour deux types d'orientations caractéristiques, ces événements ne seront pas pris en compte dans la suite de notre analyse.

Distribution des événements à faible taux d'émission spontanée

D'après la figure 3.11(c), les dipôles avec une faible exaltation de LDOS sont soit ceux accrochés sur le substrat de verre, ou bien ceux fixés autour du nanofil et coaxialement orientés avec celui-ci. Les distributions obtenues expérimentalement associées à ces types d'événements sont représentées sur les figures 3.11(d,e) par les courbes bleues pour une polarisation du champ exciteur selon X et Y respectivement. Il est impossible de distinguer les dipôles fixés sur la surface de verre de ceux accrochés au nanofil coaxialement orientés en se basant uniquement sur la valeur de la LDOS. En effet, l'effet de mirage plasmonique, propre aux dipôles coaxialement orientés avec le nanofil (cercles pleins rouges sur la figure 3.9(h)), décale la position apparente des émetteurs jusqu'à 60 nm de leur position réelle vers l'extérieur du nanofil. La position apparente des dipôles fixés sur le substrat est quant à elle faiblement décalée par rapport à leur position réelle. La projection des données dans le plan de l'échantillon mélange donc ces deux types d'événements. Nous allons dans la suite proposer une méthode basée sur la taille des PSF des molécules détectées pour différencier ces deux contributions.

3.4.3 Classification des molécules en fonction de la taille de la PSF

Une fois la sélection faite sur l'orientation du moment dipolaire, il est possible, en étudiant la taille de la PSF, de remonter à la position réelle des molécules sur le nanofil et sur le substrat de verre qui ont la même position apparente. Nous avons appliqué cette méthode de classification sur les données obtenues avec les deux directions de polarisation du champ exciteur et pour les deux directions du moment dipolaire. Pour les distinguer, nous nous sommes intéressés à la taille de la PSF de ces différentes molécules. La taille de la PSF est définie par la déviation standard de la gaussienne σ_{PSF} utilisée pour l'ajustement. Cette même définition est appliquée à la fois aux données expérimentales et aux simulations.

Molécules orientées radialement

Les simulations des variations de la PSF en fonction de la position apparente pour des émetteurs orientés radialement par rapport au nanofil sont représentées dans la figure 3.12(a). Ces simulations montrent que σ_{PSF} dépend de la position de l'émetteur autour du nanofil et varie entre 125 nm et 200 nm. Elle est maximum lorsque les émetteurs sont positionnés au sommet du nanofil, et diminue plus les émetteurs sont proches de l'interface verre/solution tampon.

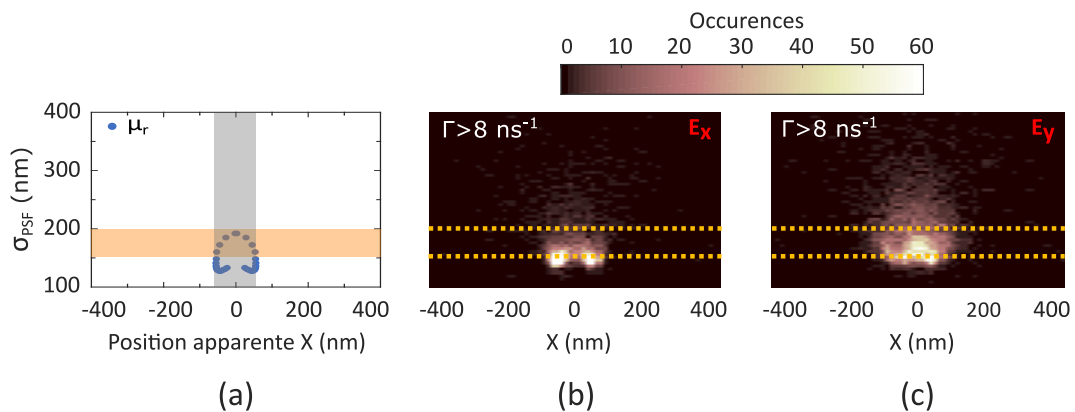


FIGURE 3.12 – (a) Simulation FDTD de σ_{PSF} en fonction de la position apparente pour des dipôles orientés radialement par rapport au nanofil d'argent. La bande grisée représente la position du nanofil d'argent, et la bande de couleur sert de repère pour comparer les simulations aux données expérimentales. (b,c) Taille de la PSF en fonction de la distance au centre du nanofil pour des détections avec un taux d'émission spontanée $\Gamma > 8 \text{ ns}^{-1}$ et une illumination TIRF polarisée selon X (b) et selon Y (c).

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que sélectionner les molécules avec un fort taux d'émission spontanée revient à sélectionner uniquement les molécules orientées principalement radialement avec le nanofil. En sélectionnant cette catégorie de molécules ($\Gamma > 8 \text{ ns}^{-1}$) nous pouvons donc comparer les données expérimentales aux simulations représentées sur la figure 3.12(a). Les figures 3.12(b) et (c) sont les résultats expérimentaux des variations de la PSF en fonction de la position pour cette catégorie d'évènements avec une illumination TIRF polarisée selon X et Y respectivement. Comme seules les molécules avec un fort taux d'émission spontanée sont sélectionnées, la totalité des détections sont localisées au voisinage du nanofil d'argent (cf partie 3.4.2). Nous avons vu qu'une illumination polarisée selon l'axe X donne accès principalement aux molécules localisées sur les côtés du nanofil. Les PSF propres à ces molécules, comme le montre la figure 3.12(b), ont des valeurs de σ_{PSF} aux alentours de 150 nm en très bon accord avec les prévisions des simulations (figure 3.12(a)). Il en va de même lorsque l'on s'intéresse aux données obtenues avec la seconde polarisation d'excitation (figure 3.12(c)). Les molécules alors détectées sont principalement sur le sommet du nanofil et présentent une PSF plus large que celles situées sur les côtés.

Molécules orientées coaxialement

Comme précédemment, la figure 3.13(a) représente l'évolution de σ_{PSF} en fonction de la position apparente obtenue grâce aux simulations FDTD. Sur cette figure, seuls les dipôles coaxialement orientés autour du nanofil et les dipôles sur le substrat sont représentés. Ceci revient expérimentalement à sélectionner les événements présentant un faible taux d'émission spontanée. Ces simulations mettent en évidence que les molécules situées sur le substrat de verre voient leur PSF faiblement modifiée par la présence du nanofil. Notons toutefois que les dipôles orientés perpendiculairement au substrat ont une PSF plus large que ceux orientés dans le plan de l'échantillon. Les dipôles alignés selon l'axe du nanofil, et fixés sur son pourtour, présentent une distribution de PSF singulière (cercles rouges pleins de la figure 3.13(a)) en forme de couronne. Pour ce type d'orientation, la largeur de la PSF est directement reliée à la position du dipôle sur le nanofil. Pour des dipôles situés sur le nanofil, à proximité de l'interface verre/solution tampon, la PSF présente une taille proche de celle des dipôles sur le substrat. En revanche, plus le dipôle va être proche du sommet du nanofil, plus la taille de la PSF va être importante.

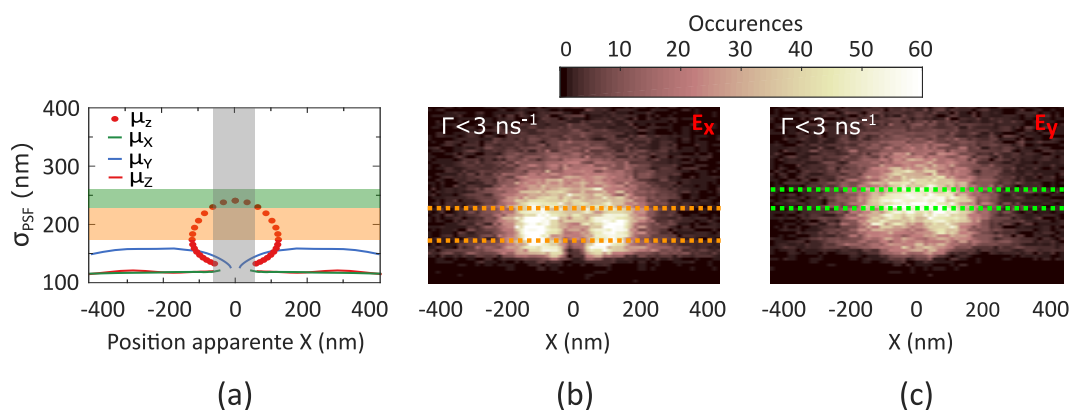


FIGURE 3.13 – (a) Simulation FDTD de la taille de la PSF en fonction de la position apparente pour différentes orientations du moment dipolaire. La bande grise transparente représente la position du nanofil d'argent et les deux bandes de couleur servent de repère pour comparer les simulations aux données expérimentales. (b) Projection de la taille de la PSF en fonction de la distance au centre du nanofil pour des détections avec un taux d'émission spontanée $\Gamma < 3 \text{ ns}^{-1}$, et une illumination TIRF polarisée selon X ((c) selon Y).

Les figures 3.13(b,c) représentent la taille des PSF mesurées expérimentalement en fonction de la distance au nanofil. Ces données sont obtenues avec une illumination TIRF polarisée selon l'axe X et Y respectivement. Sur ces graphiques, seuls les événements présentant un faible taux d'émission spontanée sont représentés ($\Gamma < 3 \text{ ns}^{-1}$). A partir de ces représentations, les molécules proches de l'interface verre/solution tampon peuvent être clairement identifiées. En effet, pour des distances au centre du nanofil $|X| < 200 \text{ nm}$, la distribution des PSF est principalement centrée autour de 150 nm et varie peu avec la distance, comme an-

noncé par les simulations. En sélectionnant donc les événements avec un faible taux d'émission spontanée et présentant une taille de PSF inférieure à 175 nm, nous nous assurons de garder principalement des molécules localisées à proximité du substrat de verre.

Sur la figure 3.13(b), la distribution en forme de couronne prédite par les simulations apparaît nettement. Les molécules suivant cette distribution caractéristique ont donc leur moment dipolaire principalement orienté parallèlement à l'axe du nanofil d'argent. Sélectionner des valeurs de $\sigma_{\text{PSF}} > 175$ nm, pour des molécules dont le taux d'émission est faible ($\Gamma < 3 \text{ ns}^{-1}$), revient donc à identifier les molécules accrochées sur les côtés et au sommet du nanofil d'argent. Sous ce type d'illumination, nous avons vu que la probabilité d'exciter et donc de détecter des molécules fluorescentes situées sur les côtés du nanofil est plus importante. C'est pourquoi nous observons un plus faible nombre de détections sur le sommet de la distribution et deux lobes dans lesquels la majorité des détections sont contenues. En revanche, lorsque le nanofil est illuminé avec une polarisation orientée selon l'axe Y (figure 3.13(c)), les deux lobes de forte densité de détection disparaissent pour laisser place à un lobe unique, centré sur la position du nanofil et présentant des valeurs de PSF plus élevées. Sous ce type d'illumination, les molécules situées sur le sommet du nanofil sont excitées de manière privilégiée, c'est donc pourquoi les valeurs des PSF sont plus importantes.

En combinant les résultats obtenus avec les deux polarisations d'excitation, il est possible de reconstruire l'ensemble de la distribution de la taille de la PSF correspondant à des émetteurs dont le moment dipolaire est principalement orienté parallèlement à l'axe du nanofil. La forme de cette distribution est en très bon accord avec les prévisions obtenues par simulation numérique FDTD. Néanmoins, une forte dispersion des valeurs expérimentales est visible par rapport aux simulations. Les simulations sont obtenues pour une orientation de dipôle fixe alignée selon l'axe du nanofil. Or, en réalité, les molécules détectées peuvent avoir des orientations légèrement désaxées par rapport au nanofil. De plus, la mesure de la PSF est sensible au rapport signal sur bruit qui diffère d'une détection à l'autre. Ces deux effets contribuent à la dispersion des résultats autour de la distribution prédite par les simulations.

3.4.4 Repositionnement des différentes classes de molécules

En appliquant un fenêtrage plus fin sur les valeurs de σ_{PSF} il est possible de classer les molécules en fonction de leur position et de leur hauteur sur le nanofil d'argent. Prenons le cas des molécules dont le moment dipolaire est principalement orienté parallèlement à l'axe du nanofil ($\Gamma < 3 \text{ ns}^{-1}$). Si l'on sélectionne des molécules présentant des valeurs de σ_{PSF} compris entre 175 nm et 225 nm alors, d'après nos simulations, seules les molécules localisées sur les côtés du nanofil sont sélectionnées. Cette catégorie de molécules est représentée par le bandeau orangé sur le graphique 3.13(a), ainsi que la zone encadrée par les pointillés oranges sur les données expérimentales de la figure 3.13(b). La position apparente mesurée pour cette classe de molécules est au voisinage de $|X| \approx 115$ nm. En comparant ces données experimen-

tales aux simulations, nous pouvons retrouver la position réelle de cet ensemble de molécules. Elles sont situées en réalité autour de $50 \leq |X| \leq 70$ nm du centre du nanofil. Il est également possible de sélectionner les molécules fluorescentes situées près du sommet du nanofil. Pour cela, il faut considérer les molécules possédant des valeurs de PSF comprises entre 225 nm et 275 nm représentées par le bandeau vert sur la figure 3.13(a) et par la zone encadrée par les pointillés verts sur les données expérimentales de la figure 3.13(c). Comme attendu, ces événements sont localisés au dessus du nanofil et présentent des valeurs de σ_{PSF} élevées. Même si l'effet de mirage plasmonique est bien moins important, le même type de raisonnement peut être appliqué aux molécules radialement orientées ($\Gamma > 8 \text{ ns}^{-1}$) sur le nanofil.

Cette technique de classification permet donc non seulement de différencier les molécules à proximité de l'interface verre/solution de celles fixées sur le nanofil d'argent, mais aussi d'identifier à quelle hauteur sont fixées les molécules sur le nanofil et ce pour des molécules présentant des moments dipolaires principalement orientés radialement et parallèlement par rapport à l'axe du nanofil d'argent. Les émetteurs fluorescents fixés sur le nanofil d'argent, notamment ceux avec un moment dipolaire principalement parallèle au nanofil, voient leur position apparente différer fortement de leur position réelle à cause de la présence de ce dernier. Cette méthode de classification laisse entrevoir la possibilité de relocaliser chaque événement détecté à sa juste position comme le schématisent les figures 3.14(a,b). En effet, en s'appuyant sur des simulations, il est envisageable d'appliquer cette technique de classification à l'échelle de la molécule unique pour les relocaliser de manière individuelle. Cependant, cela demande de fournir un effort expérimental supplémentaire en améliorant notamment le rapport signal sur bruit des détections, ainsi que la résolution de leur PSF.

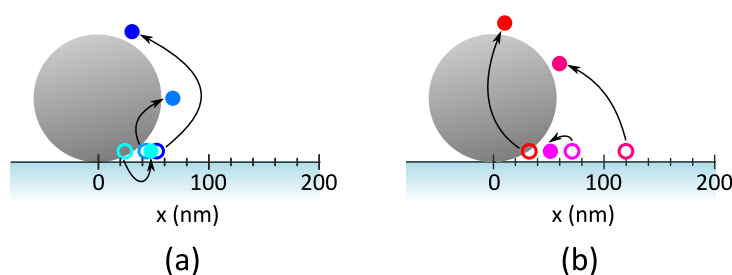


FIGURE 3.14 – Schéma associant la position réelle d'une molécule à sa position mesurée pour des molécules orientées (a) radialement et (b) parallèlement au nanofil d'argent. Les cercles pleins correspondent à la position réelle des émetteurs, et les cercles creux à leur position apparente.

3.5 Étude d'un échantillon de nanotriangles d'or

Pour démontrer la versatilité de notre technique expérimentale, nous l'avons appliquée à un autre type d'échantillon plasmonique composé de nanotriangles d'or dispersés sur un sub-

strat d'oxyde d'indium-étain (ITO). Ces nanotriangles sont obtenus par croissance chimique et nous sont fournis par Sylvie Marguet du CEA de Saclay. Leur taille typique est d'environ une centaine de nanomètres. La présence, sur la lamelle de verre, d'une couche d'ITO, un matériel conducteur et optiquement transparent, permet de faire aisément des images MEB des nanotriangles. L'image MEB d'un dépôt de ces structures sur leur substrat d'ITO est représentée sur la figure 3.15(a). On peut remarquer que la technique utilisée par Sylvie Marguet pour le dépôt des nanotriangles d'or permet d'obtenir une densité importante des structures sans l'apparition d'amas.

La technique de fonctionnalisation de l'échantillon par des molécules fluorescentes est très proche de celle présentée dans la partie 3.1. La seule différence réside dans le fait que, comme la BSA ne peut pas se fixer sur les surfaces d'or, nous injectons, en même temps que la BSA, du BIO-PEG qui peut se fixer à la surface de l'or. Les molécules fluorescentes utilisées (Alexa 647) peuvent ensuite s'accrocher aux molécules de BIO-PEG.

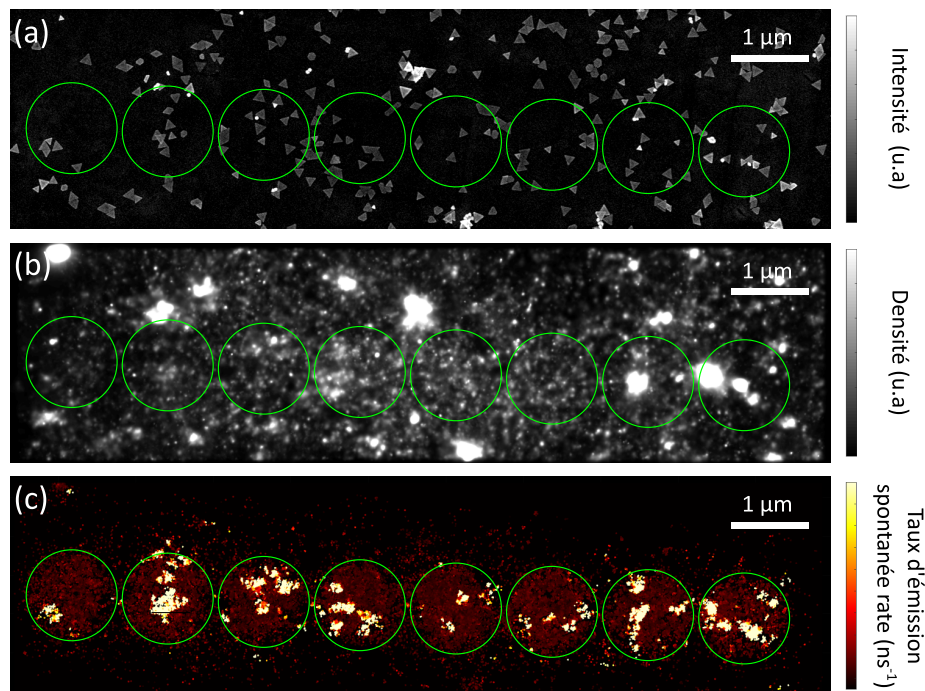


FIGURE 3.15 – (a) Image MEB de la zone de l'échantillon de nanotriangles d'or. (b) Carte de densité de détection correspondante à la zone imagée en figure 3.15(a). (c) Carte du taux d'émission spontanée correspondante à la même zone. Les cercles verts représentent la position des SPADs.

La figure 3.15(b) montre la carte de densité obtenue sur la région de l'échantillon visualisée au préalable avec le MEB. Contrairement à l'image de densité obtenue sur le nanofil d'argent, il est impossible de distinguer clairement les structures plasmoniques sur les données de la caméra. En revanche, en comparant l'image 3.15(a) et 3.15(c), on se rend compte que les structures plasmoniques apparaissent nettement sur la carte du taux d'émission sponta-

née. Ce contraste important en LDOS s'explique d'une part par les pertes non radiatives engendrées par la nature métallique de ces structures, mais également par le couplage de type radiatif entre émetteurs fluorescents et nanotriangles. Dans le chapitre 5 nous analyserons plus en détail le couplage ayant lieu entre un dipôle et un nanotriangle d'or. Nous verrons que les nanotriangles d'or sont fortement résonnants aux longueurs d'ondes d'émission des molécules fluorescentes utilisées.

Malgré les performances de notre méthode expérimentale, il est difficile de distinguer la forme triangulaire de ces structures. Les nanotriangles d'or ont la propriété d'être des structures plasmoniques très résonnantes [CAMPOS et collab., 2017; TALEBI et collab., 2012]. Le diagramme de rayonnement des molécules à proximité d'un nanotriangle va donc être fortement modifié, ce qui a comme conséquence directe de déformer la PSF. Or, nous avons vu dans la partie 3.3.1, qu'une modification de la PSF entraîne une mesure de la position apparente légèrement décalée par rapport à la position réelle de la molécule. Les dimensions des nanotriangles étant du même ordre de grandeur que le déplacement induit par cette erreur de localisation, l'effet de mirage plasmonique ne permet pas de résoudre distinctement la forme triangulaire des structures. Une étude plus poussée faisant intervenir une modélisation des différentes formes de PSF attendues pour des dipôles couplés avec ce type de structure, selon leur position et orientation, permettrait potentiellement de résoudre ce problème.

3.6 Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons exposé les résultats expérimentaux obtenus avec l'expérience de microscopie super-résolue de durée de vie développée lors de cette thèse. L'échantillon utilisé est constitué de nanofils d'argent déposés sur un substrat de verre. La surface de l'échantillon est entièrement recouverte de molécules fluorescentes. Grâce à ce dispositif expérimental, nous pouvons extraire simultanément les cartes de densité de détections et du nombre de photons moyen au voisinage d'un nanofil. En combinant les données sur la position des émetteurs fluorescents obtenues par la caméra EMCCD avec celles mesurées par une matrice linéaire de huit SPADs, la carte du taux d'émission spontanée, sur un champ de vue d'environ $1.2 \times 10 \mu\text{m}^2$, a pu être reconstruite donnant ainsi accès aux propriétés électromagnétiques locales des émetteurs, ce qui ne pourrait être sondé avec des mesures restreintes à leur seule super-localisation.

En comparant les résultats expérimentaux avec des simulations FDTD, l'effet de mirage plasmonique au voisinage d'un nanofil a été mis en évidence. Cet effet, résultant du couplage d'un émetteur fluorescent avec une structure plasmonique, a pour conséquence de déformer la PSF de l'émetteur en question. Cette déformation induit un décalage de la position apparente (mesurée expérimentalement) de l'émetteur vis à vis de sa position réelle. Cependant, grâce à une sélection des données sur la base des valeurs du taux d'émission spontanée et de la PSF, nous avons pu déterminer différentes classes de molécules. Nous avons pu sé-

parer les molécules ayant un moment dipolaire radialement orienté sur le nanofil de celles coaxialement orientées. Il a notamment été possible de distinguer les molécules attachées à l'interface verre/solution tampon de celles fixées sur le nanofil d'argent. Enfin, toujours grâce à cette méthode de filtrage, en comparant les données expérimentales aux simulations numériques, il nous est possible d'associer à chaque classe de molécules non seulement sa position réelle sur l'axe X, mais aussi sur l'axe Z. En réalisant une étude plus fine de la PSF, notre méthode présente la perspective intéressante de pouvoir repositionner chaque molécule sur sa position réelle.

Une collaboration avec Sylvie Marguet du CEA de Paris Saclay nous a permis d'appliquer notre expérience à un échantillon de nanotriangles d'or. Ces structures apparaissent clairement sur la carte du taux d'émission spontanée alors qu'il est difficile de les distinguer via une mesure classique de densité. S'il est possible de faire ressortir la présence de ces structures via une mesure du taux d'émission, il s'est avéré impossible de résoudre leur forme triangulaire. Ceci s'explique par l'effet de mirage plasmonique qui vient perturber la forme de la PSF des émetteurs et donc induire un biais sur la localisation de ces derniers. Pour limiter cet effet, d'autres solutions possibles seront détaillées dans la conclusion à la fin du manuscrit.

3.7 Références

- BACKLUND, M. P., A. ARBABI, P. N. PETROV, E. ARBABI, S. SAURABH, A. FARAON et W. MOERNER. 2016, «Removing orientation-induced localization biases in single-molecule microscopy using a broadband metasurface mask», *Nature photonics*, vol. 10, n° 7, p. 459. [78](#)
- BAIYASI, R., S. A. H. JEBELI, Q. ZHANG, L. SU, J. HOFKENS, H. UJI-I, S. LINK et C. F. LANDES. 2019, «Psf distortion in dye-plasmonic nanomaterial interactions : Friend or foe?», *ACS Photonics*, vol. 6, n° 3, p. 699–708. [80](#)
- BLANQUER, G., B. VAN DAM, A. GULINATTI, G. ACCONCIA, M. Y. DE WILDE, I. IZEDDIN et V. KRACHMALNICOFF. 2020, «Relocating single-molecules in super-resolved fluorescence lifetime images near a plasmonic nanostructure», *ACS Photonics*. [68](#)
- CAMPOS, A., A. ARBOUET, J. MARTIN, D. GERARD, J. PROUST, J. PLAIN et M. KOCIAK. 2017, «Plasmonic breathing and edge modes in aluminum nanotriangles», *ACS photonics*, vol. 4, n° 5, p. 1257–1263. [92](#)
- ENDERLEIN, J., E. TOPRAK et P. R. SELVIN. 2006, «Polarization effect on position accuracy of fluorophore localization», *Optics express*, vol. 14, n° 18, p. 8111–8120. [78](#)
- FALK, A. L., F. H. KOPPENS, L. Y. CHUN, K. KANG, N. DE LEON SNAPP, A. V. AKIMOV, M.-H. JO, M. D. LUKIN et H. PARK. 2009, «Near-field electrical detection of optical plasmons and single-plasmon sources», *Nature Physics*, vol. 5, n° 7, p. 475. [76](#)

- LEW, M. D. et W. MOERNER. 2014, «Azimuthal polarization filtering for accurate, precise, and robust single-molecule localization microscopy», *Nano letters*, vol. 14, n° 11, p. 6407–6413. [78](#)
- VAN DE LINDE, S., A. LÖSCHBERGER, T. KLEIN, M. HEIDBREDER, S. WOLTER, M. HEILEMANN et M. SAUER. 2011, «Direct stochastic optical reconstruction microscopy with standard fluorescent probes», *Nature protocols*, vol. 6, n° 7, p. 991. [70](#)
- RAAB, M., C. VIETZ, F. D. STEFANI, G. P. ACUNA et P. TINNEFELD. 2017, «Shifting molecular localization by plasmonic coupling in a single-molecule mirage», *Nature communications*, vol. 8, p. 13 966. [78](#), [79](#)
- ROPP, C., Z. CUMMINS, S. NAH, J. T. FOURKAS, B. SHAPIRO et E. WAKS. 2013, «Nanoscale imaging and spontaneous emission control with a single nano-positioned quantum dot», *Nature Communications*, vol. 4, p. 1447. [80](#)
- ROPP, C., Z. CUMMINS, S. NAH, J. T. FOURKAS, B. SHAPIRO et E. WAKS. 2015, «Nanoscale probing of image-dipole interactions in a metallic nanostructure», *Nature communications*, vol. 6, p. 6558. [80](#), [82](#)
- SU, L., G. LU, B. KENENS, S. ROCHA, E. FRON, H. YUAN, C. CHEN, P. VAN DORPE, M. B. ROEFAERS, H. MIZUNO et collab.. 2015, «Visualization of molecular fluorescence point spread functions via remote excitation switching fluorescence microscopy», *Nature communications*, vol. 6, p. 6287. [74](#), [80](#)
- TALEBI, N., W. SIGLE, R. VOGELGESANG, C. T. KOCH, C. FERNÁNDEZ-LÓPEZ, L. M. LIZMARZÁN, B. OGUT, M. ROHM et P. A. VAN AKEN. 2012, «Breaking the mode degeneracy of surface plasmon resonances in a triangular system», *Langmuir*, vol. 28, n° 24, p. 8867–8873. [92](#)
- WEI, H. et H. XU. 2012, «Nanowire-based plasmonic waveguides and devices for integrated nanophotonic circuits», *Nanophotonics*, vol. 1, n° 2, p. 155–169. [76](#), [84](#)

Deuxième partie

Étude de nanofibres étirées et de guides d'ondes hybrides diélectrique et plasmonique

Chapitre 4

Mesure en champ proche au voisinage d'une nanofibre étirée

Sommaire

4.1 Intérêt des nanofibres en nanophotonique	98
4.1.1 Optique guidée	99
4.1.2 Mode de propagation HE_{11}	100
4.2 Aperçu des recherches menées avec les nanofibres	101
4.3 Étude de la distribution du champ autour de la nanofibre : motivation	102
4.4 Dispositif expérimental et méthode de mesures	103
4.4.1 Fabrication des nanofibres	103
4.4.2 Description du montage expérimental	103
4.4.3 Sonde fluorescente à balayage	105
4.4.4 Résultats préliminaires	106
4.5 Théorie de Mie : diffusion de la lumière par un cylindre diélectrique infini	107
4.5.1 Polarisation parallèle à l'axe de la fibre	107
4.5.2 Polarisation perpendiculaire à l'axe de la fibre	109
4.5.3 Distribution du champ diffusé	109
4.6 Discussions des résultats expérimentaux	110
4.6.1 Cartes de l'intensité du champ	111
4.6.2 Dérive expérimentale et distance de capture	113
4.7 Conclusion	115
4.8 Références	116

Dans cette partie du manuscrit nous nous intéresserons à l'interaction de la lumière avec des guides d'ondes diélectriques (chapitre 4) ou hybrides diélectriques/plasmoniques (chapitre 5). La motivation de ce travail sera donnée au début de chaque chapitre.

Ce chapitre est consacré à l'étude de l'interaction de la lumière avec une nanofibre, c'est-à-dire une fibre optique étirée jusqu'à un diamètre de l'ordre de quelques centaines de nanomètres. Grâce à un microscope à balayage à sonde fluorescente, nous avons pu sonder la distribution de champ autour d'une nanofibre en silice sous illumination transverse pour différents états de polarisation. Après une introduction sur les particularités physiques et le rôle des nanofibres en nanophotonique, la méthode de mesure sera présentée. Les résultats expérimentaux obtenus seront discutés, puis comparés et analysés à l'aide de calculs de diffusion de la lumière en géométrie cylindrique basés sur la théorie de Mie. Les travaux présentés dans la suite ont été menés en étroite collaboration avec l'équipe de Quentin Glorieux du LKB (Laboratoire Kastler Brossel). A travers ce partenariat nous avons pu bénéficier du savoir-faire technologique du LKB et de leurs ressources pour l'élaboration des échantillons de nanofibre. Toutes les mesures ainsi que les simulations ont en revanche été réalisées à l'Institut Langevin. La majorité des résultats présentés dans la suite sont repris dans [LOO et collab. \[2019\]](#) que nous avons récemment publié en collaboration avec le LKB.

4.1 Intérêt des nanofibres en nanophotonique

La nanophotonique est une branche de la physique spécialisée dans la compréhension et le contrôle de l'interaction rayonnement-matière à des échelles nanométriques. Pour manipuler la lumière à ces échelles, différents objets nano-structurés ont été développés comme par exemple les antennes plasmoniques ou les nanofibres. Un enjeu majeur de cette discipline est d'optimiser l'interaction de la lumière avec des sources fluorescentes, comme des molécules, des boîtes quantiques, ou encore des atomes. Lorsqu'un émetteur fluorescent est en espace libre, sa probabilité d'interagir avec un faisceau laser d'excitation est très faible. Pour optimiser la probabilité d'excitation de l'émetteur, une solution consiste à ajuster la dimension du faisceau exciteur à celle de la section efficace d'absorption de l'émetteur, par exemple en le focalisant [[WRIGGE et collab., 2008](#)]. La limite évidente de cette technique est celle de la diffraction. Pour passer outre cette limite, certaines propriétés remarquables des nanofibres peuvent être utilisées. L'extension du mode fondamental HE_{11} , ou bien l'effet de jet photonique [[CHEN et collab., 2004](#)], donnent accès à un confinement important du champ au voisinage de la nanofibre. Ce confinement de la lumière à proximité de la nanofibre permet d'optimiser le recouvrement spatial entre la section efficace d'absorption d'un émetteur et le mode d'illumination, et donc de maximiser la probabilité d'excitation d'un émetteur fluorescent placé au voisinage d'une nanofibre.

4.1.1 Optique guidée

Pour discuter du mode de propagation de la lumière au sein des nanofibres, il est important de rappeler quelques éléments d'optique guidée. Une fibre optique est composée d'un cœur, dans lequel la lumière se propage, et d'une gaine qui permet son confinement (schéma 4.1(a)). La différence d'indice entre le cœur d'indice n_c , et la gaine d'indice n_g est à l'origine du confinement de la lumière : pour qu'il y ait confinement il faut que $n_c > n_g$. Le diamètre du cœur, la longueur d'onde d'intérêt ainsi que la différence d'indice sont les paramètres clés définissant le nombre de modes guidés supportés par la fibre optique. La figure 4.1(b) résume cela en représentant la dispersion des modes guidés en fonction de la fréquence normalisée V et de la constante de propagation normalisée b définies comme [AGRAWAL, 2012] :

$$V = k_0 a (n_c^2 - n_g^2)^{1/2}, \quad (4.1)$$

$$b = \frac{\beta/k_0 - n_g}{n_c - n_g}, \quad (4.2)$$

avec $k_0 = 2\pi/\lambda$ le vecteur d'onde, a le rayon de cœur et β la constante de propagation inhérente à la résolution des équations de Maxwell dans ce type de géométrie. Deux régions distinctes apparaissent sur ce graphique. Pour des valeurs de $V > 2.4$ plusieurs modes peuvent coexister et la fibre optique est multimode. Lorsque $V < 2.4$, seul le mode HE_{11} peut être guidé et la fibre est monomode.

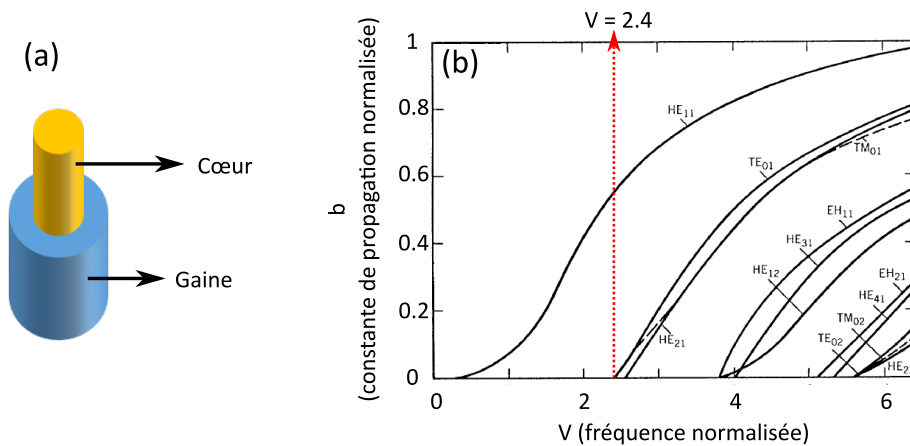


FIGURE 4.1 – (a) Schéma d'une fibre optique. (b) Courbe de dispersion en fonction de la fréquence normalisée et de la constante de propagation normalisée [AGRAWAL, 2012].

Le développement des fibres optiques à travers l'optique guidée a permis l'avènement des télécommunications [AUBRY et collab., 2019]. L'utilisation d'une fibre mono ou multimode dépend des performances recherchées. La fibre monomode permet la transmission de données

avec très peu de pertes et une faible altération du signal. Elle est le plus souvent utilisée pour les communications à longue et très longue distance (communications de type transcontinentale). La fibre multimode, moins coûteuse, est quant-à elle plus généralement déployée sur des réseaux privés où les distances de communication sont plus faibles.

4.1.2 Mode de propagation HE_{11}

L'ensemble des modes guidés supportés par une fibre optique présentent une extension spatiale dans la gaine. Une partie de la distribution du champ E décroît exponentiellement dans cette partie du guide. Pour une fibre monomode, avec un rayon de cœur inférieur à la demi-longueur d'onde du mode guidé, HE_{11} va présenter une extension relativement importante de la composante évanescente du champ à l'extérieur du cœur [TONG et collab., 2003],[TONG et collab., 2004] comme illustré sur la figure 4.2. Aux longueurs d'onde optiques, cela implique des diamètres de l'ordre de quelques centaines de nanomètres : on parle alors de nanofibre. La symétrie du mode HE_{11} autour du cœur de la nanofibre dépend de la polarisation. La figure 4.2 représente une distribution d'intensité pour une polarisation rectiligne. Dans le cas d'une polarisation circulaire, la distribution de champ présente une symétrie de révolution par rapport à l'axe de propagation Joss [2018].

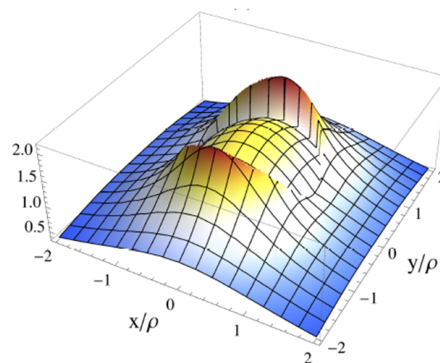


FIGURE 4.2 – Distribution de champ du mode fondamental HE_{11} supporté par une nanofibre (ρ rayon de la fibre).

Ce mode de propagation a la particularité de concentrer l'énergie lumineuse sur des distances de l'ordre de la centaine de nanomètres à l'extérieur de la nanofibre. Il est donc possible de positionner un émetteur fluorescent dans la partie évanescente du mode. Ce mode étant confiné, l'excitation de l'émetteur via la nanofibre sera plus efficace que sous une simple illumination avec un faisceau laser focalisé. Comme nous allons le voir dans la partie suivante, la délocalisation de HE_{11} à l'interface air-cœur présente également d'autres attraits couramment utilisés dans plusieurs domaines de recherche.

4.2 Aperçu des recherches menées avec les nanofibres

Plusieurs groupes utilisent les nanofibres dans le but de développer de nouvelles technologies, ou encore d'étudier des phénomènes physiques exotiques.

Les nanofibres se sont révélées des outils intéressants pour créer des pièges optiques dans le but de capturer des atomes froids ([NAYAK et HAKUTA, 2008],[CORZO et collab., 2016]). En effet, les atomes peuvent être confinés par le mode guidé HE_{11} [NIEDDU et collab., 2016] et excités par ce même mode, ou par un faisceau laser en illumination transverse à la nanofibre [MITSCH, 2014]. Les atomes piégés optiquement par le mode HE_{11} sont relativement bien isolés de leur environnement et peuvent être manipulés de manière cohérente. Cette technologie est prometteuse pour créer des mémoires quantiques à atomes froids.

Comme pour les atomes froids, les nanofibres peuvent être utilisées comme support de couplage pour capter la lumière de fluorescence provenant d'émetteurs quantiques [LIEBERMEISTER et collab., 2014; SCHELL et collab., 2017; SKOFF et collab., 2018; YALLA et collab., 2012b]. La lumière de fluorescence provenant d'un émetteur va se coupler à la nanofibre via le mode HE_{11} et va ensuite être guidée jusqu'à l'extrémité de la fibre où elle va pouvoir être détectée. La fluorescence de l'émetteur qui n'est pas couplé à la nanofibre peut être, quant à elle, détectée en champ lointain via un objectif de microscope par exemple.

Il est tout à fait concevable d'exciter l'émetteur fluorescent par le mode HE_{11} . En revanche, la luminescence générée par l'excitation au travers de la nanofibre rend la mesure de fluorescence en bout de fibre compliquée. Le signal d'auto-luminescence généré par le cœur de la nanofibre, caractérisé par un spectre très large et très intense par rapport à la fluorescence de l'émetteur, va se superposer à cette dernière rendant sa mesure extrêmement difficile. C'est pourquoi l'émetteur est généralement excité par un faisceau gaussien perpendiculaire à la nanofibre. Le taux de couplage d'un émetteur déposé sur une nanofibre se situe aux alentours de 14% dans une direction de la nanofibre [SCHELL et collab., 2017; YALLA et collab., 2012a]. Cette valeur est dépendante de la longueur d'onde d'émission, du diamètre de la nanofibre, et de l'orientation du moment dipolaire de l'émetteur par rapport à la nanofibre.

Certains composants optiques peuvent être reproduits à l'échelle microscopique par l'utilisation de nanofibres. Il est notamment possible de réaliser un miroir de Bragg sur ce type de structure. Pour ce faire, l'indice optique effectif est changé localement, et de manière périodique par gravure, sur certaines régions de la nanofibre. Grâce à cette opération, il est possible de réaliser une cavité de Bragg le long de la nanofibre. En couplant un émetteur fluorescent à cette structure photonique, l'émission de fluorescence ainsi que le taux de couplage de l'émetteur se verront exaltés [SCHELL et collab., 2015]. Il a également été récemment observé qu'en réalisant des boucles ou des nœuds avec des nanofibres, il est possible de reproduire des filtres interférentiels ou bien des résonateurs optiques [DING et collab., 2019].

Un rayonnement dipolaire peut être généré expérimentalement par un nanobâtonnet d'or car certains modes plasmoniques associés à cette structure présentent ce type de rayonne-

ment. La longueur d'onde de résonance, et donc de rayonnement, peut être accordée en ajustant les dimensions du nanobâtonnet. Notons également que le moment dipolaire est aligné avec le grand axe du nanobâtonnet. En utilisant ce type de structure, il est possible de coupler dans un mode guidé une fraction d'un faisceau laser incident par l'intermédiaire d'un nanobâtonnet déposé sur une nanofibre, car comme nous l'avons vu, ce mode de rayonnement se couple au mode HE_{11} de la nanofibre. Dans ce contexte, il a été démontré par [Joos et collab., 2018] que la polarisation du mode HE_{11} générée par un nanobâtonnet dépend de l'orientation du moment dipolaire du résonateur par rapport à l'axe de la nanofibre. Sur le plan expérimental, le nanobâtonnet est excité par un faisceau laser avec une polarisation linéaire. Lorsqu'il est orienté parallèlement ou perpendiculairement à l'axe de la nanofibre, le mode HE_{11} présente une polarisation rectiligne selon deux axes orthogonaux. En revanche, si le nanobâtonnet fait un angle de 45° avec l'axe de la nanofibre, la polarisation du mode HE_{11} est circulaire. Il est intéressant de remarquer que ce système est analogue à une lame quart-d'onde où une polarisation rectiligne est convertie en une polarisation circulaire.

4.3 Étude de la distribution du champ autour de la nanofibre : motivation

Certaines des expériences présentées dans la section précédente nécessitent une illumination de la nanofibre par un faisceau laser gaussien perpendiculaire à l'axe de la fibre. La densité de champ autour de la nanofibre n'est pas homogène sous ce genre d'illumination. En effet, la nanofibre va diffuser une partie du champ excitateur et le champ diffusé va alors interférer avec le champ incident. Le jeu d'interférence entre le champ incident et diffusé va donner naissance à des franges, et donc à une distribution de champ caractéristique proche de la nanofibre. Il est essentiel de connaître la distribution de champ sous ce type d'illumination si l'on veut exciter de manière efficace un émetteur fluorescent proche de la nanofibre ou une structure plasmonique.

Nous avons utilisé un AFM à pointe fluorescente qui balaye l'espace au dessus de la nanofibre. Le porte échantillon de ce dispositif a été adapté pour recevoir une nanofibre et ajuster sa tension. Via ce système, il est possible de mesurer la figure d'interférence caractéristique d'une nanofibre illuminée par un faisceau gaussien collimaté.

Dans la suite de ce chapitre, nous allons dans un premier temps présenter le fonctionnement du dispositif expérimental ainsi que la méthode de mesure. Nous analyserons ensuite les résultats obtenus en les comparant à des simulations basées sur la théorie de Mie.

4.4 Dispositif expérimental et méthode de mesures

Dans cette section, nous allons d'abord présenter la méthode utilisée par l'équipe du LKB pour fabriquer une nanofibre. Puis, le principe ainsi que le dispositif expérimental vont être présentés. Une première discussion sur les résultats expérimentaux sera ensuite présentée.

4.4.1 Fabrication des nanofibres

La fabrication des nanofibres a été effectuée au LKB selon un savoir-faire mis au point depuis plusieurs années. Une nanofibre est fabriquée à partir d'une fibre conventionnelle monomode [HOFFMAN et collab., 2014]. Cette dernière est dans un premier temps dénudée de sorte à ce que le cœur soit à l'air libre. La fibre est ensuite déposée sur un banc de tirage avec la partie dénudée au-dessus d'une flamme à hydrogène. Le banc de tirage est mis en oscillation selon l'axe de la nanofibre. Cette oscillation permet de chauffer le cœur de la fibre de façon homogène sur plusieurs millimètres. Le banc de tirage va également exercer une force de traction sur chacune des deux extrémités afin d'étirer la fibre. La quantité de matière au-dessus de la flamme va donc diminuer, ce qui entraîne un amincissement du cœur, passant de plusieurs dizaines de micromètres à quelques centaines de nanomètres. La zone où le diamètre est nanométrique peut s'étendre sur plusieurs millimètres. L'air autour de la nanofibre joue alors le rôle de gaine permettant au mode HE_{11} d'être guidé. Le schéma 4.3 représente une fibre optique étirée. La distribution spatiale du mode HE_{11} le long de la fibre est également schématisée par les lignes rouges sur cette figure. Le taux de couplage de ce mode à travers la partie étirée et de l'ordre de 90%.

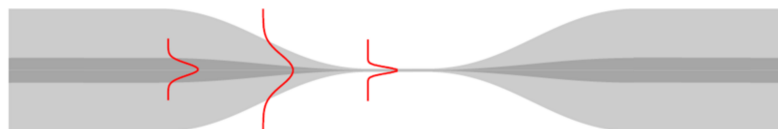


FIGURE 4.3 – Schéma nanofibre étirée. En rouge : mode HE_{11} .

4.4.2 Description du montage expérimental

La figure 4.4 montre une représentation schématique et une photographie du montage expérimental. Un faisceau laser, de longueur d'onde $\lambda = 568$ nm, polarisé linéairement est focalisé au plan focal arrière d'un objectif à air avec une ouverture numérique de 0.7. De cette façon, le faisceau en sortie d'objectif est collimaté avec un diamètre d'environ 35 μm . Le faisceau vient ensuite exciter une bille fluorescente (*Red fluorescent bead* - Thermofisher) de 100 nm de diamètre accrochée à une pointe de microscope de champ proche optique à balayage (SNOM) en tungstène [KRACHMALNICOFF et collab., 2013]. Nous nous référerons dans la suite à l'ensemble formé par la pointe et la bille fluorescente avec l'acronyme f-SNOM. La lumière

de fluorescence émise par la bille est ensuite collectée par le même objectif et redirigée vers une photodiode à avalanche (PDM-R, Micro Photon Devices [GULINATTI et collab. \[2012\]](#)). La nanofibre, de diamètre $d = 400$ nm, est disposée entre l'objectif et la pointe du f-SNOM dans la zone où le faisceau est collimaté. La bille fluorescente, au-dessus de la nanofibre, se trouve alors dans la zone où interfère le champ incident et le champ diffusé par la nanofibre. Dans la suite, l'axe z sera considéré comme étant parallèle à la nanofibre, x l'axe de propagation optique et y l'axe perpendiculaire aux deux autres (cf figure 4.4).

Nous avons vu dans la partie 1.1.4 que l'intensité de fluorescence est proportionnelle à celle du champ exciteur et au rendement quantique défini comme $\frac{\Gamma_R}{\Gamma}$, avec Γ le taux d'émission spontanée total de l'émetteur et Γ_R sa composante radiative. Nous verrons dans la suite que la sonde fluorescente ne peut pas être approchée à moins d'une centaine de nanomètres de la nanofibre. A cette distance, les variations du rendement quantique sont faibles et nous pouvons considérer que $\frac{\Gamma_R}{\Gamma}$ reste constant lors de l'acquisition. Sous cette hypothèse, lorsque la sonde fluorescente balaye le plan (xz) , l'intensité de fluorescence mesurée est alors directement proportionnelle à celle du champ exciteur. Grâce à cette mesure de fluorescence dans l'environnement proche de la nanofibre, nous allons pouvoir réaliser une carte d'intensité de la figure d'interférence générée par l'interaction de la nanofibre avec le faisceau laser.

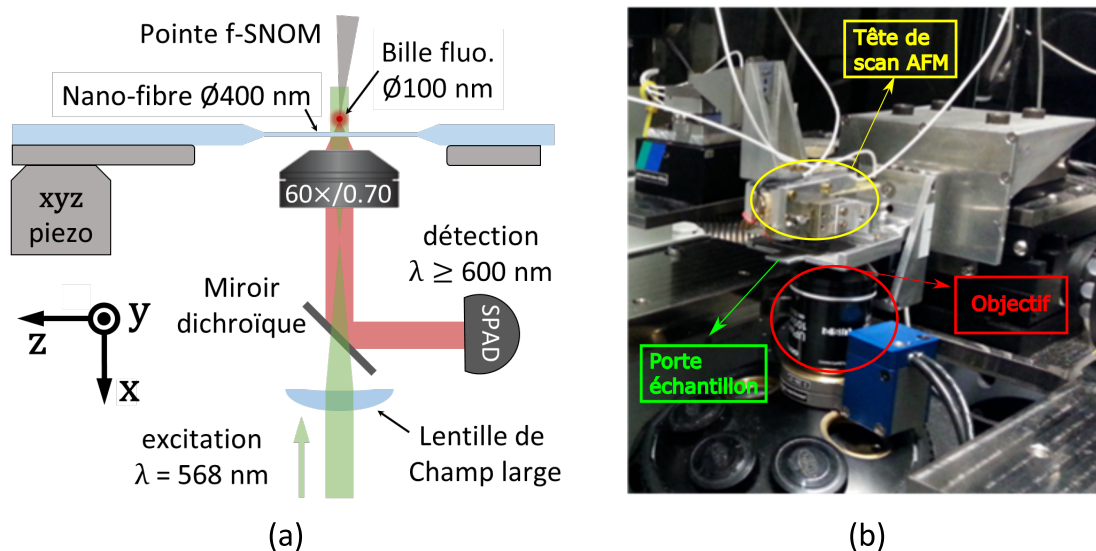


FIGURE 4.4 – (a) Schéma du dispositif expérimental. (b) Photo du dispositif expérimental.

Intuitivement, il serait tentant de réaliser une carte d'intensité en déplaçant la sonde du f-SNOM. Or, il est primordial que la bille fluorescente reste dans le plan focal objet de l'objectif, qui est conjugué avec le SPAD, et centrée dans son champ de vue. Dans le cas contraire, le signal de fluorescence mesuré serait dépendant de la position de la bille par rapport au SPAD, et dépendrait également de la distance entre la bille et le plan objet de l'objectif. Pour palier ce problème, le porte échantillon est installé sur un moteur piézoélectrique pouvant se déplacer

dans le plan (xy) perpendiculaire à l'axe de la nanofibre. Dans cette configuration, c'est donc l'ensemble du porte échantillon qui se déplace, la bille fluorescente sur la pointe f-SNOM restant fixe tout au long de la mesure. Le signal de fluorescence est alors uniquement affecté par le mouvement de la fibre dans le champ excitateur. L'amplitude de déplacement de la nanofibre le long de l'axe y est de $16\ \mu\text{m}$ par pas de $7.8\ \text{nm}$ et de $2\ \mu\text{m}$ le long de x par pas de $10\ \text{nm}$. L'ensemble des données présenté par la suite est obtenu pour un déplacement de la nanofibre dans le sens des y croissants, les données obtenues pour un déplacement dans le sens des y décroissants étant similaires.

4.4.3 Sonde fluorescente à balayage

Notre dispositif peut utiliser des pointes en tungstène effilées par attaque chimique [DE WILDE et collab., 2006], ou alors des pointes en silice (fibre optique étirées) [KRACHMALNICOFF et collab., 2013]. Des essais expérimentaux ont montré que les pointes en tungstène étaient plus adaptées à notre expérience car les forces d'adhésions avec la nanofibre sont plus faibles qu'avec une pointe en silice.

La première étape de l'expérience consiste à greffer une bille fluorescente sur la pointe du f-SNOM. Pour cela, la pointe nue est mise en contact avec la surface d'une lamelle de microscope sur laquelle des billes fluorescentes ont été dispersées. La pointe est ensuite approchée d'une bille fluorescente de taille nanométrique (diamètre $100\ \text{nm}$) qui va pouvoir se fixer sur la pointe par l'intermédiaire de forces d'adhésions. Avec cette méthode d'accrochage, la bille se greffe en général non pas à l'apex mais plutôt sur un côté de la pointe. L'altitude de la pointe est réglée par un système de rétroaction (R9, RHK Technology) permettant d'éviter d'endommager la pointe par des chocs trop brutaux avec la surface de l'échantillon. Ce système de rétroaction consiste à faire vibrer la pointe dans un plan orthogonal à l'échantillon (méthode Shear force [KARRAI et TIEMANN, 2000]) par l'intermédiaire d'un diapason. La fréquence de résonance du système constitué par la pointe et le diapason est prise comme fréquence de référence. Lorsque la pointe va se rapprocher de la surface, sous l'effet des forces de Van Der-Waals, la fréquence de résonance va augmenter. La boucle de rétroaction va alors commander à la pointe de remonter légèrement pour retrouver la fréquence de référence. Grâce à cette méthode, l'extrémité de la pointe est stabilisée à quelques dizaines de nanomètres de la surface.

Une fois que la pointe équipée d'une bille fluorescente est prête et correctement placée en coincidence avec le SPAD, on peut effectuer les balayages pour imager la distribution de champ au voisinage de la nanofibre. La nanofibre est d'abord approchée à quelques micromètres en-dessous de la bille et centrée avec cette dernière. Le balayage peut alors commencer et se fait dans le plan (xy) . Le porte échantillon va se rapprocher progressivement de la pointe du f-SNOM jusqu'à ce qu'il y ait contact. Tout au long du balayage, la boucle de rétroaction est désactivée. Toutefois, la pointe est maintenue en oscillation par le diapason à la

fréquence de résonance sous une très faible amplitude (quelques nanomètres à peine, pour ne pas perturber la mesure optique). Il est important de noter que la pointe est inclinée par rapport à la nanofibre dans le plan xy . Cette inclinaison est due au système de serrage qui permet de créer un contact mécanique entre la pointe et le diapason.

4.4.4 Résultats préliminaires

La figure 4.5(a) montre la première ligne du balayage. La nanofibre est située à 2270 nm de l'extrémité de la pointe du f-SNOM. Le signal de fluorescence enregistré par le SPAD (points oranges) est caractéristique d'une figure d'interférence avec des oscillations d'intensité autour d'un pic central aligné avec le centre de la nanofibre. La courbe bleue représente quant à elle la différence entre la fréquence de référence et la fréquence réelle d'oscillation de la pointe que l'on note dans la suite Δf . Sur cette ligne du balayage, il est normal que la valeur de Δf soit nulle car aucun obstacle n'est en contact avec la pointe.

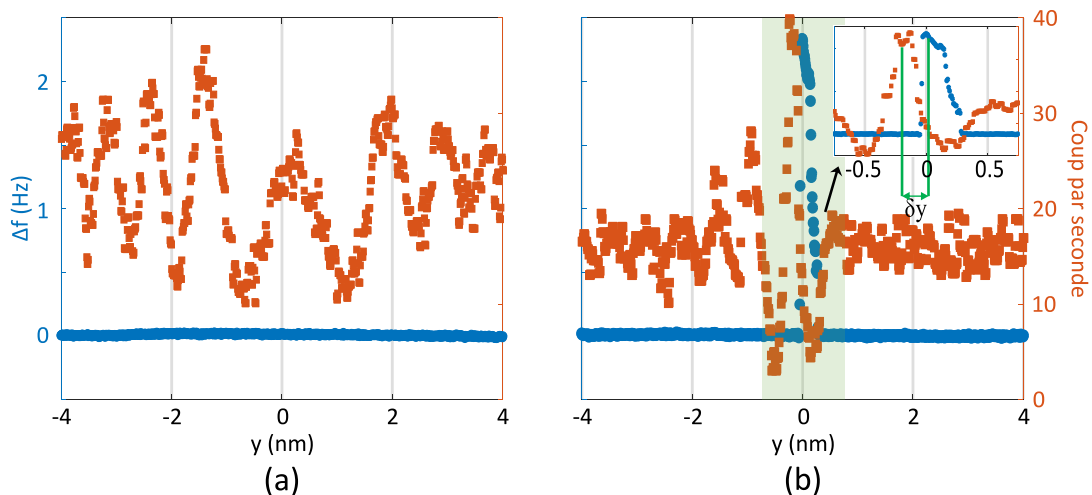


FIGURE 4.5 – Signal de fluorescence (points oranges) en coup par seconde (cps) sur le SPAD et décalage par rapport à la fréquence de résonance (points bleus) en Hertz au voisinage de la nanofibre en début de scan (a) et au premier contact avec la nanofibre (b). Ces données sont obtenues pour un déplacement dans le sens des y croissants.

La figure 4.5(b) représente la dernière ligne du balayage. Comme pour la première ligne, les oscillations d'intensité sont toujours visibles. En ce qui concerne Δf , on note la présence d'un pic avec une amplitude d'environ 2 Hz. Ce pic est la signature du contact entre la nanofibre et la pointe du f-SNOM. D'un point de vue expérimental, l'expérience est stoppée lors du premier contact pointe/nanofibre. L'altitude à laquelle se produit le premier contact est considérée comme l'altitude de référence ($x = 0$). Une autre information intéressante pouvant être extraite de ce graphique est la position horizontale relative (le long de l'axe y) entre l'extrémité de la pointe et la bille fluorescente. Cette position relative peut être déterminée en mesurant l'écart entre la position du pic d'intensité central et celle du pic de Δf . En ef-

fet, la position du pic d'intensité central correspond au moment où la bille fluorescente passe au-dessus de la nanofibre, alors que la position du pic en Δf correspond au contact entre l'extrémité de la pointe et de la nanofibre. Cette distance relative entre l'apex de la pointe et la bille fluorescente est notée δy et vaut ici 125 nm (cf l'encapsulé du graphique 4.5(b)). Notons que dans le cas idéal, où la bille est greffée sur l'extrémité de la pointe, ces deux pics doivent être confondus. Il est également judicieux de remarquer que le pic central d'intensité apparaît avant celui de Δf . Comme la nanofibre se déplace dans le sens des y croissants, cela signifie que pour les $y < 0$ la bille fluorescente est entre la pointe et la nanofibre alors que pour les $y > 0$ la pointe se trouve entre la nanofibre et la bille fluorescente.

La distance verticale minimum accessible entre la bille fluorescente et l'extrémité de la nanofibre ne peut pas être obtenue directement avec ces données. Néanmoins, nous verrons dans la suite que cette quantité peut être extraite en couplant les résultats des mesures à des simulations basées sur la théorie de Mie. Avant de présenter et discuter des cartes de champs, la théorie de la diffusion d'une onde plane par un cylindre infini va être introduite dans la partie suivante.

4.5 Théorie de Mie : diffusion de la lumière par un cylindre diélectrique infini

La diffusion d'un faisceau gaussien sur une nanofibre peut être modélisée par la diffusion d'une onde plane monochromatique sur un cylindre infini. Pour résoudre ce type de problème, il est commode d'utiliser le formalisme de la théorie de Mie. Cette méthode semi-analytique permet d'estimer la distribution de champ E_{tot} autour d'un cylindre infini [BARBER et HILL, 1990]. D'après le théorème de superposition, la distribution de champ autour d'un diffuseur s'exprime comme $E_{tot} = E_{inc} + E_{diff}$ avec E_{inc} le champ incident (onde plane monochromatique) et E_{diff} le champ diffusé par le cylindre. Dans la suite, nous considèrerons que l'onde plane incidente se propage selon l'axe x (cf figure 4.6(a)). Deux états de polarisation peuvent être identifiés, l'un parallèle à l'axe de la nanofibre selon l'axe z et l'autre perpendiculaire à la nanofibre selon y .

4.5.1 Polarisation parallèle à l'axe de la fibre

En coordonnées cylindriques l'expression du champ incident polarisé longitudinalement, c'est à dire le long de l'axe de la fibre, est définie comme :

$$E_{inc}^z(r, \phi) = \exp(ikr \cos(\theta)), \quad (4.3)$$

avec $k = 2\pi/\lambda$ le nombre d'onde, et (r, θ) les coordonnées cylindriques du système. De part la géométrie du système, les expressions du champ électrique sont invariantes par translation

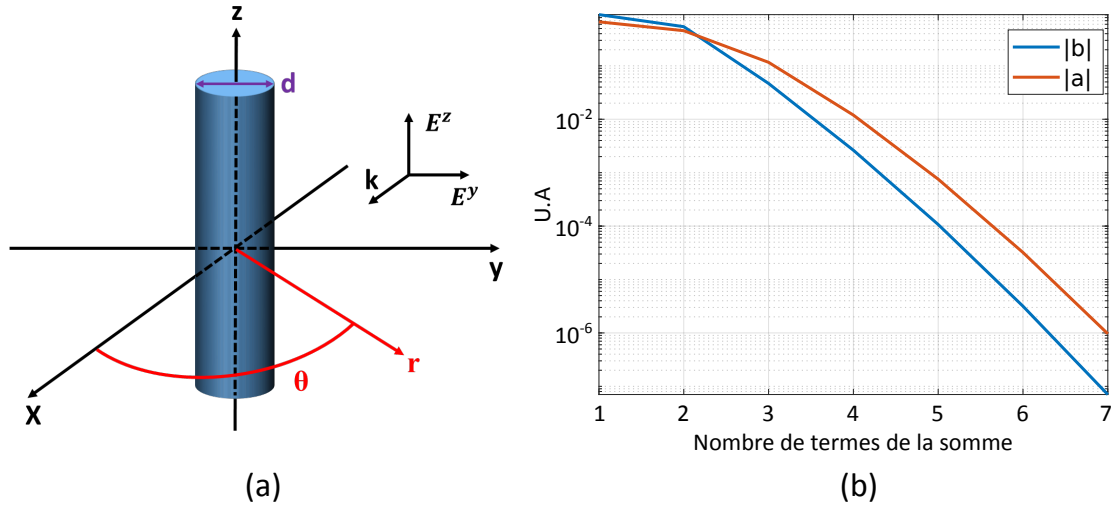


FIGURE 4.6 – (a) Géométrie de la simulation. (b) Évolution des coefficients de pondérations a_l et b_l en fonction du nombre de termes de la somme.

le long de l'axe z . Il est également important de noter que, sous cette polarisation, le champ incident et le champ diffusé sont orientés selon l'axe z du repère. Le champ diffusé par le cylindre se formule par :

$$E_{diff}^z(r, \theta) = -b_0 H_0^{(1)}(kr) - 2 \sum_{l=1}^{\infty} i^l b_l H_l^{(1)}(kr) \cos(l\theta). \quad (4.4)$$

La fonction $H_l^{(1)}$ est la fonction de Hankel au premier ordre. Cette fonction est définie comme $H_l^{(1)} = J_l(x) + iY_l(x)$ avec $J_l(x)$ et $Y_l(x)$ respectivement les fonctions de Bessel du premier et du second ordre. Le coefficient b_l , pondérant l'équation précédente, est lui aussi défini en terme de fonctions de Bessel et a pour expression :

$$b_l = \frac{n J_l'(n\kappa) J_l(\kappa) - J_l(n\kappa) J_l'(\kappa)}{n J_l'(n\kappa) H_l^{(1)}(\kappa) - J_l(n\kappa) H_l^{(1)}(\kappa)}, \quad (4.5)$$

avec $\kappa = kd/2$ le paramètre de taille, d le diamètre de la fibre et n l'indice optique de la fibre. Comme le montre la figure 4.6(b), b_l tend vers zero très rapidement, il est donc possible de tronquer la suite après quelques termes seulement.

Grâce à ces expressions, il est possible d'exprimer la distribution du champ sous cette polarisation incidente comme :

$$|E_{tot}^z(r, \theta)| = \sqrt{|E_{inc}^z|^2 + |E_{diff}^z|^2}. \quad (4.6)$$

4.5.2 Polarisation perpendiculaire à l'axe de la fibre

Le champ incident peut être également polarisé selon l'axe y perpendiculaire au cylindre. L'expression d'un champ incident en coordonnées cylindriques est portée cette fois-ci par les deux composantes r et θ tel que $|E_{inc}^y| = \sqrt{|E_{inc}^r|^2 + |E_{inc}^\theta|^2}$ avec :

$$E_{inc}^r(r, \theta) = \sin(\theta) \exp(ikr \cos(\theta)) \quad (4.7)$$

$$E_{inc}^\theta(r, \theta) = \cos(\theta) \exp(ikr \cos(\theta)). \quad (4.8)$$

Le champ électrique diffusé par la fibre sous ce type d'illumination (E_{diff}^y) est lui aussi porté par les deux composantes r et θ et son expression sur chacune de ces orientations est donnée par $|E_{diff}^y(r, \theta)| = \sqrt{|E_{diff}^r(r, \theta)|^2 + |E_{diff}^\theta(r, \theta)|^2}$ avec :

$$E_{diff}^r(r, \theta) = \frac{2i}{kr} \sum_{l=1}^{\infty} i^l a_l H_l^{(1)}(kr) \sin(l\theta) \quad (4.9)$$

$$E_{diff}^\theta(r, \theta) = i(a_0 H_0^{(1)}(kr) + 2 \sum_{l=1}^{\infty} i^l a_l H_l^{(1)}(kr) \cos(l\theta)), \quad (4.10)$$

avec cette fois-ci le coefficient a_l qui pondère les équations précédentes. Ce coefficient s'exprime comme :

$$a_l = \frac{J_l'(n\kappa)J_l(\kappa) - nJ_l(n\kappa)J_l'(\kappa)}{J_l'(n\kappa)H_l^{(1)}(\kappa) - nJ_l(n\kappa)H_l^{(1)}(\kappa)}. \quad (4.11)$$

Le coefficient a_l tend également rapidement vers zéro lorsque l augmente (cf figure 4.6(b)). Comme pour b_l , il est possible de tronquer la série après seulement quelques itérations.

La distribution de champ autour du cylindre est la somme du champ incident et du champ diffusé. Avec une illumination selon l'axe y la distribution de champ s'écrit comme :

$$|E_{tot}^y| = \sqrt{\left|E_{inc}^r(r, \theta) + E_{diff}^r(r, \theta)\right|^2 + \left|E_{inc}^\theta(r, \theta) + E_{diff}^\theta(r, \theta)\right|^2}. \quad (4.12)$$

Ce formalisme, facilement implémentable, permet de modéliser des cartes de champ autour d'un cylindre diélectrique avec des temps de calcul très courts. Ce modèle présente trois paramètres libres : le diamètre du cylindre d , son indice optique n , la longueur d'onde d'illumination λ . Les cartes de l'intensité des champs E_{tot}^z et E_{tot}^y , obtenues en utilisant cette méthode, sont présentées sur les figures 4.8(b) et 4.8(d). Les paramètres de simulation utilisés sont les mêmes que ceux de l'expérience à savoir : $d = 400$ nm, $n = 1.46$ et $\lambda = 568$ nm.

4.5.3 Distribution du champ diffusé

Les cartes d'intensité du champ diffusé $|E_{diff}^z(r, \theta)|^2$ et $|E_{diff}^y(r, \theta)|^2$ sont représentées sur les figures 4.7(a) et (b). Lorsque la nanofibre est illuminée avec une polarisation orientée selon

l'axe z , le champ électrique est diffusé dans toutes les directions de l'espace. Notons toutefois que la distribution angulaire du champ n'est pas homogène, et qu'une fraction importante du champ est diffusée vers l'avant, selon la direction de propagation de l'onde incidente.

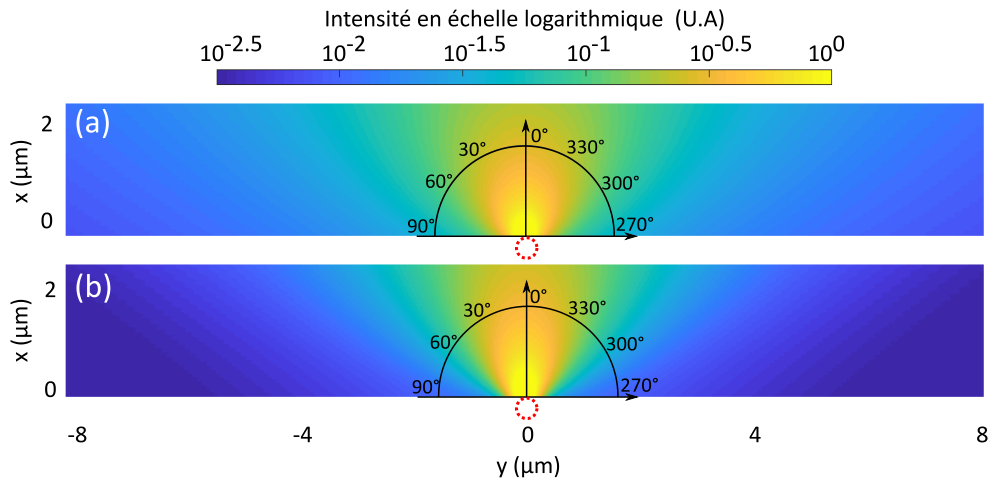


FIGURE 4.7 – (a) Carte d'intensité du champ diffusé obtenue par modélisation via la théorie de Mie pour un polarisation incidente selon l'axe Z ((b) selon l'axe Y). Les cercles pointillés rouges représentent la position de la nanofibre.

Si l'on s'intéresse maintenant à la distribution du champ dans le cas où la nanofibre est illuminée avec une polarisation selon l'axe y , la figure 4.7(b) correspondante présente un lobe de diffusion principal vers l'avant. La quasi totalité du champ est contenue dans ce lobe d'une ouverture d'environ 120° . Le cône de diffusion est cette fois-ci plus étroit qu'avec l'autre polarisation d'illumination. Ce comportement s'explique par la nature propagative de l'onde diffusée. En effet, une onde se propageant en espace libre ne peut pas avoir sa polarisation orientée de façon colinéaire avec sa direction de propagation. C'est pourquoi la densité de champ diffusée diminue, et devient quasiment nulle pour les angles se rapprochant de l'axe y lorsque la nanofibre est illuminée avec une onde plane polarisée selon y . Nous verrons dans la suite que ces considérations sur la diffusion du champ incident par la nanofibre sont capitales pour l'interprétation des franges d'interférence présentées dans la suite.

4.6 Discussions des résultats expérimentaux

Dans cette section nous allons présenter les cartes de l'intensité du champ mesurées au voisinage d'une nanofibre. Ces cartes expérimentales seront ensuite comparées aux simulations basées sur la théorie de la diffusion de Mie. Il est important de rappeler que les simulations de la distribution du champ sont obtenues en sommant le champ diffusé par un cylindre diélectrique à un champ incident modélisé par une onde plane.

4.6.1 Cartes de l'intensité du champ

La configuration expérimentale permet d'illuminer la nanofibre selon deux états de polarisation. Les figures 4.8(a) et 4.8(c) montrent la distribution de l'intensité du champ optique obtenue expérimentalement avec respectivement une polarisation du champ incident parallèle (selon l'axe z) et perpendiculaire (selon l'axe y) à la nanofibre. Afin de faciliter la comparaison de ces mesures à la théorie de Mie, les résultats des simulations sont présentés sur la même figure (figure 4.8(b,d)).

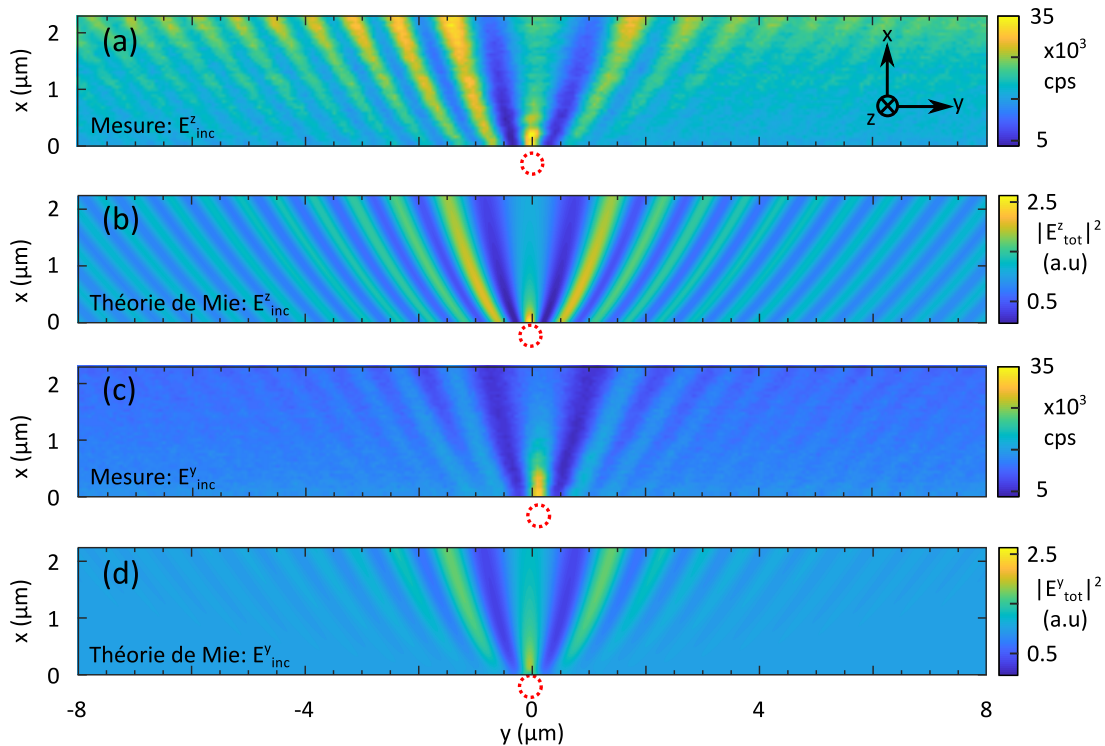


FIGURE 4.8 – (a) Carte du signal de fluorescence pour une polarisation incidente selon l'axe Z ((c) selon l'axe Y). (b) Intensité du champ électrique modélisée pour une polarisation selon l'axe Z ((d) selon l'axe Y).

Les franges d'interférence dues à l'interaction entre le champ incident et diffusé sont clairement visibles sur ces figures. On remarquera que le contraste des franges est meilleur sous une illumination polarisée parallèlement à la nanofibre (figure 4.8(a,b)). En effet, les franges sont visibles jusqu'à $8 \mu\text{m}$ du centre de la nanofibre sous cette polarisation, alors qu'elles s'atténuent plus vite sous l'autre orientation. Ce comportement peut être expliqué en s'appuyant sur les cartes de l'intensité du champ diffusé présentées sur la figure 4.7(a,b). Avec un champ incident polarisé selon z , la distribution angulaire du champ diffusé (figure 4.7(a)) se fait tout autour de la nanofibre, avec néanmoins une diffusion maximale vers l'avant. Dans ce cas là, les interférences entre le champ diffusé et le champ incident peuvent avoir lieu partout autour

de la nanofibre. En revanche, lorsque la nanofibre est illuminée avec une polarisation perpendiculaire selon l'axe y , la carte de l'intensité du champ diffusé (figure 4.7(b)) présente un lobe de diffusion principal vers l'avant. La majorité du champ est contenue dans ce lobe d'une ouverture d'environ 120° . L'intensité diffusée dans les autres directions étant plus faible, voir nulle, permet d'expliquer la diminution du contraste, puis la disparition des franges pour des angles de plus en plus importants.

Un autre effet visible à la fois sur les simulations et les données expérimentales apparaît au voisinage de la nanofibre. L'intensité du champ de la frange centrale est localement exaltée proche de la nanofibre et décroît rapidement lorsque l'on s'en éloigne. Ce phénomène est appelé dans la littérature un jet photonique. Il a été mis en évidence via des simulations FDTD en modélisant des cylindres diélectriques illuminés par une onde plane par [CHEN et collab., 2004], puis observé expérimentalement par [LI et collab., 2005] sur des sphères diélectriques de taille micrométrique. Le confinement du champ se fait dans un volume restreint, plus petit que la limite permise par diffraction. La nanofibre joue donc un rôle équivalent à une lentille, permettant de focaliser le champ incident dans un volume sub-longueur d'onde. Grâce à ces observations théoriques et expérimentales, il est intéressant de remarquer que si l'on veut maximiser l'interaction entre le champ optique et un émetteur fluorescent au voisinage d'une nanofibre, il vaut mieux placer ce dernier au niveau du jet photonique.

En prêtant attention au comportement de l'intensité au sein du jet photonique, les données expérimentales révèlent des oscillations avec une période proche de $\lambda/2$. Ce phénomène étant observable uniquement au voisinage de la nanofibre et sur de très courtes distances, il peut être interprété comme un jeu d'interférences induites par une cavité Fabry-Pérot formée par la pointe du f-SNOM et la nanofibre [COSTANTINI et collab., 2012]. Nous avons également remarqué que cet effet est d'autant plus marqué lorsque la pointe est inclinée dans le plan yz parallèlement à la nanofibre, avec la polarisation du champ incident dans le même plan. Nous nous sommes efforcés de réaliser ces acquisitions avec la pointe inclinée dans le plan perpendiculaire à la nanofibre pour limiter ces oscillations.

Ce phénomène n'est pas le seul témoin de l'influence de la pointe sur nos mesures. En effet, une deuxième perturbation induite par la pointe est visible sur la figure 4.8(a) : les franges à droite sont moins intenses qu'à gauche. Cet effet s'explique par l'asymétrie induite par l'inclinaison de la pointe et du positionnement de la bille fluorescente sur cette dernière comme schématisé sur la figure 4.9(a). Lorsque la pointe du f-SNOM est située dans les $y > 0$, la pointe va écranter le champ excitateur de manière plus importante que lorsqu'elle est dans les $y < 0$. C'est pourquoi l'intensité de fluorescence est diminuée dans cette région.

Le profil d'illumination gaussien utilisé pour réaliser ces mesures peut également impacter l'intensité des franges. En effet, si la nanofibre n'est pas bien centrée avec ce dernier, l'intensité relative des franges sera modifiée en fonction de la position de la nanofibre dans le faisceau. Il est important de noter que dans ce cas là, l'interfrange n'est pas modifié.

4.6.2 Dérive expérimentale et distance de capture

Dans la section 4.4.4 nous avons déjà discuté du fait que la bille fluorescente n'est pas fixée exactement en bout de pointe. La comparaison entre le signal de fluorescence et le signal de l'asservissement de la pointe a montré que la distance relative δy entre la bille fluorescente et le centre de la nanofibre peut être estimée. Nous allons maintenant estimer la dérive expérimentale du système d'acquisition ainsi que la distance minimum accessible entre l'émetteur fluorescent et la nanofibre; cette distance caractéristique sera notée δx dans la suite (cf schéma 4.9(a)). Pour évaluer ces différentes valeurs, les résultats expérimentaux vont être comparés aux calculs basés sur la théorie de Mie.

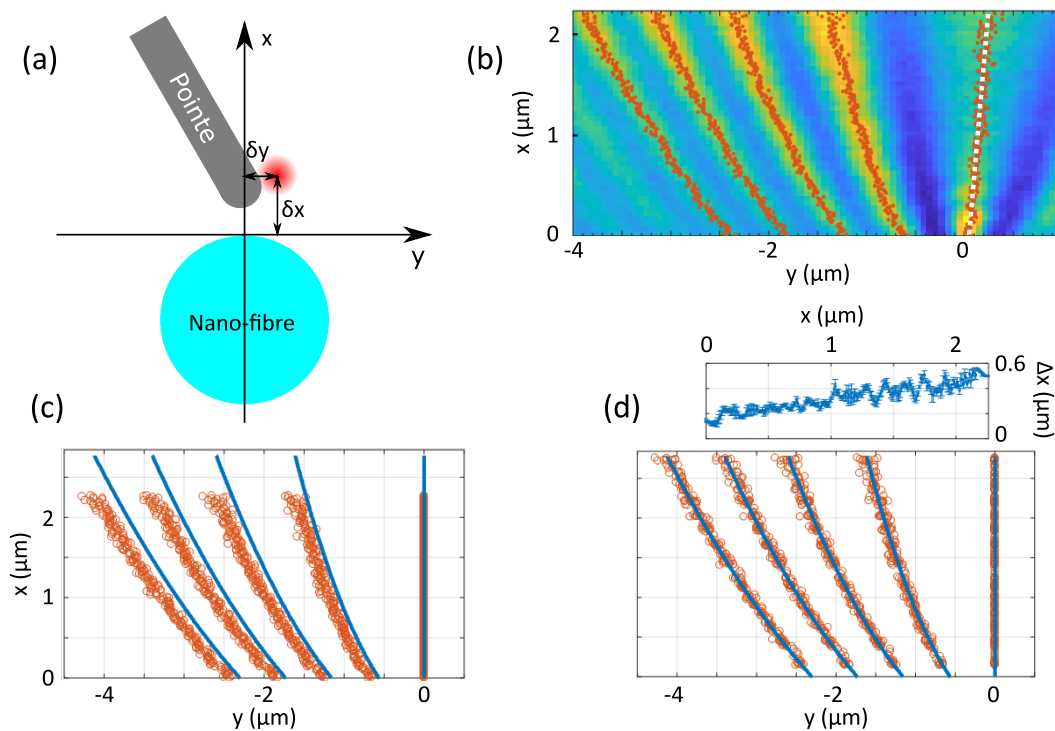


FIGURE 4.9 – (a) Représentation schématique de la pointe du f-SNOM au voisinage de la nanofibre juste avant la capture avec les distances δx et δy . (b) Position des franges d'interférence (points oranges) de la figure 4.8(a). La ligne en pointillé blanc représente un ajustement paramétrique de la frange centrale. (c) Position des franges mesurées (ronds oranges) et calculées (points bleus). (d) Même figure que (c), les points expérimentaux sont cette-fois décalés le long de l'axe x pour être ajustés par rapport aux positions calculées. La figure en insérée représente la valeur du décalage appliqué en fonction de l'altitude.

Lorsque la pointe est suffisamment proche de la nanofibre, des forces attractives vont engendrer la capture de la nanofibre par la pointe. En d'autres termes, il existe une distance critique au-delà de laquelle la nanofibre va subitement être attirée vers la pointe. Cette distance dépend de la tension appliquée sur les extrémités de la fibre. Plus celle-ci sera forte, plus la pointe pourra s'approcher de la nanofibre. Il existe un problème évident de rupture

de la nanofibre si la tension est trop forte, ce qui implique nécessairement une capture de la nanofibre par la pointe. La distance minimum mesurée entre l'émetteur et la nanofibre, notée dans la suite δx , dépend de deux paramètres. Premièrement de la distance entre la bille fluorescente et l'extrémité de la pointe, et deuxièmement de la distance critique de capture entre la pointe et la nanofibre.

Le temps d'acquisition pour générer une carte de champ complète est d'environ une heure. Par conséquent, les dérives de type mécanique et thermique vont perturber la mesure. Le système de déplacement piézoélectrique, mais aussi la façon dont est fixée la pointe sur le diapason rendent la mesure sensible à ces dérives. De plus, la nanofibre en suspension est sensible à des dérives similaires. La configuration de l'expérience, et les conditions d'acquisition font que nous nous attendons à avoir une dérive dans le plan (xy) d'acquisition. En revanche, la géométrie de l'expérience présente une invariance en translation le long de l'axe z . La dérive le long de cette direction n'affectera donc pas le résultat final.

Pour évaluer la dérive selon l'axe y , la position des franges d'interférence est repérée en pointant leur maximum pour chacune des lignes du balayage. Nous obtenons ainsi la position de la frange centrale ainsi que celles des quatre franges de gauches (cf figure 4.9(b)). En regardant de plus près les points repérant la position de la frange centrale, on remarque que ces derniers sont répartis le long d'une droite légèrement inclinée (ligne en pointillée blanc sur la figure 4.9(b)). Avec le mode d'illumination utilisé, nous nous attendons à avoir une frange centrale centrée sur l'axe x de propagation de la lumière. Nous pouvons donc utiliser la pente de cette droite pour évaluer la dérive lors de l'acquisition le long de l'axe y . Elle est ici d'un peu moins de 300 nm par heure, soit environ 1 nm par ligne de mesure. Cette faible dérive peut être négligée à l'échelle d'une ligne de mesure. Sous cette hypothèse, nous avons décidé de définir l'origine horizontale ($y = 0$) de chaque ligne de mesure comme étant confondue avec la position du pic central. La position des autres pics est donc définie comme la distance par rapport au pic central. En faisant ainsi, on peut voir sur la figure 4.9(c) que la position des pics mesurés (cercles oranges) coïncide avec ceux obtenus par le calcul (points bleus). Sur cette même figure, un net décalage vertical entre la position des franges calculées et mesurées est observable. L'origine de ce décalage est due à la fois à la dérive expérimentale le long de l'axe x , et à l'effet de capture susmentionné entre la nanofibre par la pointe.

Pour estimer la dérive le long de l'axe x , un décalage vertical est appliqué à l'ensemble des points expérimentaux pour ensuite les juxtaposer avec les données simulées (cf figure 4.9(d)). Les points d'une ligne vont subir le même décalage vertical que l'on notera Δx . Pour calculer Δx , on procède de la façon suivante. On calcule une moyenne glissante sur les cinq lignes autour du point qu'on considère. Ceci revient à moyenner sur des hauteurs de l'ordre de 50 nm. Puis, pour chaque ligne, on calcule une valeur de Δx pour que les quatre pics de la figure d'interférence mesurés coïncident avec les valeurs théoriques attendus. Cette opération est ensuite répétée et appliquée à chacune des lignes du balayage. Par cette analyse des données, on trouve une dérive linéaire de Δx par rapport à x (voir l'encapsulé de la figure 4.9(d)), ce qui

est compatible avec une dérive de type mécanique ou thermique.

Le graphique inséré dans la figure 4.9(d) représente la valeur du décalage Δx appliquée sur chacune des lignes du balayage en fonction de leur hauteur. A partir de cette courbe deux informations peuvent être extraites. Premièrement, la dérive expérimentale le long de l'axe x est donnée par la pente de cette courbe. Sur ces données, une dérive de 400 nm par heure a été mesurée. La deuxième information donnée par cette courbe est la distance minimum accessible entre la nanofibre et la bille fluorescente δx . Cette distance critique correspond au déplacement qu'il faut appliquer sur les points de la dernière ligne de balayage en $x = 0$, soit $\delta x = 150$ nm. Remarquons que dans le cas idéal, où il n'y a pas de dérive expérimentale, il suffirait d'ajouter δx à tous les points expérimentaux pour les ajuster correctement avec ceux de la simulation.

4.7 Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons démontré qu'il est possible de sonder le champ optique diffusé par une nanofibre de 400 nm de diamètre. Cette technique expérimentale consiste à collecter la lumière de fluorescence d'un émetteur greffé sur la pointe d'un f-SNOM au voisinage d'une nanofibre. Grâce à cette technique nous avons pu mesurer les franges d'interférence résultantes de l'interaction entre le champ incident et diffusé. Cette figure d'interférence, caractéristique de ce type de géométrie, a été obtenue sous deux polarisations d'illumination. Les deux acquisitions successives, réalisées en changeant uniquement la polarisation de l'illumination mettent en évidence la stabilité des mesures.

Les résultats expérimentaux ont été confrontés à des calculs basés sur la théorie de Mie. L'accord entre le modèle et les mesures est très satisfaisant. En plus de la figure d'interférence, nous avons pu retrouver l'effet de jet photonique. A notre connaissance, ce phénomène a déjà été observé expérimentalement à travers des sphères diélectriques micrométriques, mais jamais sur des nanofibres. Grâce à cette observation, nous avons pu mettre en évidence la position optimale pour exciter et coupler un émetteur fluorescent à une nanofibre sous ce type d'illumination, à savoir, placer l'émetteur dans le jet photonique.

Toujours en confrontant les données avec les calculs, nous avons également pu caractériser le dispositif expérimental en estimant la dérive dans le plan d'acquisition. Sur l'ensemble de la mesure, il en ressort une dérive horizontale de 400 nm et verticale de 300 nm. Ces valeurs sont cohérentes avec une dérive de type thermique ou mécanique. Nous avons également pu extraire deux distances caractéristiques propres à l'acquisition. Premièrement la distance relative horizontale $\delta y = 125$ nm entre l'extrémité de la pointe et la bille fluorescente, et deuxièmement la distance minimum accessible entre la bille fluorescente et la nanofibre $\delta x = 150$ nm avant d'être dans la région où les forces d'adhésion engendrent la capture de la nanofibre par la pointe.

Le SPAD utilisé pour mesurer le signal de fluorescence peut également être connecté à un

module TCSPC pour réaliser des mesures de durée de vie. Nous avons observé que, en dehors de la zone de capture, les variations du taux d'émission spontanée en fonction de la distance entre la nanofibre et l'émetteur sont relativement faibles. En plus de cette observation, nous avons réussi à déposer une bille fluorescente sur la nanofibre. Les mesures du taux d'émission spontanée de cet émetteur lorsqu'il est sur la nanofibre ou sur une lamelle de verre sont nettement différentes. En effet, lorsque la bille fluorescente est sur la lamelle de verre son taux d'émission vaut $\Gamma_v = 0.14 \text{ ns}^{-1}$, et passe à $\Gamma_f = 0.21 \text{ ns}^{-1}$ sur la nanofibre. Cette augmentation entre Γ_v et Γ_f s'explique par le couplage de l'émission de fluorescence de l'émetteur à travers la nanofibre par l'intermédiaire du mode guidé HE_{11} . Ce couplage ouvre un nouveau canal de désexcitation qui se traduit par une augmentation du taux d'émission spontanée de l'émetteur.

En plus de sonder le champ optique à proximité d'une nanofibre, le f-SNOM peut donc être utilisé pour déposer des émetteurs fluorescents sur une nanofibre. Nous imaginons dans la suite poursuivre ces travaux en utilisant ce dispositif expérimental comme plateforme d'étude et de caractérisation de nano-structures couplées à une nanofibre, comme par exemple des antennes plasmoniques permettant d'optimiser le couplage d'un émetteur fluorescent à travers le mode HE_{11} de la nanofibre.

4.8 Références

- AGRAWAL, G. P. 2012, «Fiber-optic communication systems», . 99
- AUBRY, E., F. PIERRE-OLIVER et G. GRANDELIN. 2019, «Le Dessous des cartes : Câble sous-marins, la guerre invisible», <https://www.arte.tv/fr/videos/RC-014036/le-dessous-des-cartes/>. [En ligne; dernier accès le 5 mars 2019]. 99
- BARBER, P. W. et S. C. HILL. 1990, *Light scattering by particles : computational methods*, vol. 2, World scientific. 107
- CHEN, Z., A. TAFLOVE et V. BACKMAN. 2004, «Photonic nanojet enhancement of backscattering of light by nanoparticles : a potential novel visible-light ultramicroscopy technique», *Optics express*, vol. 12, n° 7, p. 1214–1220. 98, 112
- CORZO, N. V., B. GOURAUD, A. CHANDRA, A. GOBAN, A. S. SHEREMET, D. V. KUPRIYANOV et J. LAURAT. 2016, «Large bragg reflection from one-dimensional chains of trapped atoms near a nanoscale waveguide», *Physical review letters*, vol. 117, n° 13, p. 133 603. 101
- COSTANTINI, D., L. GREUSARD, A. BOUSSEKSOU, R. RUNGSAWANG, T. ZHANG, S. CALLARD, J. DECOBERT, F. LELARGE, G.-H. DUAN, Y. DE WILDE et collab.. 2012, «In situ generation of surface plasmon polaritons using a near-infrared laser diode», *Nano letters*, vol. 12, n° 9, p. 4693–4697. 112

- DE WILDE, Y., F. FORMANEK, R. CARMINATI, B. GRALAK, P.-A. LEMOINE, K. JOULAIN, J.-P. MULLET, Y. CHEN et J.-J. GREFFET. 2006, «Thermal radiation scanning tunnelling microscopy», *Nature*, vol. 444, n° 7120, p. 740. [105](#)
- DING, C., V. LOO, S. PIGEON, R. GAUTIER, M. JOOS, E. WU, E. GIACOBINO, A. BRAMATI et Q. GLORIEUX. 2019, «Optical nanofiber interferometer and resonator», *arXiv preprint arXiv:1903.09735*. [101](#)
- GULINATTI, A., I. RECH, F. PANZERI, C. CAMMI, P. MACCAGNANI, M. GHIONI et S. COVA. 2012, «New silicon spad technology for enhanced red-sensitivity, high-resolution timing and system integration», *Journal of Modern Optics*, vol. 59, n° 17, p. 1489–1499. [104](#)
- HOFFMAN, J., S. RAVETS, J. GROVER, P. SOLANO, P. KORDELL, J. WONG-CAMPOS, L. OROZCO et S. ROLSTON. 2014, «Ultrahigh transmission optical nanofibers», *AIP advances*, vol. 4, n° 6, p. 067 124. [103](#)
- JOOS, M., C. DING, V. LOO, G. BLANQUER, E. GIACOBINO, A. BRAMATI, V. KRACHMALNICOFF et Q. GLORIEUX. 2018, «Polarization control of linear dipole radiation using an optical nanofiber», *Physical Review Applied*, vol. 9, n° 6, p. 064 035. [102](#)
- JOSS, M. 2018, *Dispositifs hybrides : nanoparticules couplées à une nanofibre optique*, thèse de doctorat, Thèse de doctorat de Sorbonne Université. [100](#)
- KARRAI, K. et I. TIEMANN. 2000, «Interfacial shear force microscopy», *Physical Review B*, vol. 62, n° 19, p. 13 174. [105](#)
- KRACHMALNICOFF, V., D. CAO, A. CAZÉ, E. CASTANIÉ, R. PIERRAT, N. BARDOU, S. COLLIN, R. CARMINATI et Y. DE WILDE. 2013, «Towards a full characterization of a plasmonic nanostructure with a fluorescent near-field probe», *Optics express*, vol. 21, n° 9, p. 11 536–11 545. [103](#), [105](#)
- LI, X., Z. CHEN, A. TAFLOVE et V. BACKMAN. 2005, «Optical analysis of nanoparticles via enhanced backscattering facilitated by 3-d photonic nanojets», *Optics express*, vol. 13, n° 2, p. 526–533. [112](#)
- LIEBERMEISTER, L., F. PETERSEN, A. V. MÜNCHOW, D. BURCHARDT, J. HERMELBRACHT, T. TASHIMA, A. W. SCHELL, O. BENSON, T. MEINHARDT, A. KRUEGER et collab.. 2014, «Tapered fiber coupling of single photons emitted by a deterministically positioned single nitrogen vacancy center», *Applied Physics Letters*, vol. 104, n° 3, p. 031 101. [101](#)
- LOO, V., G. BLANQUER, M. JOOS, Q. GLORIEUX, Y. DE WILDE et V. KRACHMALNICOFF. 2019, «Imaging light scattered by a subwavelength nanofiber, from near field to far field», *Optics express*, vol. 27, n° 2, p. 350–357. [98](#)

- MITSCH, R. 2014, *Interaction and manipulation of nanofiber-trapped atoms with spin-orbit coupled light*, thèse de doctorat, PhD thesis. Vienna Technical University. [101](#)
- NAYAK, K. P. et K. HAKUTA. 2008, «Single atoms on an optical nanofibre», *New Journal of Physics*, vol. 10, n° 5, p. 053 003. [101](#)
- NIEDDU, T., V. GOKHROO et S. N. CHORMAIC. 2016, «Optical nanofibres and neutral atoms», *Journal of Optics*, vol. 18, n° 5, p. 053 001. [101](#)
- SHELL, A. W., H. TAKASHIMA, S. KAMIOKA, Y. OE, M. FUJIWARA, O. BENSON et S. TAKEUCHI. 2015, «Highly efficient coupling of nanolight emitters to a ultra-wide tunable nanofibre cavity», *Scientific reports*, vol. 5, p. 9619. [101](#)
- SHELL, A. W., H. TAKASHIMA, T. T. TRAN, I. AHARONOVICH et S. TAKEUCHI. 2017, «Coupling quantum emitters in 2d materials with tapered fibers», *ACS Photonics*, vol. 4, n° 4, p. 761–767. [101](#)
- SKOFF, S. M., D. PAPENCORDT, H. SCHAUFFERT, B. C. BAYER et A. RAUSCHENBEUTEL. 2018, «Optical-nanofiber-based interface for single molecules», *Physical Review A*, vol. 97, n° 4, p. 043 839. [101](#)
- TONG, L., R. R. GATTASS, J. B. ASHCOM, S. HE, J. LOU, M. SHEN, I. MAXWELL et E. MAZUR. 2003, «Subwavelength-diameter silica wires for low-loss optical wave guiding», *Nature*, vol. 426, n° 6968, p. 816. [100](#)
- TONG, L., J. LOU et E. MAZUR. 2004, «Single-mode guiding properties of subwavelength-diameter silica and silicon wire waveguides», *Optics Express*, vol. 12, n° 6, p. 1025–1035. [100](#)
- WRIGGE, G., I. GERHARDT, J. HWANG, G. ZUMOFEN et V. SANDOGHDAR. 2008, «Efficient coupling of photons to a single molecule and the observation of its resonance fluorescence», *Nature Physics*, vol. 4, n° 1, p. 60. [98](#)
- YALLA, R., F. LE KIEN, M. MORINAGA et K. HAKUTA. 2012a, «Efficient channeling of fluorescence photons from single quantum dots into guided modes of optical nanofiber», *Physical review letters*, vol. 109, n° 6, p. 063 602. [101](#)
- YALLA, R., K. NAYAK et K. HAKUTA. 2012b, «Fluorescence photon measurements from single quantum dots on an optical nanofiber», *Optics express*, vol. 20, n° 3, p. 2932–2941. [101](#)

Chapitre 5

Guide d'onde hybride : Nanotriangle d'or sur ruban de TiO₂

Sommaire

5.1	Optique intégrée et transfert d'énergie entre émetteurs quantiques	120
5.2	Guides d'onde hybrides : aperçu de l'état de l'art	122
5.3	Dimensionnement et simulations du guide d'onde hybride	123
5.3.1	Contraintes sur le dimensionnement du guide d'onde hybride	123
5.3.2	Description du système simulé et de la méthode de simulation	124
5.3.3	Résultats des simulations	126
5.4	Fabrication des échantillons	128
5.4.1	Lithographie électronique du guide d'onde en TiO ₂	128
5.4.2	Fabrication du nanotriangle sur le DWG	128
5.4.3	Échantillon de DWG hybride avec nanotriangle	129
5.5	Nanopositionnement d'une bille fluorescente à proximité d'un nanotriangle	130
5.5.1	Carte d'intensité et du taux d'émission spontanée	130
5.5.2	Relâcher une bille fluorescente à proximité de l'apex du nanotriangle	132
5.6	Mesure de l'efficacité de découplage du triangle	132
5.6.1	Protocole de mesure des coefficients de diffusion	132
5.6.2	Méthode de mesure de l'intensité diffusée par la pointe SNOM et le nanotriangle	137
5.6.3	Résultats expérimentaux	138
5.7	Conclusion	140
5.8	Références	140

Nous avons vu au chapitre 4 qu'il est difficile de coupler efficacement un émetteur à un guide d'onde diélectrique (abrégié par DWG de l'anglais *Dielectric Waveguide*) juste en déposant l'émetteur à la surface du guide. Dans ce chapitre, nous allons présenter un dispositif optique permettant de coupler de manière efficace la lumière de fluorescence d'un émetteur dans un DWG. Ce système optique est constitué d'un DWG sur lequel est déposée une antenne optique en or de forme triangulaire. En plus d'augmenter de manière drastique le couplage de la lumière émise par l'émetteur dans le DWG nous allons voir que cette structure hybride permet d'obtenir une très forte directivité du rayonnement dans le DWG. Les travaux réalisés s'inscrivent dans le cadre d'une collaboration entre l'Institut Langevin et le laboratoire L2N à l'Université de Technologie de Troyes (UTT). Les simulations ainsi que l'acquisition et le traitement des données ont été réalisés à l'Institut Langevin tandis que la fabrication des échantillons a été faite au L2N.

Nous introduirons dans un premier temps des éléments d'optique intégrée ainsi que les enjeux qui ont motivé ces travaux. Nous ferons ensuite un bref état de l'art sur les structures hybrides alliant DWG et antennes plasmoniques. Puis nous présenterons les simulations qui nous ont permis de dimensionner le DWG hybride, ainsi que les résultats expérimentaux obtenus.

5.1 Optique intégrée et transfert d'énergie entre émetteurs quantiques

L'optique intégrée est une discipline qui vise à implémenter et à réaliser des opérations logiques à l'aide de composants optiques. SUN et collab. [2015] ont démontré qu'il est possible d'effectuer ces opérations avec un processeur optique. Le développement de ce type de plateforme de calcul est particulièrement prometteur, car des limites technologiques et physiques freinent l'amélioration des capacités de calcul des processeurs électroniques conventionnels. Les composants d'optique intégrée n'étant pas sujets à ce type de limitations, il est donc envisageable d'utiliser cette technologie pour dépasser les limites inhérentes aux processeurs électroniques. Un autre atout de l'optique intégrée réside dans la faible consommation énergétique des composants optiques par rapport à ceux de la microélectronique. En effet, la majorité de l'énergie injectée dans les circuits microélectroniques est dissipée sous forme de chaleur par effet Joule alors que l'absorption de la lumière dans les composants d'optique intégrée est insignifiante. Cela a pour conséquence de rendre l'utilisation des circuits optiques moins gourmands en énergie que ceux constitués de composants microélectroniques.

En parallèle de l'optique intégrée, des avancées récentes en matière d'optique quantique et de nanophotonique [CHANG et collab., 2014; NORTHUP et BLATT, 2014; WANG et collab., 2019] laissent entrevoir des applications dans le domaine des technologies de l'information et des télécommunications. Coupler la lumière émise par des émetteurs fluorescents dans des

guides d'onde optiques ainsi que la communication entre un ensemble d'émetteurs uniques représentent les briques élémentaires nécessaires au développement de ces nouvelles technologies [LODAHL, 2017; VERTCHENKO et collab., 2019]. Le contrôle ainsi que l'intégration de sources et détecteurs de lumière dans des circuits optiques constitue un défi majeur pour l'avènement de ces nouvelles technologies.

C'est dans ce contexte qu'à l'Institut Langevin nous nous sommes intéressés au transfert d'énergie entre deux sources fluorescentes, l'une faisant office d'émetteur et l'autre de récepteur. Lors de sa thèse de doctorat, Dorian Bouchet a réalisé une expérience permettant de transférer l'énergie émise par une bille fluorescente à un ensemble d'émetteurs fluorescents situés à une distance de plusieurs micromètres via un SPP [BOUCHET et collab., 2016]. Une bille fluorescente est déposée sur un film d'argent et excitée par un laser. Lors de sa désexcitation, elle peut exciter un SPP qui se propage à la surface du film d'argent. Le SPP a une certaine probabilité d'être absorbé par des molécules organiques qui tapissent l'échantillon. La longueur d'onde du SPP émis est accordée avec celle d'absorption des molécules organiques quelques micromètres plus loin. Ces travaux ont montré qu'il est possible de transférer l'énergie entre des émetteurs et des récepteurs par l'intermédiaire d'un SPP sur des distances allant jusqu'à 7 μm . L'expérience a ensuite été réalisée à l'échelle du plasmon unique. Pour ce faire, l'émetteur est une boîte quantique (QD de l'anglais *Quantum Dot*) unique qui excite un plasmon unique se propageant le long d'un nanofil d'argent [BOUCHET et collab., 2017]. Le nanofil d'argent agit comme un guide d'onde plasmonique. Une nanobille fluorescente est utilisée en tant que récepteur localisé à 10 μm de distance de l'émetteur. Le clignotement simultané de l'émetteur et du récepteur a été mis en évidence grâce à des mesures de corrélations temporelles.

Ces deux expériences ont permis d'étendre le transfert d'énergie de distance nanométriques à des distances micrométriques. Cependant, elles souffrent d'un problème commun. Le SPP généré à la surface du film ou du nanofil d'argent va être fortement atténué lors de sa propagation en raison des pertes ohmiques du métal. La conséquence directe de cette atténuation est de limiter la distance de communication entre l'émetteur et le récepteur à seulement quelques micromètres [BOUCHET et collab., 2016, 2017]. Pour palier ce problème, nous avons développé au cours de cette thèse un dispositif permettant de coupler efficacement le rayonnement d'un émetteur dans un DWG hybride. L'idée est de déposer une nanoantenne optique triangulaire en or sur un DWG en dioxyde de titane (TiO_2). La nanoantenne a deux objectifs : premièrement d'optimiser le couplage de l'émetteur au DWG et deuxièmement de donner une directionnalité forte à la lumière injectée par l'émetteur dans le DWG. En tirant partie de la nature diélectrique du guide d'onde ainsi que du confinement de la lumière induit par ce dernier, il est possible de propager la lumière de l'émetteur sur des distances bien supérieures à celles accessibles à un SPP. Néanmoins, une fois la lumière de fluorescence couplée au DWG, il faut la découpler si l'on veut pouvoir exciter un récepteur. Les équations de Maxwell étant symétriques par renversement du temps, une onde électromagnétique couplée

par l'antenne dans le DWG peut être découplée par le même type de structure. En disposant donc deux nanotriangles base-à-base sur un DWG, il est envisageable de coupler la lumière de fluorescence de l'émetteur à travers un nanotriangle et d'utiliser le second pour la découpler et exciter le récepteur.

Dans la suite, nous allons principalement nous intéresser au couplage de l'émetteur à la structure hybride DWG/nanotriangle et à la caractérisation de ce type de structure. Mais avant cela, nous allons présenter les travaux d'autres équipes de recherche qui ont étudié ce type de structures hybrides composées d'une antenne plasmonique déposée sur un guide d'onde optique.

5.2 Guides d'onde hybrides : aperçu de l'état de l'art

Comme vu dans la partie 1.3.3, les nanoantennes optiques ont la particularité, lorsqu'elles sont couplées à un émetteur, de réémettre la lumière de ce dernier avec un diagramme de rayonnement qui est conditionné par leur forme ainsi que leur dimension. Ces structures peuvent également confiner le champ incident en un point précis de l'espace proche de l'antenne.

Cette propriété de confinement du champ a notamment été exploitée par [LUO et collab. \[2015\]](#) en utilisant un triangle d'or de dimensions nanométriques déposé sur un guide d'onde en silicium. Les auteurs ont mis en évidence les propriétés de nano-focalisation induite par ce type de structure. L'expérience consiste à injecter de la lumière dans le guide d'onde et à mesurer le champ optique au voisinage de la nanostructure grâce à un SNOM. Il en résulte un effet de nano-focalisation où la majorité du champ est concentrée dans un volume sub-longueur d'onde au niveau de l'apex du nanotriangle. Ces travaux sont en bon accord avec des simulations effectuées sur des structures hybrides similaires par [HE et collab. \[2011\]](#); [LUO et collab. \[2013\]](#).

Des travaux analogues ont été réalisés par [VERCRUYSSSE et collab. \[2017\]](#) en utilisant des antennes optiques d'or en forme de V. Les auteurs ont déposé ces structures sur des guides d'onde en nitrure de silicium (Si_xN_y) et ont observé la directivité induite par ces antennes optiques. Ils ont illuminé les antennes de façon individuelle avec un faisceau laser et ont comparé l'intensité entre les deux extrémités du guide d'onde en fonction de la longueur d'onde d'excitation, mais aussi en fonction des dimensions de l'antenne. Des études préliminaires ont notamment été menées sur ce type de structure par [VERCRUYSSSE et collab. \[2013\]](#) et [LI et collab. \[2016\]](#). Un article publié par [VERCRUYSSSE et collab. \[2014\]](#) a également mis en évidence l'influence des nanoantennes en forme de V sur le diagramme de rayonnement en champ lointain d'émetteurs fluorescents.

Les nanoantennes optiques de type Yagi-Uda sont un autre candidat intéressant. Elle sont constituées de plusieurs bâtonnets alignés les uns avec les autres. De nombreuses études ont été menées sur ce type d'antenne optique pour tirer partie de leur habilité à rediriger la lu-

mière incidente [KOSAKO et collab., 2010], ou l'émission d'un fluorophore [CURTO et collab., 2010]. Les travaux de BERNAL ARANGO et collab. [2012] proposent une caractérisation d'un système hybride composé d'une antenne optique Yagi-Uda déposée sur un guide d'onde en Si_xN_y. Les auteurs ont pu mettre en avant l'efficacité de découplage de la lumière se propageant à travers un DWG par cette catégorie d'antenne.

5.3 Dimensionnement et simulations du guide d'onde hybride

Dans cette partie nous allons dans un premier temps discuter des contraintes imposées sur le dimensionnement du DWG et de l'antenne optique par la méthode de nano-fabrication utilisée. Nous présenterons ensuite la méthode de simulation FDTD et les résultats obtenus.

5.3.1 Contraintes sur le dimensionnement du guide d'onde hybride

La lithographie électronique est, à l'heure actuelle, l'une des méthodes les plus répandues pour fabriquer des objets nano-structurés. Cette méthode impose néanmoins certaines contraintes sur la conception de nano-structures. Nous allons voir comment ces contraintes ont conditionné le dimensionnement du DWG et du nanotriangle que nous avons développé en collaboration avec l'UTT. Plus de détails sur la réalisation des échantillons seront donnés dans la section 5.4.

Il est essentiel que la forme de l'antenne optique soit triangulaire sans quoi les propriétés de résonance, de directivité, et d'exaltation souhaitées ne pourraient pas être assurées. Pour que la forme triangulaire soit bien définie, les dimensions de la base du triangle ainsi que de sa hauteur doivent être supérieures à la centaine de nanomètres. En dessous de ces dimensions, l'intégrité de la forme triangulaire ne peut pas être assurée avec la technique de lithographie électronique. Il est également important que l'épaisseur d'or déposée pour former le triangle soit suffisamment importante pour assurer la continuité du dépôt. Nous avons choisi de fixer l'épaisseur du nanotriangle à 50 nm.

L'utilisation de TiO₂ pour la conception du DWG impose également certaines contraintes de fabrication. En effectuant un dépôt par évaporation, il est difficile de déposer une épaisseur de TiO₂ supérieure à 150 nm. En effet, au-delà de cette hauteur, le dépôt peut présenter des craquelures qui vont détériorer la capacité de confinement et donc de guidage de la lumière. Enfin, la largeur des guides d'onde doit être suffisamment importante pour permettre un bon positionnement de l'antenne optique au niveau du centre du DWG, mais aussi être suffisamment large pour supporter le nanotriangle dans son intégralité. Nous avons donc décidé de fixer la largeur du DWG à 1 µm.

Pour résumer, les dimensions de la hauteur et de la base du nanotriangle doivent être au minimum de l'ordre de la centaine de nanomètres avec une épaisseur du dépôt d'or de 50 nm. L'épaisseur du DWG est fixée à 150 nm et la largeur du guide à 1 µm. Ces contraintes tech-

niques nous ont servi de base pour le dimensionnement du DWG hybride via des simulations FDTD. Avant de présenter les résultats des simulations, le système ainsi que la stratégie de simulation utilisée pour dimensionner l'échantillon vont être présentés.

5.3.2 Description du système simulé et de la méthode de simulation

Les simulations FDTD (3D) réalisées au cours de cette thèse ont eu pour objectif de maximiser le couplage de la radiation émise par un dipôle dans un DWG par l'intermédiaire d'une nano-antenne optique de forme triangulaire. Nous avons joué principalement sur les dimensions du nanotriangle. Le facteur de mérite que nous avons maximisé est calculé en divisant la puissance injectée dans le guide par la puissance totale cédée par le dipôle.

Il est important de noter que la position du dipôle au voisinage du nanotriangle ainsi que l'orientation de son moment dipolaire sont cruciaux. En fonction de sa localisation autour de la structure et de son orientation, le dipôle va être à même d'exciter de manière préférentielle certains modes de résonance plasmonique de la nanoantenne au détriment d'autres. En se basant sur les travaux de [BELTRAN MADRIGAL \[2017\]](#); [LUO et collab. \[2015\]](#); [SALAS-MONTIEL et collab. \[2017\]](#); [VASISTA et KUMAR \[2016\]](#) et après plusieurs essais de simulations, nous avons déterminé que le dipôle doit être orienté parallèlement à la hauteur du triangle et positionné à l'apex du triangle pour que l'injection dans le DWG soit maximum. Dans cette configuration, la majorité de la puissance rayonnée par le dipôle est injectée dans le guide d'onde avec une très forte directivité du côté de la base du nanotriangle.

Modélisation du DWG et du nanotriangle

Les deux figures 5.1(a,b) schématisent le système simulé selon une vue du dessus dans le plan (xy) (figure 5.1(a)) et une coupe dans le plan (xz) (figure 5.1(b)). Les bords de la simulation sont constitués de PML (Perfectly Matched Layer) et sont représentés par le cadre orange sur le schéma. Le substrat de SiO₂, d'indice optique $n_s = 1.46$, est schématisé en bleu et le DWG en TiO₂ en vert. Le modèle d'indice optique de TiO₂ utilisé est celui mesuré expérimentalement par [SARKAR et collab. \[2019\]](#) sur un film de 200 nm. Le nanotriangle, représenté en jaune, est simulé avec le modèle d'indice mesuré par [YAKUBOVSKY et collab. \[2017\]](#) sur un film d'or d'épaisseur de 53 nm. Le nanotriangle d'or est disposé sur un plot triangulaire en SiO₂ (bleu) de même dimension. L'ajout de SiO₂ entre le nanotriangle et le DWG est primordial pour optimiser l'adaptation d'impédance optique entre le guide et le résonateur [[BELTRAN MADRIGAL, 2017](#); [HE et collab., 2011](#); [LUO et collab., 2013](#)]. D'après les travaux de thèse réalisés par [BELTRAN MADRIGAL \[2017\]](#), un dépôt de SiO₂ de 30 nm permet d'obtenir des performances optimales en matière de couplage entre la structure plasmonique et un DWG. Nous choisirons donc cette épaisseur de 30 nm de SiO₂ pour réaliser les simulations. Pour finir, l'antenne et le DWG sont entourés d'un milieu diélectrique d'indice optique $n_0 = 1$ modélisant l'air.

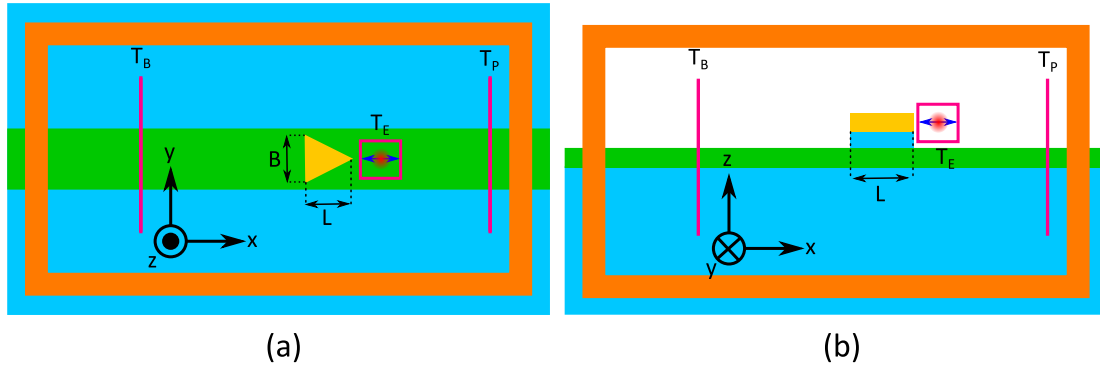


FIGURE 5.1 – Schéma de simulation. En jaune est représenté le nanotriangle d'or sur son espaceur de SiO₂ en bleu. Le guide d'onde en TiO₂ est quant à lui représenté en vert. Les différents moniteurs servant à extraire la transmission sont représentés en violet. (a) Vue de dessus. (b) Vue de coupe.

Les moniteurs de transmission

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, les surfaces sur lesquelles le champ est mesuré s'appellent dans le jargon "moniteurs". Les moniteurs de transmission sont représentés en violet sur les figures 5.1(a,b). Ces derniers donnent accès à la transmission définie comme la puissance P_i traversant un moniteur divisé par la puissance P_0 qui est cédée par le dipôle dans un milieu homogène (ici l'air). La transmission d'un moniteur i est donc définie comme $T_i = \frac{P_i}{P_0}$.

Deux types de moniteur sont utilisés. Premièrement des moniteurs plans sont disposés perpendiculairement à l'axe x . Ces moniteurs englobent le DWG et permettent d'extraire la fraction de puissance injectée à travers ce dernier. Le moniteur T_p est positionné après l'apex et T_B avant la base du nanotriangle. Ces moniteurs permettent d'extraire la fraction de puissance qui est injectée dans le DWG du côté de l'apex et de la base du nanotriangle respectivement. Les deux moniteurs sont positionnés de part et d'autre de la nano-antenne à 10 μm de distance de cette dernière pour mesurer uniquement la puissance du mode guidé (cf annexe B).

L'autre catégorie de moniteur utilisé est un moniteur cubique. Le moniteur cubique T_E est disposé autour du dipôle et permet d'extraire la puissance P_E cédée à l'environnement par rapport à celle émise lorsque le dipôle est dans un milieu homogène (P_0). La transmission alors obtenue se formule comme $T_E = \frac{P_E}{P_0}$ et s'interprète comme l'exaltation de la LDOS (cf partie 1.1.2).

Dans la suite, les résultats donnés par les moniteurs seront normalisés par rapport à la puissance cédée par le dipôle :

$$F_i = \frac{T_i}{T_E} = \frac{P_i}{P_E}. \quad (5.1)$$

Avec cette définition, la fraction de puissance F_i traversant un moniteur est une valeur com-

prise entre 0 et 1 et sera exprimée en pourcentage.

Discrétisation de l'espace de simulation

Un point essentiel des simulations FDTD est de définir un maillage spatial et temporel de simulation. Le maillage spatial global est fixé à 900 nm^3 , soit une maille cubique de 30 nm d'arête. Le logiciel Lumerical permet d'ajuster le maillage spatial sur une certaine région de la simulation. Les faibles dimensions de la nanoantenne nécessitent de réduire la maille de simulation pour rendre compte correctement de la géométrie triangulaire de la structure plasmonique simulée. Pour cela nous avons fixé le maillage à 8 nm^3 autour du nanotriangle. Enfin, comme la distance entre l'apex du triangle et le dipôle est très faible (10 nm), il est impératif de réduire le maillage pour que la simulation puisse converger. La zone comprise entre le dipôle et l'apex du nanotriangle est donc maillée encore plus finement avec un volume élémentaire de 1 nm^3 . Grâce à ce maillage spatial adaptatif, il est possible de réaliser des simulations présentant des géométries complexes avec des temps de calcul raisonnables.

Le pas temporel des simulations est choisi en se basant sur la condition de CFL (Courant-Friedrichs-Lewy) qui stipule que le pas de temps Δt doit vérifier la condition suivante :

$$\Delta t \leq \frac{1}{v \sqrt{\frac{1}{(\Delta x)^2} + \frac{1}{(\Delta y)^2} + \frac{1}{(\Delta z)^2}}} \quad (5.2)$$

avec $\Delta x, y, z = 1 \text{ nm}$ le plus petit pas spatial contenu dans la simulation et $v = c = 3 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ la vitesse de la lumière dans le milieu de plus faible indice optique ($n_0 = 1$). On trouve que $\Delta t \leq 1.926 \cdot 10^{-3} \text{ fs}$. Le pas de temps est donc fixé à $\Delta t = 1.906 \cdot 10^{-3} \text{ fs}$ pour que la condition de CFL soit respectée.

5.3.3 Résultats des simulations

A partir des contraintes techniques imposées sur le dimensionnement de l'échantillon (cf partie 5.3.1), nous avons réalisé une série de simulations dans lesquelles la longueur et la base du nanotriangle varient entre 200 et 800 nm par pas de 150 nm . L'ensemble des résultats obtenus est résumé dans le tableau en annexe C. Pour chacune des simulations, il y est répertorié le maximum de transmission et la longueur d'onde correspondante, ainsi que la directivité de l'antenne. De ces simulations, il ressort que la longueur d'onde de résonance est principalement conditionnée par la hauteur du nanotriangle. Cette observation est en accord avec les travaux de [CROZIER et collab. \[2003\]](#) réalisés sur des nanotriangles d'or aux longueurs d'ondes infrarouges. Les dimensions de la base du nanotriangle impactent principalement la directivité de l'antenne, mais modifient très faiblement la longueur d'onde de résonance et le facteur de transmission.

La figure 5.2 résume les résultats obtenus avec un nanotriangle de 500 nm de base et de

hauteur. Cette configuration est celle permettant d'obtenir le meilleur taux de couplage de la puissance cédée par le dipôle à travers le DWG avec une forte directivité et s'adapte mieux à nos contraintes expérimentales (en particulier celle liée à l'efficacité de détection des instruments utilisés). La courbe en pointillé vert de la figure 5.2(a) représente la fraction de puissance (définie par l'équation 5.1) traversant le moniteur T_B. Cette figure montre qu'environ 30% de la puissance cédée par le dipôle est injectée dans le DWG du côté de la base du nanotriangle. Grâce à cette structure plasmonique, une fraction importante de la puissance lumineuse cédée par le dipôle est donc couplée au DWG. La nature diélectrique du guide d'onde permet de transmettre la lumière sur des grandes distances avec un minimum de pertes. Remarquons également qu'une fraction importante de la puissance est couplée sur une large bande passante s'étendant entre 600 et 800 nm de longueur d'onde.

La fraction de puissance transmise dans le DWG du côté de la pointe à travers le moniteur F_P est seulement de quelques pourcents. En utilisant les valeurs fournies par les moniteurs T_B et T_P représentées par la courbe rouge de la figure 5.2 il est possible d'extraire la directivité de l'antenne que nous définissons comme :

$$D = 10 \cdot \log\left(\frac{T_B}{T_P}\right). \quad (5.3)$$

La directivité nous permet de caractériser la fraction de puissance envoyée dans une direction du DWG par rapport à l'autre. La courbe noire représente D en fonction de la longueur d'onde. Il apparaît alors que, comme pour la transmission, la directivité est maximale pour une longueur d'onde de 660 nm.

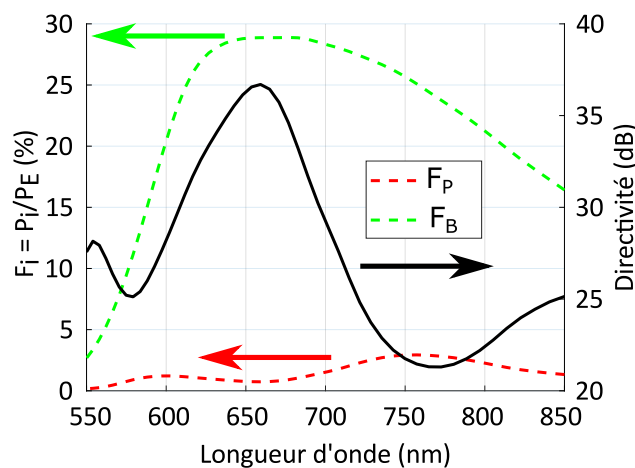


FIGURE 5.2 – Résultats des simulations avec un dipôle placé à l'apex d'un nanotriangle ($L = B = 500$ nm) déposé sur un DWG en TiO₂ avec un espaceur en SiO₂ de 30 nm d'épaisseur. Courbes verte et rouge : fraction de puissance rayonnée à travers les moniteurs T_B et T_P respectivement. Courbe noire : directivité.

5.4 Fabrication des échantillons

Les simulations précédentes nous ont permis de dimensionner une structure hybride pour le couplage efficace du rayonnement d'un émetteur fluorescent à travers un DWG en TiO₂ par l'intermédiaire d'une nanoantenne optique triangulaire en or. L'échantillon a été fabriqué à l'UTT par Nancy Rahbany en post-doctorat à l'Institut Langevin dans le cadre d'une collaboration avec S.Blaize, C.Couteau et R.Salas-Montiel (UTT). Comme nous allons le voir, la fabrication de ce type de structure nécessite une excellente maîtrise des techniques de salle blanche car elle comprend plusieurs étapes lithographiques et requiert un alignement précis de la structure plasmonique avec le centre du DWG.

5.4.1 Lithographie électronique du guide d'onde en TiO₂

La première étape de fabrication consiste à lithographier le DWG en TiO₂ sur un substrat de verre. Pour cela, une fine couche de polyméthyl-métacrylate (PMMA) est déposée sur une lamelle de microscope en silice. La zone de l'échantillon où l'on veut avoir le DWG est ensuite irradiée par un faisceau d'électrons dans un MEB (figure 5.3(a)). L'échantillon est ensuite immergé dans un solvant permettant de dissoudre uniquement le PMMA qui a été irradié; le DWG apparaît alors en négatif (figure 5.3(b)). Après cette étape, l'échantillon est placé dans un bâti de dépôt et 150 nm de TiO₂ sont déposés dessus par évaporation (figure 5.3(c)). Le reste du PMMA est ensuite dissout ce qui a pour conséquence de retirer le TiO₂ fixé sur le PMMA et de conserver celui qui est en contact avec la surface de verre. Après cette étape dite de "lift-off", il ne reste que le DWG sur l'échantillon (figure 5.3(d)). Les DWGs ont une longueur de 30 µm et sont biseautés à l'angle de Brewster au niveau de leur extrémité pour éviter l'effet de cavité Fabry-Pérot.

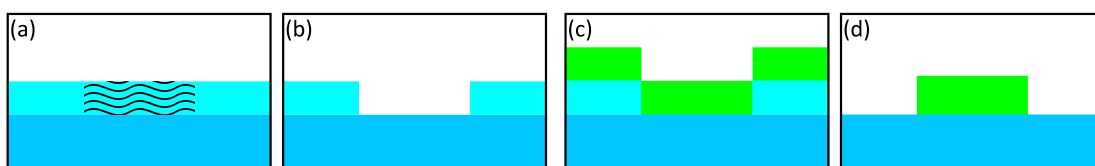


FIGURE 5.3 – Schémas des différentes étapes de fabrication du DWG. Le substrat en SiO₂ est représenté en bleu foncé, le PMMA en bleu clair, et le TiO₂ en vert. Les parties noircies sur les schémas représentent les zones irradiées par le faisceau d'électrons.

5.4.2 Fabrication du nanotriangle sur le DWG

L'étape de fabrication de la nanoantenne triangulaire sur le DWG est la plus critique car elle requiert son positionnement précis au centre du DWG. Un mauvais positionnement du nanotriangle sur le DWG impacterait les propriétés de couplage attendues.

Une couche de PMMA est de nouveau déposée sur la surface du substrat recouvrant également le DWG (figure 5.4(a)). Une zone au centre du DWG est ensuite irradiée de sorte à reproduire la forme du nanotriangle souhaitée. En dissolvant la zone irradiée, le négatif du triangle que l'on veut déposer apparaît sur le guide (figure 5.4(b)). Il s'en suit deux étapes de dépôt. Une première de SiO_2 va permettre de former l'espaceur de 30 nm d'épaisseur entre le nanotriangle d'or et le DWG, puis une seconde de 50 nm d'or va former la structure plasmonique (figure 5.4(c)). Enfin, l'excédant de matière est retiré par la dissolution du PMMA restant. Cette dernière étape permet de révéler la nano-antenne optique au centre du DWG (figure 5.4(d)).

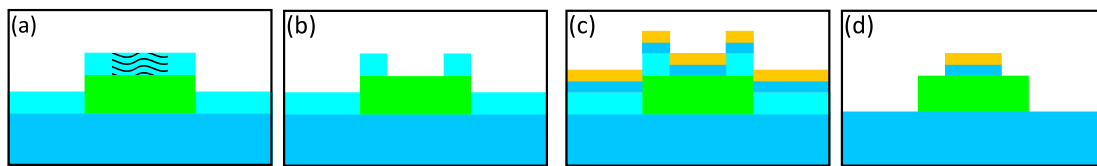


FIGURE 5.4 – Schémas des différentes étapes de fabrication du nanotriangle d'or sur le DWG. Le substrat en SiO_2 ainsi que l'espaceur sont représentés en bleu foncé, le PMMA en bleu clair, le TiO_2 en vert, et l'or en jaune. Les parties noircies sur les schémas représentent les zones irradiées par le faisceau d'électrons.

5.4.3 Échantillon de DWG hybride avec nanotriangle

La figure 5.5 est une image MEB d'un des guides d'onde hybrides de $30\ \mu\text{m}$ de long réalisé avec le protocole de fabrication décrit précédemment. Le nanotriangle en or apparaît clairement au centre du DWG. Néanmoins, les dimensions souhaitées pour cette antenne plasmonique ne sont pas exactement celles obtenues avec les simulations FDTD, à savoir 500 nm. Le triangle visible sur l'image 5.5 présente une hauteur de 470 nm et une base de 425 nm. Il en va de même pour la largeur du DWG qui est ici de $1.22\ \mu\text{m}$ alors que celle voulue est de $1\ \mu\text{m}$.

Il est tout à fait envisageable d'améliorer la précision sur la lithographie des structures en changeant par exemple la puissance ou le temps d'exposition des zones irradiées. Cependant, d'après les simulations réalisées, nous ne nous attendons pas à ce que ces faibles différences modifient de manière notable les caractéristiques du guide d'onde hybride.

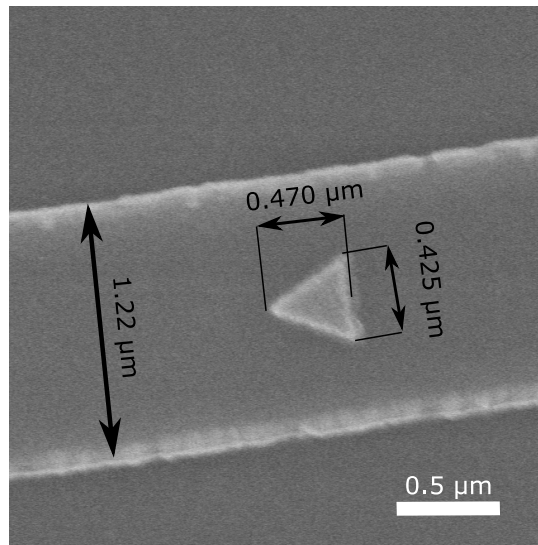


FIGURE 5.5 – Image de microscopie électronique à balayage (MEB) sur un guide d'onde hybride lithographié.

5.5 Nanopositionnement d'une bille fluorescente à proximité d'un nanotriangle

Afin d'utiliser le DWG pour faire du transfert d'énergie entre des émetteurs fluorescents et de caractériser l'efficacité de couplage de la fluorescence dans le DWG, la première étape consiste à approcher un émetteur fluorescent de l'apex du nanotriangle. Pour ce faire, une possibilité est d'utiliser le f-SNOM que nous possédons à l'Institut Langevin. L'idée est de venir positionner une bille fluorescente, greffée sur la pointe f-SNOM, au niveau de l'apex du nanotriangle et de mesurer la lumière diffusée par l'extrémité du DWG ou par une seconde antenne placée plus loin sur le DWG. Il s'est avéré que le nano-positionnement d'une bille fluorescente à l'apex d'un nanotriangle est particulièrement difficile. Nous avons néanmoins essayé différentes stratégies décrites dans les sections suivantes.

5.5.1 Carte d'intensité et du taux d'émission spontanée

Nous avons d'abord tenté d'approcher une bille fluorescente greffée sur une pointe f-SNOM à proximité de l'apex de la nanoantenne. La méthode utilisée est proche de celle présentée dans le chapitre 4. La pointe f-SNOM est dans un premier temps approchée d'un échantillon où un grand nombre de billes fluorescentes est dispersé, puis une bille est greffée sur la pointe. La pointe est ensuite approchée au niveau de l'apex du nanotriangle. En réalisant un balayage (cf partie 4.4.3) à proximité du nanotriangle, il a été possible de mesurer l'intensité et le taux d'émission spontanée de la bille fluorescente au voisinage de la structure plasmonique (cf figure 5.6).

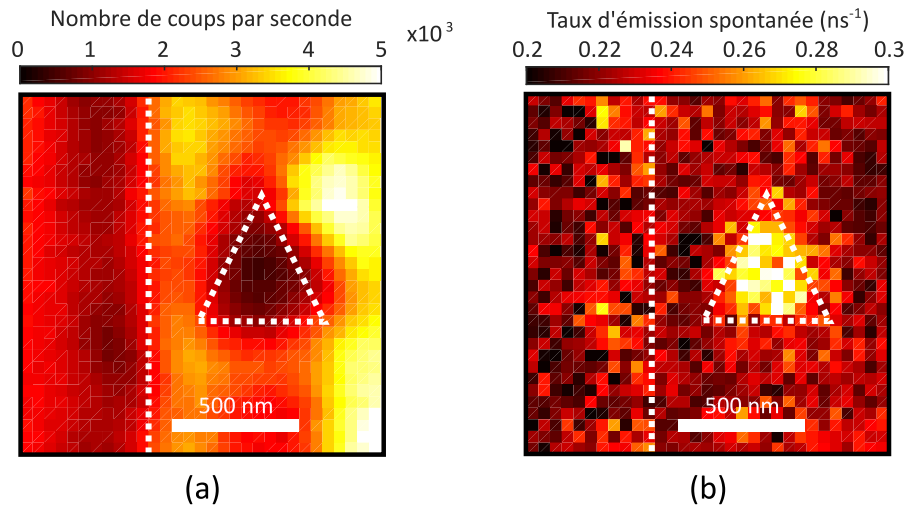


FIGURE 5.6 – (a) Carte d'intensité et (b) du taux d'émission spontanée obtenues avec un f-SNOM d'un nanotriangle d'or d'environ 500 nm de base et de longueur sur un DWG en TiO_2 . Le triangle en pointillés blancs représente la position du nanotriangle d'or sur les deux cartes et la ligne blanche en pointillé le bord du DWG.

La carte 5.6(a) montre que l'intensité mesurée au voisinage du nanotriangle est plus faible que celle mesurée sur le DWG ou le substrat de verre. Ce phénomène est dû à l'absorption par la structure plasmonique de la lumière rayonnée par la nanobille. Comme le montre la carte 5.6(b), l'absorption de la nanoantenne se matérialise par des canaux de désexcitation supplémentaires qui ont pour conséquence d'augmenter le taux d'émission spontanée des émetteurs fluorescents. Le taux d'émission spontanée mesuré est augmenté d'un facteur 1.5 par la présence de la nanoantenne. Cette modification qui peut paraître moindre, peut s'expliquer par la distribution des émetteurs au sein de la bille fluorescente de 100 nanomètres de diamètre. Une fraction minoritaire des émetteurs, situés proches de l'antenne, voit une LDOS plus importante et donc est sujette à une augmentation du taux d'émission spontanée [KRACHMALNICOFF et collab., 2013]. De plus, nous avons vu au cours du chapitre 4 que la bille ne se greffe pas nécessairement à l'extrémité de la pointe SNOM. La distance séparant la bille fluorescente de la structure peut donc être de plusieurs dizaines de nanomètres, ce qui pourrait justifier les faibles variations du taux d'émission spontanée mesurées. Cette dernière observation peut également expliquer pourquoi nous n'avons pas pu observer le couplage de la lumière de fluorescence de la bille dans le DWG avec cette technique expérimentale. En effet, comme l'efficacité de couplage de la lumière fluorescente dépend de la distance entre l'émetteur et l'apex du nanotriangle, si cette dernière est trop importante, la fraction de lumière couplée dans le DWG est très faible, voire nulle.

5.5.2 Relâcher une bille fluorescente à proximité de l'apex du nanotriangle

Une seconde stratégie pour essayer de caractériser l'échantillon a été de déposer une bille fluorescente avec la pointe f-SNOM le plus proche possible de l'apex du nanotriangle. Pour effectuer ce dépôt, il faut couper l'asservissement de la pointe f-SNOM. Il est alors possible de mettre la pointe en contact avec la surface du DWG. L'échantillon est ensuite légèrement déplacé de sorte à ce que la pointe frotte la surface du guide. Avec cette méthode la bille peut se décrocher de la pointe et venir se déposer sur le DWG. Cependant, la position où la nanobille est relâchée n'est pas bien maîtrisée. Nous avons donc essayé ensuite de déplacer la nanobille en la poussant avec la pointe du SNOM. Cette étape s'est avérée périlleuse, car la plupart du temps la nanobille se fixe de nouveau sur la pointe. De plus, il y a de très fortes chances d'endommager le DWG ou l'antenne car la nanomanipulation se fait sans asservissement. Comme nous possédons un nombre limité d'échantillons, nous avons donc choisi d'abandonner ces différentes stratégies de caractérisation et d'en choisir une autre plus simple à mettre en œuvre et qui ne menace pas l'intégrité du DWG hybride.

5.6 Mesure de l'efficacité de découplage du triangle

Pour caractériser ce type d'échantillon, nous avons décidé de mesurer le taux de découplage de la lumière par un nanotriangle sans utiliser d'émetteur fluorescent. Pour cela, nous avons focalisé un faisceau laser sur une extrémité du DWG en l'illuminant par dessous sur l'arête à l'aide d'un objectif à grande ouverture numérique ($\text{NA} = 1.4$) (cf figure 5.7). Une fraction de la lumière incidente diffractée sur l'arête va se coupler au DWG pour ensuite être découplée par l'antenne plasmonique et la pointe du SNOM. L'intensité diffusée par ces structures est mesurée au travers du même objectif qui a un champ de vue de $80 \mu\text{m}^2$. Nous allons dans un premier temps présenter la stratégie choisie pour mener à bien cette caractérisation de l'échantillon, puis nous présenterons les résultats obtenus.

5.6.1 Protocole de mesure des coefficients de diffusion

Pour caractériser le DWG, nous proposons de mesurer la fraction de lumière découplée par la nanoantenne en champ lointain par l'intermédiaire d'une caméra EMCCD. La structure plasmonique étant asymétrique par rapport à la propagation de la lumière dans le DWG, nous pouvons réaliser deux types de mesures que nous pourrions comparer. La première consiste à mesurer la lumière diffusée par la nanoantenne lorsque l'on injecte la lumière dans le DWG du côté de la base du nanotriangle. La seconde lorsque la lumière est injectée dans le guide, mais cette fois-ci du côté de l'apex du nanotriangle. Ces deux mesures vont nous permettre de caractériser l'habileté de la nanoantenne à découpler la lumière en fonction de la direction de propagation dans le DWG.

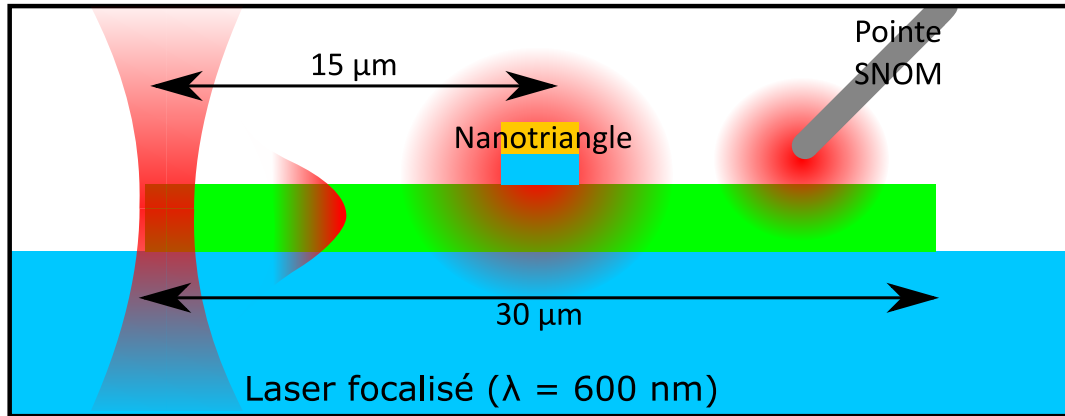


FIGURE 5.7 – Schéma du dispositif expérimental pour mesurer l'intensité diffusée par le nanotriangle et la pointe SNOM.

Il est important de noter que l'intensité diffusée par l'antenne est fonction de celle qui est injectée dans le DWG. Cette dernière dépend de l'intensité du faisceau laser incident, de la position de la tache focale du laser sur l'extrémité du guide d'onde, des aspérités présentes aux extrémités du DWG et de la qualité de la terminaison du DWG. De plus, nous sommes contraints de déplacer l'échantillon et de réajuster l'alignement afin d'éclairer avec le laser une extrémité ou l'autre du guide. Nous ne pouvons donc pas garantir la même efficacité de couplage du laser dans le guide pour ces deux configurations d'éclairage. Nous définissons donc ϕ_b l'intensité de la lumière se propageant dans le DWG lorsqu'on éclaire l'extrémité du guide située du côté de la base du nanotriangle (cf figures 5.8(a,b)) et ϕ_a l'intensité de la lumière se propageant dans le DWG lorsqu'on éclaire l'extrémité du guide du côté de l'apex du nanotriangle (cf figures 5.8(c,d)). A partir de ces deux définitions nous pouvons exprimer l'intensité diffusée par l'antenne lorsque la lumière se propage vers la base du nanotriangle comme :

$$D_b = \gamma_b \phi_b \quad (5.4)$$

et celle diffusée lorsque la lumière se propage vers l'apex du nanotriangle par :

$$D_a = \gamma_a \phi_a. \quad (5.5)$$

Les deux paramètres $\gamma_{a,b}$ représentent les coefficients de découplage de la nanoantenne en fonction de la direction de propagation de la lumière dans le DWG. Comme les valeurs de $\phi_{a,b}$ ne sont pas connues, il faut introduire une mesure de référence afin d'extraire les valeurs γ_a et γ_b . Cette référence est obtenue grâce à la mesure de la diffusion du champ optique par une pointe SNOM en tungstène positionnée sur le DWG. Cette astuce nous permet de rajouter une nouvelle observable que nous allons pouvoir comparer à l'intensité diffusée par la nanostructure. Avec l'ajout de cette mesure de référence, quatre configurations de mesure sont donc

possibles. Elles sont illustrées par les schémas de la figure 5.8. Lorsque la lumière se propage vers la base du nanotriangle, la pointe SNOM peut être soit positionnée du côté de la base du nanotriangle (schéma 5.8(a)) soit du côté de l'apex (schéma 5.8(b)). Il en va de même lorsque la lumière se propage en direction de l'apex du nanotriangle (schéma 5.8(c) et 5.8(d)). A partir de ces quatre configurations nous pouvons écrire deux systèmes de quatre équations, chacun étant relié à une direction de propagation de la lumière à travers le DWG. Nous introduisons un nouveau paramètre γ_P qui modélise le coefficient de découplage de la pointe SNOM. Les deux systèmes d'équations vont donc nous permettre d'évaluer les paramètres $\gamma_{a,b,P}$. Pour avoir des systèmes d'équations solubles, nous avons décidé de nous appuyer sur les trois hypothèses suivantes :

1. La pointe SNOM est considérée comme un objet symétrique qui diffuse toujours la même fraction d'intensité quelle que soit sa position sur le DWG.
2. Le DWG est sans perte. La lumière injectée par le laser ne peut donc être découplée que par l'action de la pointe SNOM ou du nanotriangle.
3. La pointe et le nanotriangle découplent les mêmes modes du DWG.

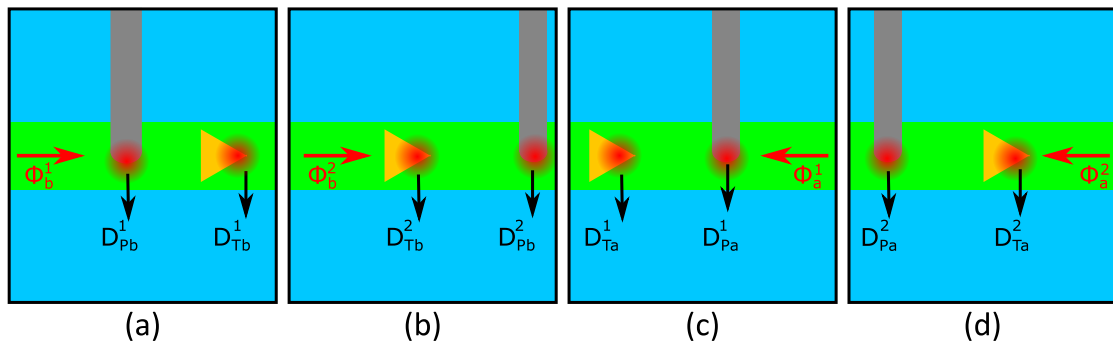


FIGURE 5.8 – Schémas des différentes configurations d'illumination et de positions de la pointe SNOM pour la caractérisation du DWG hybride. La direction de propagation de la lumière dans le DWG est indiquée par la flèche rouge. (a) Configuration dans laquelle l'illumination se fait du côté de la base du nanotriangle et la pointe SNOM est positionnée entre l'extrémité éclairée du DWG et la base du nanotriangle. (b) Même type d'illumination qu'en (a) mais la pointe est située du côté de l'apex du nanotriangle. (c) et (d) Mêmes positions de la pointe SNOM par rapport au nanotriangle que (a) et (b), mais avec la lumière dans le guide se propageant en direction de l'apex du nanotriangle.

En s'appuyant sur ces trois hypothèses nous allons à présent établir les deux systèmes d'équations, propres à chaque direction de propagation de la lumière dans le DWG, permettant d'exprimer l'intensité rayonnée par la nanoantenne et la pointe SNOM dans les quatre configurations décrites plus haut.

Injection de la lumière du côté de la base du nanotriangle

Lorsque la lumière est injectée dans le DWG du côté de la base du nanotriangle, avec la pointe placée devant la base du nanotriangle (voir figure 5.8(a)), nous pouvons exprimer l'intensité diffusée par la pointe comme :

$$D_{Pb}^1 = \gamma_{Pb} \phi_b^1, \quad (5.6)$$

et celle diffusée par le nanotriangle comme :

$$D_{Tb}^1 = (1 - \gamma_{Pb}) \gamma_b \phi_b^1, \quad (5.7)$$

avec γ_{Pb} le coefficient de découplage de la pointe, γ_b celui du nanotriangle, et ϕ_b^1 l'intensité de la lumière se propageant à travers le DWG pour cette configuration. Il est possible d'écrire un jeu d'équations similaire lorsque la pointe est positionnée du côté de l'apex du nanotriangle (figure 5.8(b)). Nous avons :

$$D_{Tb}^2 = \gamma_b \phi_b^2 \quad (5.8)$$

et

$$D_{Pb}^2 = (1 - \gamma_b) \gamma_{Pb} \phi_b^2, \quad (5.9)$$

avec D_{Tb}^2 l'intensité de la lumière diffusée par le triangle, D_{Pb}^2 par la pointe et ϕ_b^2 l'intensité de la lumière injectée dans le DWG pour cette configuration. D'un point de vue expérimental il est important de différencier les intensités ϕ_b^1 et ϕ_b^2 . En effet, la distance entre l'extrémité de la pointe SNOM et la surface de l'échantillon est maintenue constante grâce à l'action d'un élément piézoélectrique qui modifie la hauteur de l'échantillon par l'intermédiaire d'une boucle de rétroaction. En déplaçant la pointe pour passer d'une configuration (figure 5.8(a)) à l'autre (figure 5.8(b)) la position verticale de l'échantillon change inévitablement pour que l'altitude relative entre la pointe et la surface de l'échantillon soit conservée. Ceci entraîne une modification de la tache focale du laser et donc affecte le couplage du laser dans le DWG. Pour cette raison nous devons définir deux intensités distinctes ϕ_b^1 et ϕ_b^2 pour chacune de ces deux configurations.

A partir de ce jeu de quatre équations, il est possible d'établir l'expression des coefficients de découplage γ_{Pb} et γ_b à partir des intensités diffusées par la pointe et le nanotriangle :

$$\gamma_{Pb} = \frac{\chi_b - 1}{\chi_b + \frac{D_{Tb}^2}{D_{Pb}^2}} \quad (5.10)$$

et

$$\gamma_b = \frac{\chi_b - 1}{\chi_b + \frac{D_{Pb}^1}{D_{Tb}^1}} \quad (5.11)$$

$$\text{avec } \chi_b = \frac{D_{Pb}^1 D_{Tb}^2}{D_{Tb}^1 D_{Pb}^2}.$$

Injection de la lumière du côté de l'apex du nanotriangle

En utilisant le même raisonnement, nous allons exprimer les coefficients de découplage de la pointe SNOM et du nanotriangle lorsque la lumière est injectée du côté de l'apex (cf figures 5.8(c,d)). En faisant l'hypothèse que la pointe SNOM est symétrique, nous nous attendons à ce que le coefficient de découplage de la pointe SNOM soit le même quelle que soit sa position sur le DWG, mais aussi quelle que soit la configuration d'illumination de la nanoantenne. Afin de vérifier cette hypothèse, nous allons définir un second coefficient γ_{Pa} propre à la pointe SNOM lorsque la lumière se propage en direction de l'apex du nanotriangle. Nous pourrons par la suite comparer les deux coefficients γ_{Pa} et γ_{Pb} .

Le premier jeu d'équations avec ce type d'illumination et avec la pointe SNOM située du côté de l'apex du nanotriangle (figure 5.8(c)) s'écrit de la manière suivante :

$$D_{Pa}^1 = \gamma_{Pa} \phi_a^1 \quad (5.12)$$

pour l'intensité diffusée par la pointe et

$$D_{Ta}^1 = (1 - \gamma_{Pa}) \gamma_a \phi_a^1 \quad (5.13)$$

pour celle diffusée par le nanotriangle, avec γ_a la fraction d'intensité découplée par le nanotriangle et ϕ_a^1 l'intensité au sein du DWG dans cette configuration d'illumination.

Lorsque la pointe est positionnée du côté de la base avec le même type d'illumination (figure 5.8(d)), l'intensité diffusée par le nanotriangle et la pointe sont régies par le couple d'équations :

$$D_{Ta}^2 = \gamma_a \phi_a^2 \quad (5.14)$$

et

$$D_{P2A}^2 = (1 - \gamma_a) \gamma_{Pa} \phi_a^2. \quad (5.15)$$

Nous pouvons maintenant déduire les coefficients γ_{Pa} et γ_a en nous appuyant sur ces quatre équations. Ces coefficients s'expriment alors comme :

$$\gamma_{Pa} = \frac{\chi_a - 1}{\chi_a + \frac{D_{Ta}^2}{D_{Pa}^2}} \quad (5.16)$$

et

$$\gamma_a = \frac{\chi_a - 1}{\chi_a + \frac{D_{Pa}^1}{D_{Ta}^1}} \quad (5.17)$$

$$\text{avec } \chi_a = \frac{D_{Pa}^1 D_{Ta}^2}{D_{Ta}^1 D_{Pa}^2}.$$

5.6.2 Méthode de mesure de l'intensité diffusée par la pointe SNOM et le nanotriangle

Les équations 5.10, 5.11, 5.16, et 5.17 nous permettent donc de déterminer expérimentalement les différents coefficients $\gamma_{pb,b,pa,a}$. Pour cela il suffit de mesurer l'intensité de la lumière diffusée par la pointe et le nanotriangle lorsque le DWG est illuminé du côté de l'apex, ou de la base, en fonction des différentes configurations de la pointe SNOM et du nanotriangle discutées précédemment. Pour réaliser ces mesures, le laser est focalisé sur une des extrémités du DWG de sorte à ce qu'une fraction de la lumière incidente se couple à ce dernier. La pointe SNOM est ensuite positionnée au centre du DWG, et balaye une zone de $600 \times 600 \text{ nm}^2$ sur le DWG par pas de 75 nm. Pour chaque ligne du balayage, la pointe effectue un aller-retour. Une acquisition génère donc 128 points de mesures. Pour chaque point de mesure une image est enregistrée via l'EMCCD avec un temps d'intégration de 10s.

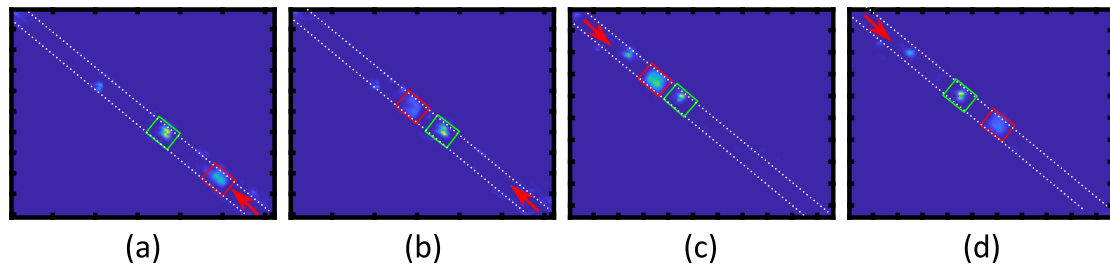


FIGURE 5.9 – Cartes de fluctuation d'intensité pour les quatre configurations d'acquisition. Les carrés rouges représentent les zones où la pointe balaye le DWG et les verts la position de la nanoantenne. Les traits blancs marquent la position du DWG et les flèches rouges la direction de propagation de la lumière dans le DWG. (a) La lumière se propage vers la base du nanotriangle et la pointe est située du même côté. (b) Même configuration d'illumination que (a) mais cette fois-ci la pointe SNOM est positionnée du côté de l'apex de l'antenne. (c) La lumière se propage vers l'apex de l'antenne et la pointe est située du même côté. (d) Même direction de propagation de la lumière que (c) avec la pointe située du côté de la base du nanotriangle.

Les cartes de la figure 5.9 représentent les fluctuations d'intensité obtenues pour les quatre configurations de mesures. Ces fluctuations d'intensité sont déterminées à partir des données acquises par la caméra en calculant la déviation standard sur le jeu de 128 images associées à une acquisition. Grâce à cette représentation, il est possible de mettre en évidence les zones où la pointe SNOM est déplacée (rectangles rouges) ainsi que la position de la nanoantenne sur le DWG (rectangles verts). La carte 5.9(a) est obtenue dans la configuration où l'injection de la lumière dans le DWG se fait du côté de la base et la pointe SNOM balaye une zone située du côté de la base du nanotriangle. La carte 5.9(b) correspond au jeu de mesures obtenu pour une même illumination, mais avec la pointe positionnée du côté de l'apex de la nanostructure. Les cartes 5.9(c,d) correspondent respectivement aux mêmes positions de la pointe SNOM par rapport à l'antenne que pour les images 5.9(a,b) à la différence près que la lumière

est injectée du côté de l'apex du nanotriangle.

Estimer les coefficients de découplage nécessite une mesure précise de l'intensité rayonnée par la pointe SNOM et le nanotriangle. Pour obtenir une valeur fiable de cette intensité, un ajustement paramétrique gaussien est d'abord réalisé sur la tache de diffraction correspondant à la nanoantenne, puis un second sur celle de la pointe SNOM. De cette manière, il est possible d'estimer la valeur de l'intensité diffusée par les deux structures pour chacune des images enregistrées par la caméra. L'intensité mesurée par cette méthode est ensuite calculée à l'échelle d'une ligne de balayage correspondant à un aller/retour de la pointe SNOM en prenant la valeur médiane de 16 points de mesures. Nous obtenons donc au final 8 points de mesure de l'intensité rayonnée par la pointe SNOM et le nanotriangle pour chacune des quatre configurations présentées sur les figures 5.8 et 5.9.

5.6.3 Résultats expérimentaux

Nous allons maintenant présenter les mesures de l'intensité diffusée par l'antenne et par la pointe SNOM pour les quatre configurations. Les mesures sont réalisées sur un DWG d'environ $1 \mu\text{m}$ de largeur sur lequel est déposé un nanotriangle d'or avec une base et une longueur de taille nominale 500 nm. Le DWG est illuminé avec un faisceau laser de longueur d'onde de 600 nm qui est focalisé sur l'une des deux extrémités du DWG.

Le graphique 5.10(a) répertorie les mesures de l'intensité rayonnée par la nanoantenne d'or et la pointe SNOM dans le cas où le faisceau laser est focalisé sur l'extrémité du guide du côté de la base de nanotriangle. Les courbes bleues et rouges correspondent respectivement à l'intensité de la lumière diffusée par la pointe SNOM et le nanotriangle lorsque la pointe SNOM est positionnée du côté de la base de l'antenne. Ces données montrent que dans cette configuration le nanotriangle diffuse plus de lumière que la pointe. Il en va de même lorsque la pointe SNOM (courbe violette) est positionnée du côté de l'apex de la structure plasmonique (courbe jaune). Le même comportement est observé sur le graphique 5.10(b) qui représente l'intensité de la lumière diffusée par la pointe et le nanotriangle lorsque la lumière est injectée du côté de l'apex du nanotriangle.

Grâce à ces différentes mesures d'intensité, nous pouvons maintenant estimer les coefficients de découplage $\gamma_{P_b, b, P_a, a}$ à partir des équations 5.10, 5.11, 5.16, et 5.17. Le graphique 5.10(c) représente les différentes valeurs des coefficients de découplage calculées à partir des mesures d'intensité que nous venons de présenter. Les deux courbes en pointillés expriment les valeurs des coefficients de découplage associés à la pointe SNOM lorsque la lumière se propage en direction du nanotriangle (courbe verte γ_{P_b}) ou vers son apex (courbe rouge γ_{P_a}). De ces deux courbes nous pouvons extraire la valeur moyenne des coefficients $\gamma_{P_b} = 0.13 \pm 0.04$ et $\gamma_{P_a} = 0.12 \pm 0.03$. La concordance entre ces deux valeurs nous permet de valider l'hypothèse selon laquelle la pointe SNOM diffuse la même fraction de lumière quelle que soit sa position sur le DWG. En effet, comme les mesures des coefficients de découplage associés à la pointe

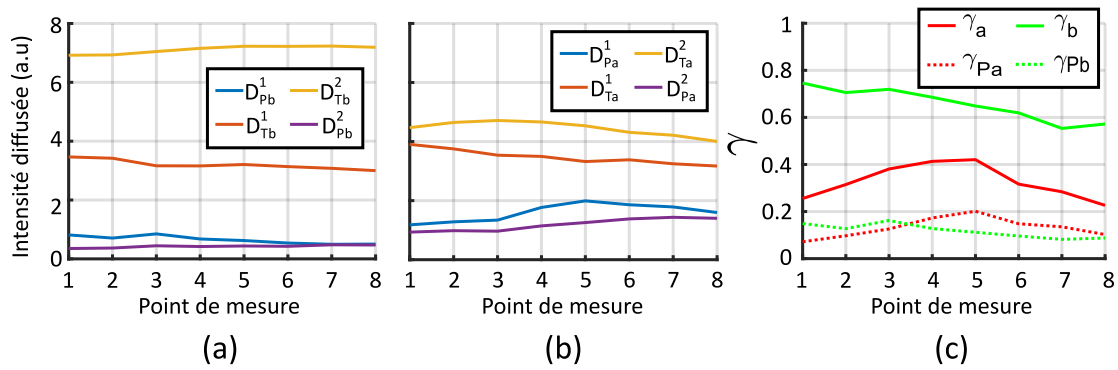


FIGURE 5.10 – (a) Intensité diffusée par l’antenne optique et la pointe SNOM lorsque la lumière se propage en direction de la base du nanotriangle. (b) Même chose mais avec la lumière se propageant en direction de l’apex du nanotriangle. (c) Valeur expérimentale des coefficients de découplage de l’antenne et de la pointe en tungstène.

SNOM sont similaires et ne dépendent pas de la direction de propagation de la lumière, nous pouvons conclure qu’ils sont également indépendants de la position de la pointe sur le DWG.

Contrairement aux coefficients associés à la pointe SNOM, ceux propres au nanotriangle dépendent de la direction de propagation de la lumière dans le DWG. En effet, lorsque la lumière se propage en direction de la base du nanotriangle, le coefficient de découplage de l’antenne vaut en moyenne $\gamma_b = 0.66 \pm 0.07$, contre $\gamma_a = 0.33 \pm 0.07$ lorsque la lumière est injectée du côté de l’apex. La lumière est donc moins diffusée par le nanotriangle avec ce type d’illumination. Ces observations sont en accord avec les simulations présentées dans la partie 5.3.3 où l’on a étudié la directivité de ce type d’antenne couplée à un dipôle. En effet, à travers ces simulations nous avons montré qu’un dipôle rayonnant au niveau l’apex de l’antenne voit la majorité de sa puissance injectée dans le DWG du côté de la base du nanotriangle. Par réciprocité des équations de Maxwell, il est donc cohérent de mesurer un coefficient de diffusion de l’antenne plus important lorsque cette dernière est illuminée par sa base et plus faible dans le cas contraire. Ces mesures permettent donc de mettre en avant les propriétés de directivité de la lumière liées à ce type de nanoantenne optique.

Il faut souligner que certaines des hypothèses utilisées pour établir les systèmes d’équations développés au cours de ce chapitre sont relativement fortes, notamment celle négligeant les pertes induites par les défauts du DWG qui conduit à une surestimation des valeurs des coefficients de découplage de la pointe SNOM et de l’antenne. Néanmoins, cette méthode de caractérisation, permet de rendre compte de façon astucieuse de la directivité de ce type d’antenne de manière qualitative et cela sans trop risquer d’endommager le DWG ou l’antenne plasmonique.

5.7 Conclusion

Nous avons donc pu développer et étudier un système optique hybride constitué d'un guide d'onde optique diélectrique planaire en TiO_2 sur lequel est déposé un nanotriangle en or. Le nanotriangle joue le rôle d'antenne optique et permet de coupler efficacement le rayonnement d'un émetteur à travers le DWG. De plus, la nature diélectrique du DWG et ses propriétés de confinement de la lumière rendent possible le guidage, avec de faibles pertes, de la lumière couplée dans le DWG. Grâce à ce genre de composant optique il est donc envisageable de coupler deux émetteurs fluorescents sur des grandes distances en utilisant l'un comme émetteur et le second comme récepteur.

Les dimensions optimales du nanotriangle ont été déduites grâce à des simulations FDTD en maximisant la fraction de puissance couplée dans le DWG et la directivité de la structure plasmonique pour une longueur d'onde située autour de 600 nm. Ces simulations ont montré que pour un nanotriangle de 500 nm de base et de hauteur, jusqu'à 30% de la puissance cédée par un dipôle peut être couplée dans le DWG. De plus, le rayonnement du dipôle injecté dans le DWG présente une très forte directivité. La majeure partie de la lumière couplée au DWG se propage en effet principalement du côté de la base du nanotriangle.

Grâce à une collaboration avec l'UTT de Troyes deux échantillons de DWG hybrides ont pu être produits par lithographie électronique. Plusieurs stratégies de mesure ont été essayées pour caractériser le DWG hybride. Le nano-positionnement d'un émetteur par l'intermédiaire d'un f-SNOM s'est avéré périlleux et dangereux pour l'intégrité du système hybride. Comme nous possédions un nombre limité d'échantillons nous avons donc opté pour une méthode de caractérisation moins invasive. Cette technique de caractérisation est basée sur la mesure dans différentes configurations de l'intensité diffusée par le nanotriangle et par une pointe SNOM en tungstène utilisée comme mesure de référence, ce qui permet d'extraire les coefficients de découplage du nanotriangle. Cette méthode de caractérisation a permis de mettre en évidence les propriétés de directionnalité de ce type d'antenne optique de manière qualitative.

Pour caractériser ce type d'échantillon via des mesures à l'échelle de l'émetteur unique, il serait envisageable d'utiliser des techniques de photopolymérisation [EL AHRACH et collab., 2007] pour réaliser un nano-positionnement d'émetteur fluorescent. Grâce à un positionnement précis d'un émetteur et d'un récepteur, il serait envisageable de réaliser un transfert d'énergie entre ces deux fluorophores sur des distances de plusieurs dizaines de micromètres.

5.8 Références

BELTRAN MADRIGAL, J. 2017, «Integration of a single photon source on a planar dielectric waveguide», *Université Technologique de Troyes*, p. 96–103. 124

- BERNAL ARANGO, F., A. KWADRIN et A. F. KOENDERINK. 2012, «Plasmonic antennas hybridized with dielectric waveguides», *ACS nano*, vol. 6, n° 11, p. 10 156–10 167. [123](#)
- BOUCHET, D., D. CAO, R. CARMINATI, Y. DE WILDE et V. KRACHMALNICOFF. 2016, «Long-range plasmon-assisted energy transfer between fluorescent emitters», *Physical review letters*, vol. 116, n° 3, p. 037 401. [121](#)
- BOUCHET, D., E. LHUILLIER, S. ITHURRIA, A. GULINATTI, I. RECH, R. CARMINATI, Y. DE WILDE et V. KRACHMALNICOFF. 2017, «Correlated blinking of fluorescent emitters mediated by single plasmons», *Physical Review A*, vol. 95, n° 3, p. 033 828. [121](#)
- CHANG, D. E., V. VULETIĆ et M. D. LUKIN. 2014, «Quantum nonlinear optics—photon by photon», *Nature Photonics*, vol. 8, n° 9, p. 685. [120](#)
- CROZIER, K., A. SUNDARAMURTHY, G. KINO et C. QUATE. 2003, «Optical antennas : Resonators for local field enhancement», *Journal of applied physics*, vol. 94, n° 7, p. 4632–4642. [126](#)
- CURTO, A. G., G. VOLPE, T. H. TAMINIAU, M. P. KREUZER, R. QUIDANT et N. F. VAN HULST. 2010, «Unidirectional emission of a quantum dot coupled to a nanoantenna», *Science*, vol. 329, n° 5994, p. 930–933. [123](#)
- EL AHRACH, H. I., R. BACHELOT, A. VIAL, G. LÉRONDEL, J. PLAIN, P. ROYER et O. SOPPERA. 2007, «Spectral degeneracy breaking of the plasmon resonance of single metal nanoparticles by nanoscale near-field photopolymerization», *Physical review letters*, vol. 98, n° 10, p. 107 402. [140](#)
- HE, X., L. YANG et T. YANG. 2011, «Optical nanofocusing by tapering coupled photonic-plasmonic waveguides», *Optics express*, vol. 19, n° 14, p. 12 865–12 872. [122](#), [124](#)
- KOSAKO, T., Y. KADOYA et H. F. HOFMANN. 2010, «Directional control of light by a nano-optical yagi-uda antenna», *Nature Photonics*, vol. 4, n° 5, p. 312. [123](#)
- KRACHMALNICOFF, V., D. CAO, A. CAZÉ, E. CASTANIÉ, R. PIERRAT, N. BARDOU, S. COLLIN, R. CARMINATI et Y. DE WILDE. 2013, «Towards a full characterization of a plasmonic nanostructure with a fluorescent near-field probe», *Optics express*, vol. 21, n° 9, p. 11 536–11 545. [131](#)
- LI, J., N. VERELLEN, D. VERCRUYSSSE, T. BEARDA, L. LAGAE et P. VAN DORPE. 2016, «All-dielectric antenna wavelength router with bidirectional scattering of visible light», *Nano letters*, vol. 16, n° 7, p. 4396–4403. [122](#)
- LODAHL, P. 2017, «Quantum-dot based photonic quantum networks», *Quantum Science and Technology*, vol. 3, n° 1, p. 013 001. [121](#)

- LUO, Y., M. CHAMANZAR et A. ADIBI. 2013, «Compact on-chip plasmonic light concentration based on a hybrid photonic-plasmonic structure», *Optics express*, vol. 21, n° 2, p. 1898–1910. [122](#), [124](#)
- LUO, Y., M. CHAMANZAR, A. APUZZO, R. SALAS-MONTIEL, K. N. NGUYEN, S. BLAIZE et A. ADIBI. 2015, «On-chip hybrid photonic–plasmonic light concentrator for nanofocusing in an integrated silicon photonics platform», *Nano letters*, vol. 15, n° 2, p. 849–856. [122](#), [124](#)
- NORTHUP, T. et R. BLATT. 2014, «Quantum information transfer using photons», *Nature photonics*, vol. 8, n° 5, p. 356. [120](#)
- SALAS-MONTIEL, R., M. BERTHEL, J. BELTRAN-MADRIGAL, S. HUANT, A. DREZET et S. BLAIZE. 2017, «Local density of electromagnetic states in plasmonic nanotapers : spatial resolution limits with nitrogen-vacancy centers in diamond nanospheres», *Nanotechnology*, vol. 28, n° 20, p. 205 207. [124](#)
- SARKAR, S., V. GUPTA, M. KUMAR, J. SCHUBERT, P. T. PROBST, J. JOSEPH et T. A. KÖNIG. 2019, «Hybridized guided-mode resonances via colloidal plasmonic self-assembled grating», *ACS applied materials & interfaces*, vol. 11, n° 14, p. 13 752–13 760. [124](#)
- SUN, C., M. T. WADE, Y. LEE, J. S. ORCUTT, L. ALLOATTI, M. S. GEORGAS, A. S. WATERMAN, J. M. SHAINLINE, R. R. AVIZIENIS, S. LIN et collab.. 2015, «Single-chip microprocessor that communicates directly using light», *Nature*, vol. 528, n° 7583, p. 534. [120](#)
- VASISTA, A. B. et G. P. KUMAR. 2016, «Quantum emitter coupled to plasmonic nanotriangle : Spatially dependent emission and thermal mapping», *Optics Communications*, vol. 381, p. 227–233. [124](#)
- VERCRUYSSSE, D., P. NEUTENS, L. LAGAE, N. VERELLEN et P. VAN DORPE. 2017, «Single asymmetric plasmonic antenna as a directional coupler to a dielectric waveguide», *ACS Photonics*, vol. 4, n° 6, p. 1398–1402. [122](#)
- VERCRUYSSSE, D., Y. SONNEFRAUD, N. VERELLEN, F. B. FUCHS, G. DI MARTINO, L. LAGAE, V. V. MOSHCHALOV, S. A. MAIER et P. VAN DORPE. 2013, «Unidirectional side scattering of light by a single-element nanoantenna», *Nano letters*, vol. 13, n° 8, p. 3843–3849. [122](#)
- VERCRUYSSSE, D., X. ZHENG, Y. SONNEFRAUD, N. VERELLEN, G. DI MARTINO, L. LAGAE, G. A. VANDENBOSCH, V. V. MOSHCHALOV, S. A. MAIER et P. VAN DORPE. 2014, «Directional fluorescence emission by individual v-antennas explained by mode expansion», *Acs Nano*, vol. 8, n° 8, p. 8232–8241. [122](#)
- VERTCHENKO, L., N. AKOPIAN et A. V. LAVRINENKO. 2019, «Epsilon-near-zero grids for on-chip quantum networks», *Scientific reports*, vol. 9, n° 1, p. 6053. [121](#)

WANG, D., H. KELKAR, D. MARTIN-CANO, D. RATTENBACHER, A. SHKARIN, T. UTIKAL, S. GÖTZINGER et V. SANDOGHDAR. 2019, «Turning a molecule into a coherent two-level quantum system», *Nature Physics*, vol. 15, n° 5, p. 483. [120](#)

YAKUBOVSKY, D. I., A. V. ARSENIN, Y. V. STEBUNOV, D. Y. FEDYANIN et V. S. VOLKOV. 2017, «Optical constants and structural properties of thin gold films», *Optics express*, vol. 25, n° 21, p. 25 574–25 587. [124](#)

Conclusion et perspectives

Au cours de cette thèse nous nous sommes intéressés à la caractérisation de l'interaction rayonnement-matière au voisinage de nanostructures par l'intermédiaire de deux méthodes de microscopie de fluorescence super-résolue. L'une est basée sur l'utilisation d'une sonde fluorescente à balayage (f-SNOM) et l'autre sur une technique de microscopie de molécule unique. Grâce à ces méthodes expérimentales, nous avons pu investiguer la dépendance de l'intensité et du taux d'émission de fluorescence des émetteurs à leur environnement. Comme nous l'avons vu, cette mesure revient à estimer la LDOS à la position de l'émetteur considéré. Même si la LDOS peut être exprimée en termes d'autres observables physiques telles que la puissance rayonnée par un émetteur, le taux d'émission spontanée d'un fluorophore est la grandeur la plus robuste pour estimer la LDOS car elle dépend uniquement des propriétés de l'environnement mais ne dépendent pas du diagramme de rayonnement de l'émetteur ou de l'efficacité de détection du dispositif expérimental. Pour réaliser ce type de mesure, des détecteurs de photon unique (SPADs) connectés à des modules de corrélation temporelle (TCSPC) ont été utilisés.

Dans la première partie du manuscrit, nous avons présenté en détail une méthode de microscopie super-résolue de durée de vie de molécules uniques que nous avons mise au point. S'inscrivant dans la continuité du travail de thèse de Dorian Bouchet (Institut Langevin), nous avons construit *ex novo* un dispositif expérimental qui permet de mesurer simultanément une à une la position de molécules recouvrant la surface d'un échantillon par l'intermédiaire d'une caméra EMCCD et leur taux d'émission spontanée via une matrice linéaire de SPADs. Grâce au caractère photo-activable des molécules utilisées, il est possible de réaliser ce genre de mesure sur un échantillon composé d'un très grand nombre de molécules en champ large avec une résolution allant bien au delà de la limite de diffraction. Cette méthode novatrice, facilement implémentable, permet de sonder les propriétés électromagnétiques d'un échantillon sans réaliser de balayage et n'est pas invasive contrairement à des mesures réalisées avec un f-SNOM.

Grâce au travail mené pendant cette thèse nous avons pu augmenter de manière significative le champ de vue de $1 \mu\text{m}^2$ à plus de $10 \mu\text{m}^2$. La disposition en ligne des SPADs impose la forme de la zone imagée sur l'échantillon. Ceci représente un avantage pour imager des structures présentant un fort rapport d'aspect comme nous avons pu le voir dans le chapitre

3 avec un échantillon composé de nanofils d'argent déposés sur une surface de verre. Toutefois, cette disposition des détecteurs est limitante pour généraliser la technique vers l'étude de structures plus complexes et étendues comme par exemple des structures biologiques. Pour palier ce problème, nous travaillons actuellement sur une technique permettant de modifier la forme du champ de vue de la ligne de SPADs à l'aide d'un faisceau de fibres optiques (*optical fiber bundle*). A une extrémité, les fibres optiques sont alignées les unes par rapport aux autres et espacées de quelques micromètres. A l'autre extrémité, elles sont assemblées suivant une géométrie que l'on peut choisir. Il est donc possible de former une image de l'échantillon sur cette deuxième extrémité et de coupler chaque SPAD de la MLS à une des fibres du faisceau situées à l'autre extrémité. Grâce à cette astuce expérimentale, nous ne serons plus limités à l'image d'une ligne et nous pourrons imager une région de forme quelconque. Un montage comprenant un faisceau de fibres commercial est actuellement en cours de test. La possibilité d'ajuster la forme du champ de vue de l'expérience laisse entrevoir des perspectives très intéressantes, notamment pour l'utilisation de cette technique expérimentale sur des échantillons biologiques pour lesquelles la structuration des systèmes étudiés peut être particulièrement complexe.

Le format des données provenant du module TCSPC a nécessité une refonte profonde des algorithmes d'acquisition et d'analyse. En effet, contrairement aux systèmes SPAD et TCSPC commerciaux qui ont été utilisés jusqu'à présent à l'Institut Langevin, le temps d'arrivée absolu des photons ne peut pas être connu. Ce dispositif ne donne accès qu'aux histogrammes de déclin de fluorescence. Ceci induit une limitation expérimentale forte. Les échelles de temps d'acquisition accessibles ne permettent pas de connaître précisément le temps effectif pendant lequel la molécule émet des photons avant de photo-blanchir. Il est donc impossible de mesurer précisément l'intensité de l'émission de fluorescence. Néanmoins, nos collaborateurs de l'Institut Polytechnique de Milan sont en train de développer un module TCSPC de nouvelle génération pour le mettre à notre disposition. Il permettra d'avoir accès directement aux temps d'arrivée absolus de chaque photon détecté sur chacun des 8 SPADs. De cette manière, il sera possible de réaliser une mesure précise de l'intensité de fluorescence et également d'extraire le temps de photo-blanchiment d'un événement unique. La combinaison de ces deux informations ouvre la voie vers une caractérisation plus fine et encore plus riche de l'interaction rayonnement-matière en donnant par exemple accès à la mesure de la composante radiative du taux de déclin. De plus, la connaissance des temps absolus d'arrivée des photons sur chaque SPAD ouvre la possibilité de mesurer les corrélations des temps d'arrivée entre plusieurs SPADs. Ces nouvelles fonctionnalités laissent présager des applications intéressantes pour les thématiques de couplage entre émetteur et récepteur décrites dans le chapitre 5.

Dans le chapitre 3, nous avons discuté d'un effet systématique introduisant une erreur sur la localisation des molécules fluorescentes obtenue en effectuant un ajustement gaussien sur chaque PSF. L'interaction des molécules avec une structure plasmonique peut modifier la

forme de leurs PSFs et donc rendre caduque l'utilisation d'un ajustement gaussien. Pour pallier ce problème nous avons proposé une méthode qui permet de retrouver la position réelle de classes de molécules selon leur taux d'émission et la taille de leur PSF. Nous envisageons d'appliquer cette méthode pour relocaliser les molécules à leur juste position de manière individuelle et donc de passer outre l'effet de mirage plasmonique induit par la structure plasmonique, effet qui représente à l'heure actuelle une limitation forte de notre dispositif expérimental.

D'autres pistes peuvent également être envisagées. En effet, un simple modèle de dipôle induit peut expliquer la déformation de la PSF au voisinage d'un nanofil d'argent. Selon ce modèle, le rayonnement collecté en champ lointain est le résultat de l'interférence entre le dipôle et son image. L'intensité relative et la distance entre ces deux sources, ainsi que leur déphasage vont donc impacter la forme de la PSF. En élaborant un système d'ajustement paramétrique basé sur le calcul analytique du rayonnement de deux dipôles en champ lointain et en jouant sur leur orientation, intensité et distance respective ainsi que sur leur déphasage, il est envisageable de générer une PSF plus en adéquation avec les résultats expérimentaux et donc par extension de mesurer la position réelle des molécules. L'implémentation de ce type de modèle requiert plusieurs paramètres d'ajustement et nécessite donc de disposer de données expérimentales de très bonne qualité avec notamment une PSF bien échantillonnée et un bon rapport signal sur bruit. Une autre approche pour réaliser des ajustements paramétriques plus en accord avec la réalité expérimentale serait d'utiliser des algorithmes d'apprentissage automatique (*Deep learning*). A partir d'une collection de PSFs et de taux d'émission spontanée générés par des simulations FDTD, il est possible d'entraîner ce genre d'algorithmes. Grâce à cette phase d'apprentissage, l'algorithme serait alors capable de réaliser des ajustements paramétriques empiriques sur des données expérimentales et de fournir des résultats proches, sinon exacts, sur la localisation des molécules fluorescentes.

Une seconde partie de ce manuscrit est consacré à l'étude de l'interaction rayonnement-matière au voisinage de guides d'onde diélectriques et hybrides (diélectrique/plasmonique). Dans le chapitre 4 nous avons discuté de la mesure, à l'aide d'un f-SNOM, de l'intensité du champ autour d'une nanofibre de silice sur des distances allant de la centaine de nanomètres à plusieurs micromètres. Grâce à cette expérience nous avons pu mettre en évidence le jeu d'interférences entre le champ exciteur et celui diffusé par la nanofibre pour deux polarisations d'excitation différentes : l'une perpendiculaire et l'autre parallèle à l'axe de la nanofibre. L'excellent accord entre nos résultats expérimentaux et des simulations basées sur la théorie de la diffusion de Mie, nous a permis de caractériser les différents facteurs de dérive de notre système. La distance critique entre la pointe f-SNOM et la nanofibre en dessous de laquelle la nanofibre est capturée a également pu être estimée.

Avec ce dispositif expérimental, nous avons également réussi à déposer une bille fluorescente sur la nanofibre. Des mesures du taux d'émission spontanée ont montré que l'émetteur se désexcite 1.5 fois plus rapidement sur la nanofibre que sur une lamelle de verre. Cette

modification modérée du taux de déclin est à attribuer à la grande taille (100 nm) de l'émetteur fluorescent utilisé. Le couplage de l'émetteur au mode guidé HE_{11} induit un canal de désexcitation supplémentaire qui se traduit par l'augmentation du taux d'émission spontanée de la bille fluorescente. Cette observation démontre la possibilité de réaliser un nano-positionnement d'émetteurs fluorescents sur la nanofibre et d'utiliser cette dernière comme support de couplage pour guider la lumière de fluorescence sur de longues distances.

Des études ont montré que la fraction de lumière couplée dans une direction de la nanofibre dépasse difficilement la dizaine de pourcent. Pour améliorer le taux de couplage d'un émetteur à la nanofibre, et de manière plus générale à un guide d'onde diélectrique, il est envisageable d'utiliser une nanoantenne pour rediriger la lumière de fluorescence et optimiser son couplage dans le guide d'onde. Ce type de dispositif optique présente un grand intérêt pour réaliser un transfert d'énergie entre deux sources fluorescentes, l'une jouant le rôle d'émetteur et l'autre de récepteur. Dans le chapitre 5, nous avons étudié expérimentalement et numériquement un système hybride composé d'un guide d'onde diélectrique planaire en TiO_2 sur lequel est déposée par lithographie électronique une nanoantenne d'or de forme triangulaire. En se basant sur les contraintes imposées par la technique de fabrication utilisée et sur des simulations FDTD, nous avons montré qu'un nanotriangle de 500 nm de base et de hauteur permet d'injecter jusqu'à 30% de la puissance rayonnée par un dipôle dans une direction privilégiée du guide d'onde pour des longueurs proches de 600 nm. L'efficacité de couplage du rayonnement d'un émetteur dans le guide d'onde via la nanoantenne est reliée à l'adaptation d'impédance optique entre les deux structures, et donc à l'indice effectif, ainsi qu'à l'épaisseur du DWG. En augmentant l'épaisseur du guide d'onde et son indice optique, il est possible de maximiser le couplage de l'émetteur à la structure hybride. Des simulations présentées en annexe C ont montré que le coefficient de couplage peut pratiquement être doublé si l'épaisseur du guide d'onde en TiO_2 est fixée à 200 nm, ce qui revient à augmenter son indice optique de 10%. Il est envisageable d'atteindre ces spécifications techniques en travaillant sur les procédés de dépôt qui permettront d'obtenir cette gamme d'épaisseur et d'utiliser des méthodes de recuit du substrat pour ajuster l'indice optique du TiO_2 .

Nous avons également essayé de nano-positionner une bille fluorescente au voisinage du nanotriangle afin de mesurer le taux de couplage de cet émetteur dans le guide d'onde optique. Il ne s'agit que de premiers essais, mais à terme il serait sans doute plus intéressant de déposer un émetteur quantique sur la structure. Comme notre technique s'est avérée être dangereuse pour l'intégrité des structures, nous pensons que des techniques de photopolymérisation pourraient être prometteuses. La photopolymérisation consiste à déposer une résine mélangée à des émetteurs quantiques et à illuminer des zones précises de l'échantillon de manière à changer localement les propriétés chimiques du polymère. Après rinçage de l'échantillon, seules les zones qui ont été illuminées restent fixées à l'échantillon. Grâce à ces techniques de nanositionnement, nous imaginons pouvoir déposer un émetteur au niveau de l'apex d'un nanotriangle et un récepteur au voisinage d'un autre nanotriangle dis-

CONCLUSION

posé loin de l'émetteur pour réaliser un transfert d'énergie entre ces sources fluorescentes sur de grandes distances.

Annexes

Annexe A

Estimation de l'erreur sur la mesure du temps de vie

Pour estimer l'erreur sur la mesure de la durée de vie [BOUCHET \[2017\]](#); [BOUCHET et collab. \[2019\]](#) proposent un modèle basé sur le formalisme de Cramér-Rao. Cette méthode permet d'estimer la borne inférieure de la variance de l'estimateur utilisé pour évaluer une grandeur physique (comme par exemple la durée de vie). Elle prend en compte différents paramètres expérimentaux, comme le nombre de photons de fluorescence, le bruit de fond associé à une détection et l'IRF du laser. La fonction de distribution de probabilité pour le déclin de fluorescence de chaque molécule détectée est la convolution entre une mono-exponentielle et l'IRF du laser. En prenant cela en compte, nous pouvons calculer la borne de Cramér-Rao pour la durée de vie pour différents nombres de photons détectés.

La figure [A.1\(a\)](#) représente la borne de Cramér-Rao pour l'erreur relative sur la durée de vie en fonction de la durée de vie. L'incertitude sur la mesure de la durée de vie dépend du nombre de photons de fluorescence collecté par le détecteur. Comme le montrent les différentes courbes de couleur, plus le nombre de photons est important, plus l'erreur sur la mesure est faible. La figure [A.1\(b\)](#) représente l'histogramme du nombre de photons de fluorescence associés aux événements détectés par la matrice linéaire de SPADs. La valeur médiane, indiquée par la ligne rouge, est de 620 photons. L'erreur associée à cette valeur est représentée par la courbe rouge sur le graphique [A.1\(a\)](#). Ce même graphique montre que les mesures de durée de vie comprises entre 0.1 ns et 1 ns (zone jaune sur le graphique) présentent une erreur relative sur la durée de vie en dessous de 10 %.

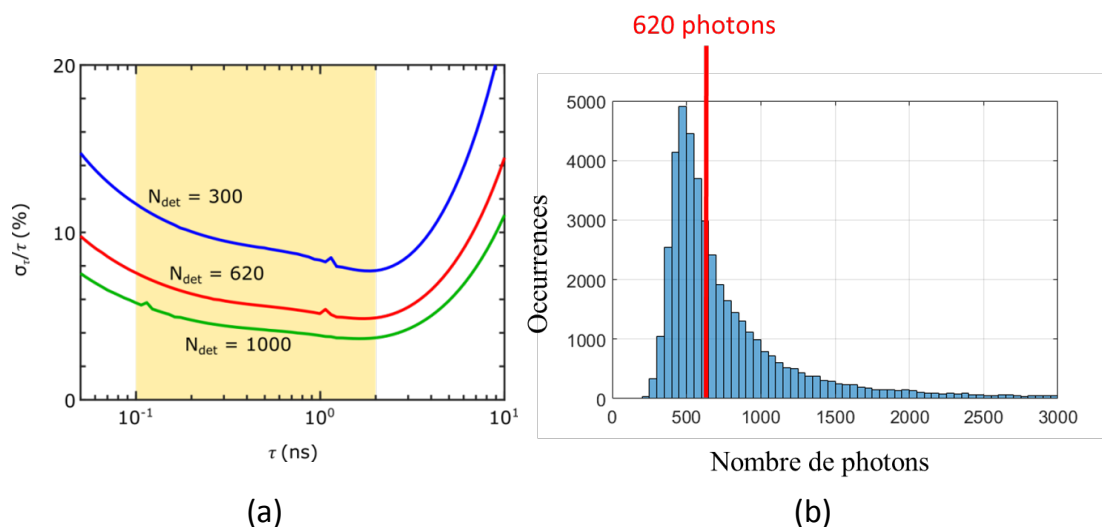


FIGURE A.1 – (a) Borne de Cramér-Rao pour l’erreur relative sur la durée de vie, en fonction de la durée de vie, pour $N_{det} = 300$ (courbe bleue), $N_{det} = 620$ (courbe rouge) et $N_{det} = 1000$ (courbe verte) photons détectés. (b) Histogramme du nombre de photons mesuré pour un ensemble de molécules par la matrice linéaire de SPADs. La ligne rouge représente le nombre de photons médian émis par les molécules.

A.1 Références

BOUCHET, D. 2017, *Plasmon-mediated energy transfer and super-resolution imaging in the near field of nanostructured materials*, thèse de doctorat, PSL Research University. [III](#)

BOUCHET, D., V. KRACHMALNICOFF et I. IZEDDIN. 2019, «Cramer-rao analysis of lifetime estimations in time-resolved fluorescence microscopy», *Optics express*, vol. 27, n° 15, p. 21 239–21 252. [III](#)

Annexe B

Puissance injectée dans le DWG en fonction de la distance à la base du nanotriangle

Les moniteurs représentés en violet sur le schéma de la figure B.1(a) permettent de mesurer la fraction de puissance injectée dans le guide d'onde diélectrique. Les moniteurs sont disposés à intervalles réguliers, le premier étant positionné à $1.5 \mu\text{m}$ de la base du nanotriangle et le dernier à $10 \mu\text{m}$. Les moniteurs sont disposés perpendiculairement à l'axe du guide d'onde de sorte à pouvoir enregistrer la puissance du mode guidé ainsi que sa composante évanescente. La fraction de puissance est calculée selon l'expression 5.1 qui normalise la puissance traversant l'un des huit moniteurs par celle cédée par le dipôle.

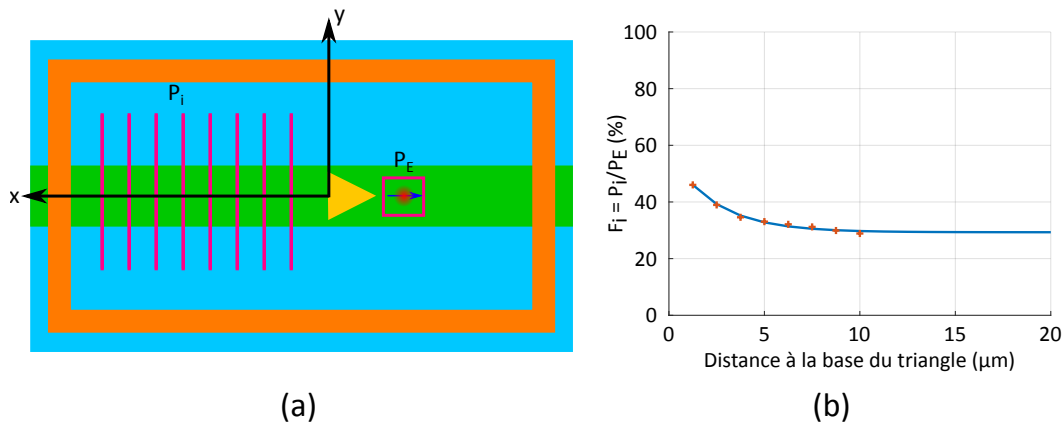


FIGURE B.1 – (a) Schéma de la simulation. Les lignes violettes représentent les moniteurs permettant de mesurer la fraction de puissance dans le guide d'onde et le carré violet la puissance cédée par le dipôle. (b) Fraction de puissance en fonction de la distance à la base du nanotriangle. Les croix oranges sont les valeurs mesurées par chacun des huit moniteurs et la ligne bleue est un ajustement paramétrique sur ces huit points de mesure.

Il apparaît sur la figure B.1(a) que le moniteur le plus proche du nanotriangle enregistre une fraction de puissance plus importante que les autres. De plus, la fraction de puissance mesurée par les moniteurs décroît en fonction de la distance de ces derniers à la base du nanotriangle, jusqu'à atteindre un plateau aux alentours de 30 %. Ce phénomène peut s'interpréter par les propriétés de directivité liées à ce type de nano-antenne. En effet, la géométrie triangulaire de cette nano-antenne lui confère la particularité d'avoir un diagramme de rayonnement très directif, orienté du côté de sa base. En plus de coupler la lumière dans le guide d'onde, une fraction de la lumière va être rayonnée en champ lointain par la nano-antenne. Les moniteurs situés à proximités de la base du nanotriangle vont alors collecter, en plus de la lumière couplée dans le guide d'onde, une partie de la lumière rayonnée en champ lointain. Les moniteurs les plus proches de la base du nanotriangle vont donc être plus sensibles à la lumière rayonnée en champ lointain par la nano-antenne et donc enregistrer une fraction de puissance plus importante que les autres. Grâce au graphique B.1(b), nous remarquons qu'un moniteur placé à 10 μm de la base de la nano-antenne n'est que très peu sensible à la lumière rayonnée par le nanotriangle en champ lointain. C'est pourquoi les résultats de simulation présentés dans le chapitre 5 et dans l'annexe C ont été modélisés avec des moniteurs positionnés à 10 μm de part et d'autre de la nano-antenne pour être sûr de ne mesurer que la fraction de puissance couplée dans le guide d'onde diélectrique.

Annexe C

Résultats des simulations pour la conception du DWG hybride

Guide d'onde de 150 nm d'épaisseur avec modèle de TiO₂ de [SARKAR et collab., 2019].

Longueur (nm)	Base (nm)	Coeff. Couplage	Longueur d'onde (nm)	Directivité (dB)
200	200	0.11	612	14.79
	350	0.13	607	22.35
	500	0.12	612	19.7
	650	0.11	622	21.3
	800	0.1	612	20.23
350	200	0.2	622	19.93
	350	0.24	622	28.94
	500	0.23	617	34.31
	650	0.23	627	31.97
	800	0.21	617	32.6
500	200	0.25	677	21.37
	350	0.29	677	29.75
	500	0.3	677	35.67
	650	0.3	677	35.37
	800	0.27	689	34.43
650	200	0.27	715	16.03
	350	0.31	715	19.95
	500	0.31	689	24.13
	650	0.31	721	24.09
	800	0.27	715	22.43
	200	0.28	743	20.64
	350	0.31	750	23.42

ANNEXE C. RÉSULTATS DES SIMULATIONS POUR LA CONCEPTION DU DWG HYBRIDE

800	500	0.3	721	22.52
	650	0.28	757	25.48
	800	0.25	765	23.9

Guide d'onde de 200 nm d'épaisseur avec modèle de TiO₂ de [STEFKE et collab., 2016]

Longueur (nm)	Base (nm)	Coeff. Couplage	Longueur d'onde (nm)	Directivité (dB)
200	200	0.19	683	15.21
	350	0.19	665	31.22
	500	0.21	671	27.93
	650	0.19	677	27.41
	800	0.19	683	28.64
350	200	0.37	683	26.45
	350	0.41	677	39.13
	500	0.41	689	44.83
	650	0.38	683	47.81
	800	0.35	683	41.94
500	200	0.48	689	30.72
	350	0.51	689	42.15
	500	0.5	689	45.2
	650	0.48	689	41.7
	800	0.45	689	43.36
650	200	0.47	702	22.69
	350	0.47	702	26.25
	500	0.46	702	30.16
	650	0.42	702	28.56
	800	0.4	695	28.2
800	200	0.4	721	19.04
	350	0.39	789	23.67
	500	0.36	814	21.87
	650	0.34	823	21.74
	800	0.31	850	18.38

C.1 Références

- SARKAR, S., V. GUPTA, M. KUMAR, J. SCHUBERT, P. T. PROBST, J. JOSEPH et T. A. KÖNIG. 2019, «Hybridized guided-mode resonances via colloidal plasmonic self-assembled grating», *ACS applied materials & interfaces*, vol. 11, n° 14, p. 13 752–13 760. [VII](#)
- SIEFKE, T., S. KROKER, K. PFEIFFER, O. PUFFKY, K. DIETRICH, D. FRANTA, I. OHLÍDAL, A. SZEGHALMI, E.-B. KLEY et A. TÜNNERMANN. 2016, «Materials pushing the application limits of wire grid polarizers further into the deep ultraviolet spectral range», *Advanced Optical Materials*, vol. 4, n° 11, p. 1780–1786. [VIII](#)

RÉSUMÉ

Au cours de cette thèse nous nous sommes intéressés à l'interaction de la lumière avec l'environnement aux échelles nanométriques. Les candidats idéaux pour sonder cette interaction en nanophotonique sont les émetteurs fluorescents car leurs propriétés d'émission sont fortement dépendantes de l'environnement qui les entoure. Le taux d'émission spontanée de ces émetteurs donne notamment une mesure directe de la densité d'états électromagnétiques et constitue à ce titre le paramètre le plus adéquat pour rendre compte de ces interactions.

Cette thèse est organisée en deux parties. La première porte sur le développement et l'utilisation d'une technique de microscopie super-résolue en champ large du taux de désexcitation de molécules uniques. Cette technique se base sur la mesure simultanée du taux de désexcitation de chaque molécule par une matrice linéaire de détecteurs de photons uniques et de leur position par une caméra amplifiée. Les résultats expérimentaux obtenus en champ proche d'un nanofil d'argent ont été analysés et comparés à des simulations numériques. Grâce à cette analyse, l'effet de mirage plasmonique induit par le nanofil a pu être mis en évidence. De plus, en effectuant une sélection sur le taux d'émission spontanée mesuré pour chaque molécule et la taille de la tache de diffraction correspondante, il a été possible de déduire l'orientation du moment dipolaire des molécules et leur position réelle sur l'échantillon.

La seconde partie de cette thèse a été consacrée à l'étude de guides d'ondes optiques nanostructurés. En particulier, l'influence d'une nanofibre en silice sur la distribution d'un champ optique généré par un faisceau laser collimaté a été mise en évidence expérimentalement grâce à une sonde fluorescente à balayage. Les données recueillies sont en très bon accord avec des simulations basées sur la théorie de Mie. De plus, une structure de guide d'ondes hybride diélectrique/plasmonique a été étudiée. Cette structure a pour objectif d'optimiser le couplage de la fluorescence d'un émetteur fluorescent dans un guide d'onde optique diélectrique par l'intermédiaire d'une antenne plasmonique. Des simulations ont permis d'aboutir à un design ainsi qu'à la réalisation d'un premier échantillon. Une approche expérimentale est également proposée pour la caractérisation de ce dispositif optique.

MOTS CLÉS

Interaction lumière/matière ; Microscopie de super-résolution en molécule unique; Durée de vie de fluorescence ; Plasmonique ; Nano-antennes ; Guide d'onde ; Densité locale d'états électromagnétiques.

ABSTRACT

In this thesis we study the interaction of light with the environment at the nanoscale. Fluorescent emitters are ideal candidates to probe this interaction because their emission properties strongly depend on the surrounding environment. The emitters' decay rate is directly linked to the local density of electromagnetic states, which is therefore the most appropriate parameter to quantify the interactions with the environment.

This thesis is organized into two parts. The first one concerns the development and the implementation of a wide-field super-resolved lifetime microscopy technique at the single molecule level. This technique is based on the simultaneous measurement of single-molecules' decay rate with a linear matrix of single photon detectors and of their position with an amplified camera. Experimental results obtained in the near-field of a silver nanowire are analyzed and compared with numerical simulations. Such comparison provides the evidence of the plasmonic mirage effect induced by the presence of the nanowire. Moreover we show that, by making a selection on the measured decay rate and on the size of the corresponding point spread function, it is possible to deduce the orientation of the molecular dipole moments and their real position on the sample.

The second part of this thesis is focused on the study of nanostructured optical waveguides. We report on the measurement, performed with a fluorescent scanning near-field microscope, of the field generated around a tapered silica nanofiber by a collimated beam perpendicular to it. The results are in very good agreement with numerical simulations based on Mie theory. We also study a dielectric/plasmonic hybrid waveguide. A plasmonic nanoantenna fabricated on top of a dielectric optical waveguide enhances the coupling of the emission of a fluorescent emitter to the guided mode. The design and fabrication of an optimized device are achieved thanks to numerical simulations. An experimental approach is also proposed to characterize this device.

KEYWORDS

Light-matter interaction ; Single-molecule localization microscopy; Fluorescence lifetime ; Plasmonics ; Nano-antenna ; Waveguide ; Local density of electromagnetic states.