



HAL
open science

La microscopie électro-optique Etude, conception, applications

Timothée Toury

► **To cite this version:**

Timothée Toury. La microscopie électro-optique Etude, conception, applications. Physique Atomique [physics.atom-ph]. École normale supérieure de Cachan - ENS Cachan, 2005. Français. NNT : . tel-00011752

HAL Id: tel-00011752

<https://theses.hal.science/tel-00011752>

Submitted on 3 Mar 2006

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.

La microscopie électro-optique

Etude, conception, applications

Timothée TOURY

Thèse de Doctorat de l'Ecole normale supérieure de Cachan

présentée pour obtenir le grade de
Docteur de l'Ecole normale supérieure de Cachan
spécialité Sciences Physiques

par

Timothée TOURY

La microscopie électro-optique Etude, conception, applications

Soutenue publiquement le 6 décembre 2005 devant le jury :

Antigoni ALEXANDROU	Présidente
François AMBLARD	
Claude BOCCARA	Rapporteur
Sophie BRASSELET	
Pierre MEYRAND	Membre invité
Hervé RIGNEAULT	Rapporteur
Joseph ZYSS	Directeur de thèse

À Aurélie,

À ma famille, d'ici et d'ailleurs.

IBETIS VCIV. ANDECARI BIHETE.

Essays

Devise de l'École du génie de Mézières où l'on décida, pour la première fois, d'enseigner simultanément les sciences et les « métiers » dans le but de donner aux élèves la capacité de concevoir et d'exploiter rationnellement de nouvelles techniques.

Ce nouvel enseignement fut à l'origine de l'ingénierie moderne et de la technologie.

L'école a été fermée sous la Révolution. Les enseignants et certains anciens élèves décidèrent alors de poursuivre ce qui y avait été développé en créant de nombreuses institutions parmi lesquelles on compte l'École polytechnique et l'École normale supérieure. Gaspard Monge est certainement le plus célèbre de ceux qui ont essaimé.

Les officiers de l'École du génie de Mézières furent appelés à exporter leur savoir faire hors de France. Aux tous jeunes États-Unis d'Amérique, ils fondèrent notamment l'Académie militaire de Westpoint et le Génie américain. Ce dernier garde cette devise, inscrite en français, sur son blason.

Remerciements

Je tiens à remercier particulièrement Joseph Zyss, pour m'avoir confié un sujet de thèse dans le laboratoire qu'il dirigeait et pour m'avoir laissé une très grande liberté et une très large place à la prise d'initiatives. Je n'aurai finalement presque rien retenu de ce qu'il m'était demandé de faire à l'origine ; je le remercie de ne pas m'en avoir tenu rigueur.

Je ne peux que remercier Sophie Brasselet pour avoir toujours répondu à mes questions et pour avoir été disponible presque quotidiennement. J'ai beaucoup appris de son savoir-faire en optique. Les discussions scientifiques (ou non) ont toujours été agréables et se sont déroulées dans la bonne humeur même quand le moment ne s'y prêtait pas !

Mes remerciements vont aussi à Jean-François Roch pour les quelques échanges informels et fructueux lors de ces quelques années. Il ont peut-être été trop peu nombreux.

Il en va de même pour Pierre-François Cohadon qui m'a donné grand nombre de détails sur la détection homodyne sur laquelle il a travaillé au Laboratoire Kastler-Brossel et qui a répondu à toutes mes questions à son propos.

Il me faut remercier aussi les membres du Laboratoire, de l'Institut fédératif, du Département ou de l'École qui m'ont aidé au quotidien pour la réalisation du microscope électro-optique, pour la fabrication des échantillons ou pour bien d'autres choses encore : Isabelle Ledoux, Gabriel Dutier, Olivier Alloschery, Christophe Dhenaut, Michel Dumont, Robert Pansu, Roland Hierle, Véronique Le Floch, Jean-Pierre Madrange, Christian Ollier, André Clouqueur, Bruno Le Pioufle, Laurent Griscom, Elena Ishow, Ginette Puyhaubert, Jean-Baptiste Desmoulins, François Treussard, Mélanie Lebental, Patrick Tauc, Agnès Vigne.

Un certain nombre de contacts extérieurs m'a permis de m'insérer dans cette thématique pluridisciplinaire : Jérôme Mertz, Thierry Charitat, Sigolène Lecuyer, Claude Boccara, Pierre Meyrand, Daniel Cattaert, Robert Marks, Aaron Lewis, Olivier Maury, Philippe Fossier, Murielle Amar,... Merci à eux.

Je tiens à remercier les entreprises qui, soit au travers des compétences de leurs ingénieurs, soit par une contribution financière, ont permis à l'expérience de se dérouler dans de meilleures conditions : A la semeuse SAS, Toury-Bonduelle SAS, Trioptics SA, PI (Sophie Berton), Hamamatsu (Sébastien Bouilhol). Il me faut aussi remercier les représentants des organismes

institutionnels qui par leur bienveillance ont contribué à l'avancement de ce microscope, je pense notamment à Jean-Jacques Guilleminot et à Claire Dupas.

Qui sortent de toute « catégorie », mais qui ne m'ont pas moins aidé, merci à Aurélie et Tiphaine.

Je tiens à remercier Claude Boccara et Hervé Rigneault pour avoir accepté d'être rapporteurs et Antigoni Alexandrou, François Amblard, Pierre Meyrand pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Enfin, pour toutes les activités annexes qui ont contribué à rendre ces trois années encore plus enrichissantes, je tiens à remercier (dans un ordre tout à fait aléatoire) : Kamil Fadel, Marielle Vergès, Jean-Claude Poignard, Jack Guichard, Sylvain Lefavrais, Alain de Botton, Gérard Lhommet, Michel Landau, Severine Dubroecq, Olivier Bernard, Remy Mosseri, Alain Aspect, Xavier Boute, Olivier Carmine, Alain Blanchard, Patrick Peralta, Philippe de Montenon, Eric Florentin, Anne-Emmanuelle Badel, Nicolas Schlösser, Shaul Mukamel, Hubert Krivine, Mireille Tadjeddine, Jacques Treiner, Gérard Fontaine,...

Merci à ceux que j'ai côtoyé agréablement pendant ces années à quel titre que ce soit : mes parents, ma famille, mes amis.

Je remercie enfin ceux qui ne m'en veulent pas de les avoir oubliés...

Résumé

La microscopie électro-optique est une nouvelle technique de cartographie quantitative micrométrique des champs électriques et des composantes du tenseur électro-optique d'un milieu. Techniquement, il s'agit de mesurer le déphasage engendré par effet Pockels au moyen d'un microscope confocal inclus dans un interféromètre en détection homodyne. L'échantillon doit être transparent, non linéaire quadratique et soumis à un champ électrique, intrinsèque ou appliqué. Cette thèse présente tout d'abord une étude théorique de la microscopie électro-optique. On y décrit la réalisation pratique du microscope. Les résultats obtenus sur un premier échantillon en couche polymère sont ensuite étudiés et on présente la première mesure de déphasage par effet Pockels dans une membrane phospholipidique dopée. Les perspectives d'applications à des mesures de potentiels transmembranaires sont présentées. Les difficultés technologiques qui seront rencontrées sont détaillées et des solutions sont proposées.

Mots clés : Microscopie électro-optique ; effet électro-optique ; optique non linéaire moléculaire ; biophotonique ; microscope confocal ; détection homodyne ; mesures de champs électriques ; polymères non linéaires quadratiques ; asservissement de phase optique.

Abstract

Electro-optical microscopy is a micrometric quantitative mapping technique of electrical fields and of electro-optical tensor components in a medium. The set-up is a confocal microscope included in an interferometer with homodyne detection used to record and measure weak phase shifts due to Pockels effect. The sample must be transparent, quadratically nonlinear and submitted to an intrinsic or externally applied electric field. This doctoral dissertation introduce the concept of electro-optical microscopy. The realization of the microscope is then detailed. The two dimensionnal electro-optical mapping obtained in a polymer film is discussed. Finally, we demonstrate for the first time a Pockels effect induced phase shift in a doped phospholipidic membrane. Applications perspectives to biological transmembranar potentials are presented. In conclusion, technological difficulties of this application are detailed and solutions are suggested.

Keywords : Electro-optical microscopy ; electro-optical effect ; molecular nonlinear optics ; biophotonics ; confocal microscopy ; homodyne interferometry ; electric field measurement ; poled polymers ; optical phase lock-in.

Avertissement

Pour des raisons de clarté et de lisibilité des expressions et résultats littéraux, certaines notations peuvent appeler des grandeurs différentes au cours de ce manuscrit. Cependant, elles sont systématiquement redéfinies au fil du texte à chaque fois que cela est nécessaire. Dans la mesure du possible, les notations retenues sont claires et intuitives.

Les indices minuscules renvoient aux coordonnées macroscopiques et les indices majuscules aux coordonnées microscopiques : ce choix a permis de rendre plus lisibles de nombreuses expressions.

Seul le système métrique international (SI) est utilisé.

Dans l'écriture de cosinus directeurs, la notation *cos* est souvent omise pour alléger les expressions. Ainsi, $\cos(i, j)$ est plus simplement noté (i, j) .

J'ai retenu la bibliographie en fonction de ce qu'elle apporte au sujet en question. J'ai notamment mentionné un grand nombre de thèses, quitte à les associer à des publications. Bien que les thèses soient beaucoup plus difficiles à se procurer que les articles, celles que j'ai retenues sont généralement facilement accessibles, voire même déjà en bibliothèque dans les laboratoires dont les thématiques se rapprochent de la microscopie électro-optique.

Une version pdf couleur de ce document est disponible à l'adresse :

<http://www.lpqm.ens-cachan.fr/theses/thesetoury.pdf>

Table des matières

Introduction	1
1 Méthodes optiques de mesure de champs électriques	7
1.1 Mesures de champs électriques dans des composants optoélectroniques	7
1.2 Mesures de potentiels transmembranaires biologiques	9
1.2.1 Problématiques liées aux potentiels transmembranaires en biologie	9
1.2.2 Une méthode non optique : le patch-clamp	12
1.2.3 Fluorescence et propriétés optiques linéaires	13
1.2.4 La génération de seconde harmonique sensible au champ	15
1.3 Nouvelle approche avec l'effet Pockels	19
1.3.1 Le principe de conversion retenu	19
1.3.2 Les milieux non linéaires quadratiques	20
1.4 Autour des mesures de variations de phase	21
1.4.1 Les microscopies à contraste de phase	21
1.4.2 La détection homodyne	22
1.5 Structure simplifiée du microscope électro-optique	22
2 Principe de la microscopie électro-optique	25
2.1 L'effet Pockels	25
2.1.1 Brève présentation des phénomènes non linéaires en optique	25
2.1.2 De l'hyperpolarisabilité aux non linéarités	29
2.1.3 L'effet électro-optique linéaire	34
2.2 L'interférométrie homodyne	40
2.2.1 Principe général	41
2.2.2 Le système d'asservissement	44
2.3 La microscopie confocale	51
2.3.1 Principe de la microscopie confocale	51
2.3.2 Application au cas particulier du microscope électro-optique	52
2.4 La détection synchrone	54

2.5	Schéma de principe du microscope électro-optique	54
2.6	Limitations techniques et influence des défauts	58
2.6.1	Défaut de recouvrement des faisceaux	59
2.6.2	Défaut d'asservissement	60
2.6.3	Problèmes liés à la polarisation	61
3	Réalisation technique du microscope électro-optique	69
3.1	Structure générale	69
3.2	Parcours des faisceaux, banc optique	71
3.3	Le bâti du microscope	74
3.4	Composants optiques et optoélectroniques	78
3.4.1	Optomécanique	79
3.4.2	La source	79
3.4.3	Les composants optiques	80
3.4.4	Les objectifs de microscope	82
3.4.5	Les photodiodes	85
3.5	Electronique générale et traitement des photocourants	87
3.5.1	Structure générale	87
3.5.2	Les préamplificateurs et le différentiateur	88
3.5.3	Les générateurs basse fréquence	88
3.6	Le verrouillage de la phase relative	91
3.6.1	L'actuateur piézoélectrique	91
3.6.2	Caractérisation de la FTBO	93
3.6.3	Synoptique de l'asservissement	100
3.7	Le pilotage du microscope	104
3.8	Acquisition des données	104
3.8.1	Mesure du taux de recouvrement des faisceaux	106
3.8.2	Principe d'une mesure	106
4	Structures de champs électriques dans des films polymères	109
4.1	Description du composant	109
4.2	Réalisation technique	110
4.3	Calcul du tenseur électro-optique dans un polymère dopé orienté sous champ électrique	114
4.3.1	Expression du tenseur de $\chi^{(2)}$ avec le modèle du gaz orienté	114
4.3.2	Relation entre $\chi_{ijk}^{(2)}$ et r_{ij}	117
4.4	Calcul du champ électrique théorique dans le composant	118
4.4.1	Calcul analytique	118

4.4.2	Structure du champ dans le composant	121
4.4.3	Déphasage engendré	121
4.4.4	Ordres de grandeur	127
4.5	Mesures et validation	128
4.5.1	Première cartographie de déphasage	128
4.5.2	Etudes en polarisation, rapport r_{33}/r_{13}	129
4.5.3	Comparaison avec la génération de seconde harmonique	133
4.5.4	Informations sur la structure des champs électriques	134
4.5.5	Champ sans contre-électrode	137
4.5.6	Système microstructuré : première démonstration	137
5	Effet électro-optique dans les couches de Langmuir-Blodgett	141
5.1	Description des couches	141
5.2	Structure de l'échantillon	141
5.3	Technique de fabrication	143
5.4	Résultat de la mesure	144
6	Perspectives et méthodes pour des applications à la biologie	149
6.1	Principe d'application à l'électrophysiologie	149
6.1.1	L'idée générale	149
6.1.2	Effet électro-optique dans une membrane dopée	150
6.1.3	Déphasage en traversant une membrane	152
6.1.4	Déphasage en traversant un tube modélisant un axone	154
6.1.5	Ordre de grandeur du déphasage	157
6.2	Contraintes propres à l'électrophysiologie	158
6.3	La détection synchrone multiplexante	159
6.3.1	Principe théorique	159
6.3.2	Mise en œuvre	163
6.4	Limitation de résolution due au bruit quantique	164
6.4.1	Bruit quantique de phase	164
6.4.2	Conséquences pour la microscopie électro-optique	166
	Conclusion et perspectives	169
A	Effet électro-optique linéaire dans un cristal de KDP	171
B	Changement de repère du tenseur électro-optique d'une membrane	175
B.1	Changement de repère du tenseur	175
B.2	Variations du tenseur perméabilité diélectrique	178

Bibliographie

179

Introduction

Le microscope électro-optique est un outil original de cartographie submicrométrique quantitative des champs électriques ou des éléments du tenseur électro-optique dans un milieu non linéaire quadratique. On accède quantitativement, signes compris, aux champs et aux composantes du tenseur électro-optique. L'origine du tenseur et des champs importe peu, il suffit qu'ils soient simultanément non nuls. Il permet de travailler avec des échantillons transparents dont l'épaisseur peut atteindre plus d'un millimètre. Selon les cas, les champs électriques seront intrinsèques ou appliqués par un jeu d'électrodes. Il en va de même de l'activité non linéaire du milieu qui pourra être intrinsèque, résulter d'un dopage, ou du dépôt de matériaux aux propriétés requises sur le système à étudier.

La microscopie électro-optique est une association de techniques, déjà éprouvées indépendamment par ailleurs. L'accès aux champs électriques se fait par effet électro-optique linéaire (aussi appelé effet Pockels). Il consiste en une déformation de l'ellipsoïde des indices de certains milieux par un champ électrique extérieur. Il résulte de cette modification un déphasage d'un faisceau qui sonde l'échantillon. C'est ce dernier que mesure le microscope électro-optique avec une résolution spatiale micrométrique. On accède ainsi au champ électrique si le tenseur électro-optique est connu, ou au tenseur si l'on connaît le champ. Au cas où le champ et le tenseur sont simultanément inconnus, le microscope permet d'accéder au produit des deux. La cartographie de cet effet n'est pas uniquement scalaire : une résolution en polarisation permet d'accéder aux différentes directions du champ ou aux composantes tensorielles électro-optiques, avec leur signes.

Le microscope électro-optique est un interféromètre homodyne dans lequel a été inséré un microscope confocal. L'interféromètre est asservi de manière à mesurer les variations de phase du faisceau qui sonde l'échantillon. La résolution spatiale est assurée par le microscope confocal. Il va de soi que l'on peut aussi accéder à des déphasages qui ne proviennent pas d'un effet électro-optique. Cependant, le microscope a été conçu pour répondre plus particulièrement à ce type d'effet ; les autres (conséquences d'effets thermiques par exemple) étant alors plus difficilement accessibles. L'utilisation d'une détection homodyne permet de sonder l'échantillon

avec une fraction très faible de la source laser utilisée. On travaille, dans le cas présent, avec un laser Hélium-Néon dont une fraction de l'intensité de moins de 300 μW traverse l'échantillon. Cette puissance relativement basse permet de perturber l'échantillon *a minima*, bien que la fluence reste importante au point focal.

Le champ d'application couvre à la fois la conception de composants optoélectroniques et l'étude des phénomènes électriques transmembranaires biologiques. Dans ces deux cas, on a besoin de mesurer des champs électriques avec une résolution micrométrique. D'autres utilisations sont prévues à plus ou moins long terme telles que des études sur des systèmes microfluidiques ou membranaires.

L'optoélectronique est le domaine d'application le plus direct du microscope. Les variations de potentiel, et donc de phase sont modulables et reproductibles. Elles permettent l'utilisation d'instruments classiques telle qu'une détection synchrone. En cherchant dans un premier temps à valider le microscope sur des films polymères (où les molécules actives sont orientées) de structure assez simple, nous avons mis en évidence des phénomènes inattendus qui ont été confirmés par microscopie de génération de seconde harmonique. A cette échelle de mesure, certaines approximations faites habituellement en électrostatique ne sont plus valables, les répartitions de charges ne pouvant notamment plus être considérées comme surfaciques. Par analogie avec la microfluidique, des effets de bord importants, que la microscopie électro-optique permet de mettre en évidence, apparaissent dans la structure des champs dans les polymères. On voit aussi clairement des phénomènes très locaux d'injection de charges par les électrodes métalliques dans le polymère.

Au delà d'une simple mesure, le microscope électro-optique permet de tester le réalisme des simulations des structures de champs dans les composants polymères ou hybrides. C'est aussi un outil qui s'annonce intéressant dans le domaine, très actuel, de la recherche d'exaltation de champs par structuration de la forme d'électrodes.

Nous avons également cherché à explorer le potentiel de ce microscope pour la biologie et l'électrophysiologie en particulier. Dans ce cas, les signaux ne sont ni modulables, ni nécessairement reproductibles. D'autres difficultés liées aux techniques retenues dans la conception du microscope électro-optique s'y ajoutent. Les difficultés ont été identifiées et des solutions adaptées sont proposées en fin de mémoire.

Comme étape intermédiaire entre les structures de polymères et les systèmes biologiques, des mesures d'effet électro-optique sur des membranes phospholipidiques artificielles ont été explorées. Celles-ci sont intéressantes pour la validation des solutions technologiques proposées, point de passage nécessaire car certaines de ces solutions seront délicates et onéreuses à

mettre en œuvre. Elle permettra aussi de reparcourir avec un regard neuf le thème de l'optique non linéaire en couches de Langmuir-Blodgett. Le champ des mesures possible s'ouvre un peu plus car on pourra accéder à des données alors délicates à obtenir en génération de seconde harmonique (le signe par exemple). L'application du champ électrique est un point délicat de ces applications.

Ce mémoire présente le domaine d'application de la microscopie électro-optique. On y détaille le principe de l'instrument ainsi que sa première réalisation. Les premiers résultats obtenus y sont discutés et des propositions pour l'avenir présentées.

Plan de la thèse

On résume l'état de l'art au **Chapitre 1**. Les enjeux et difficultés liés aux mesures de champs électriques dans des composants optoélectroniques et dans les systèmes biologiques y sont présentés. On y trouvera aussi des résultats préalables importants et obtenus antérieurement à cette thèse (ou indépendamment). Une brève description de l'instrument est donnée à la fin de ce chapitre pour faciliter la lecture de la partie suivante.

Le principe théorique du microscope électro-optique est décrit en **Chapitre 2**. Son fonctionnement y est détaillé. Il comporte l'étude des conséquences des défauts sur les performances de l'instrument. Chacun des éléments constituant le microscope est décrit avec les détails nécessaires permettant d'appréhender le comportement global du système.

Au **Chapitre 3** sont détaillés les choix technologiques associés à la réalisation du microscope. La conception des pièces mécaniques et optomécaniques, le choix des composants optiques, le système électronique de contrôle du microscope et de traitement du signal ainsi que les pilotes informatiques sont présentés.

Les applications débutent au **Chapitre 4** avec le premier échantillon « test » : une couche mince de polymère dopé par des chromophores orientés sous champ électrique. La réalisation de ce composant, les résultats obtenus et la comparaison avec le modèle couramment admis pour ces composés font l'objet de chapitre.

La première mesure d'effet Pockels en transmission dans une couche de Langmuir-Blodgett est présentée au **Chapitre 5**. Une membrane phospholipidique a ainsi été retenue comme premier système biomimétique.

Le **Chapitre 6** détaille le principe et les perspectives d'applications du microscope électro-optique à la biologie. On y trouvera les résultats attendus, mais aussi les difficultés qui seront rencontrées dans sa mise en œuvre ainsi que des propositions de solutions.

L'ingénierie de cette expérience, les choix technologiques ainsi que la réalisation technique ont été une partie centrale de cette thèse tout comme la positionnement de ce thème dans son contexte, la conception théorique de cet instrument ainsi que l'étude de faisabilité. J'ai ainsi pris le parti de regrouper l'ensemble des principaux détails technologiques du microscope électro-optique dans un chapitre à part entière au même titre que l'étude de la problématique et son principe théorique. Il va sans dire que, comme pour tout développement d'un nouvel instrument (simple ou complexe), aucune des notions traitées séquentiellement dans les trois premiers chapitres ni même les applications, perspectives et résultats présentés dans les suivants n'ont été ni envisagés ni réfléchis indépendamment. Le mode de présentation retenu vise à une présentation efficace de ces travaux développés pendant trois ans sur des chemins bien plus sinueux que ne le donnerait à penser un tel exposé artificiellement séquentiel.

Le principe de cet instrument et les contraintes propres à son environnement scientifique et technologique (en particulier l'optique non linéaire moléculaire) demandaient à ce que la problématique, la conception théorique, la faisabilité technologique ainsi que les premiers résultats soient étudiés simultanément. La souplesse d'utilisation du microscope, donc la qualité et la quantité des résultats à venir, dépendent de la qualité de cette étude pluridisciplinaire, au sens où elle a regroupé et demandé la maîtrise simultanée de compétences typiques d'une activité de recherche académique tout autant que de conception technologique et de réalisation technique. La présentation séquentielle retenue n'est ainsi possible qu'*a posteriori* en vue d'une présentation plus fluide et plus agréable. Elle n'impose pas la lecture des détails technologiques à celui qui ne s'intéresserait qu'au principe théorique.

La simultanéité de la réalisation technique et des toutes premières mesures ont mené à l'étude de résultats souvent partiels et noyés sous les artefacts. La prise en compte de ces défauts a permis, par étapes successives de converger vers un système assez simple d'emploi et qui ne demande que peu de réglages avant utilisation. Toute cette partie (la plus aride de ce travail) n'est que très ponctuellement évoquée. Dans la mesure où elle apporte peu de renseignements utiles et exploitables, j'ai fait le choix de ne pas m'y attarder dans ce manuscrit, même si j'y ai consacré l'essentiel de mon temps.

Chapitre 1

Méthodes optiques de mesure de champs électriques

La méthode utilisée pour la microscopie électro-optique, basée sur des mesures de variations de phase dues à l'effet Pockels, impose de travailler avec des échantillons transparents, actifs en optique non linéaire quadratique, d'épaisseur millimétrique.

Nous discutons dans ce chapitre des principales applications et des méthodes déjà disponibles pour ce type de mesures. On décrira brièvement certains composants opto-électroniques ainsi que des questions d'électrophysiologie, applications principales de cet outil.

Dans le cadre technologique actuel, deux applications principales se dégagent : d'une part, la mesure de champs dans des composants optoélectroniques, d'autre part l'enregistrement d'événements électriques dans des systèmes biologiques. Il s'agit dans ces deux cas de cartographier aussi quantitativement que possible des champs électriques ou des différences de potentiel. Les ordres de grandeur et les contraintes étant très différents, les méthodes existantes se distingueront aussi.

1.1 Mesures de champs électriques dans des composants opto-électroniques

La mesure de champs électriques dans les composants électroniques participe à l'étape critique de validation des nouveaux composants. Leur intégration de plus en plus poussée ainsi que l'utilisation de technologies semi-conducteurs à basses tensions de polarisation demandent une maîtrise fine des potentiels et courants. Toute chute de potentiel à une jonction ou dans un guide conducteur est responsable de pertes par effet Joule et impose une augmentation de la tension nécessaire au contrôle des étapes aval par les étapes amont dans le composant.

Elle est aussi nécessaire dans les chaînes de fabrication de composants toujours plus complexes.

Jusqu'à présent, cette étape de contrôle de la qualité en cours de chaîne n'était, financièrement, pas intéressante. Les composants complexes, tels que les microprocesseurs, sont contrôlés en fin de fabrication. Les composants simples ne sont pas vérifiés avant la mise sur le marché, dans la mesure où leur coût de production est très faible, il aurait été sensiblement augmenté par cette étape de validation. Les contrôles en cours de fabrication ne participent généralement qu'à des opérations de « contrôle qualité ».

L'évolution actuelle, toujours vers plus de complexité, pousse donc au développement de méthodes de mesure de potentiels et de champs électriques à bas coût lors des étapes de fabrication.

Des méthodes, proches de la microscopie électro-optique ont été développées pour mesurer ces champs électriques. La technique consiste à déposer un matériau électro-optique en surface du composant non encapsulé et à mesurer les modifications de polarisation de la lumière réfléchie sur le composant [1, 2], à approcher un cristal électro-optique de la zone à mesurer [3–6] ou à utiliser l'effet électro-optique des semi-conducteurs mis en œuvre pour fabriquer le composant [7]. Ces modifications sont induites par effet électro-optique linéaire, elles permettent ainsi de cartographier le champ électrique.

Toutefois, quatre limitations, au moins, apparaissent à l'examen. Elles sont d'une part limitées en résolution : les techniques retenues sont peu efficaces pour la mesure des rotations de polarisation dues au champ électrique. D'autre part, le grand nombre de points à acquérir empêche d'avoir une mesure rapide. Ces méthodes ne permettent, sur des chaînes de test de production, que des tests très partiels. Ensuite, la résolution permise par les technologies optiques « classiques », c'est-à-dire hors champ proche, ne permettent dans le meilleur des cas qu'une résolution de 200 nm, ce qui devient clairement insuffisant au vu de l'intégration des composants actuels. Enfin, une pénétration en profondeur n'est pas permise, on doit se contenter de mesurer des champs en surface qui peuvent être légèrement différents.

D'autres méthodes partageant tout ou partie des limitations précédentes ont été proposées. On notera notamment des techniques à cristaux liquides [8,9] dont on mesure par voie optique la modification d'orientation due au champ électrique.

On peut simplement constater la limitation des méthodes proposées par le peu de brevets qui ont été déposés et maintenus. La quasi totalité de ceux qui sont cités dans les deux paragraphes précédents ont été abandonnés.

Dans les composants optoélectroniques à base de polymères, le problème de la mesure de la structure spatiale du champ électrique est rarement abordé. On s'en tient essentiellement à des modélisations simples [10–12]. Les problèmes apparaissant étaient modélisés par des phénomènes tels que le report de champ ou le recouvrement spatial. Il n'y a pas eu, à ce jour et à notre connaissance, de comparaisons poussées entre des structures simulées et mesurées

des champs électriques dans des matériaux organiques.

De nouvelles méthodes de mesure permettront de valider les modèles utilisés et de pouvoir envisager des types d'électrodes, de formes ou de matériaux plus optimisés et donc fortement demandés. Contrairement aux technologies semi-conducteurs, dont les propriétés électriques des matériaux utilisés sont très bien connues, les technologies polymère utilisent des matériaux encore peu caractérisés sur ce point. Ceci vient, d'une part, de leur relative nouveauté, et d'autre part, de la très grande diversité disponible qui dilue d'autant le travail de caractérisation mené.

Ce retard dans la modélisation des composants pourrait être comblé par une méthode de mesure de la structure des champs électriques dans les composants polymères dont les avantages ne peuvent être laissés de côté [13]. Ceci vaut tout autant pour les technologies hybrides [14].

1.2 Mesures de potentiels transmembranaires biologiques

Le développement rapide des neurosciences ainsi que l'intérêt lié à l'étude des maladies neurodégénératives auxquels on assiste actuellement, favorisent l'émergence de nouveaux moyens d'investigation de l'activité neuronale. Pour des raisons techniques et parfois éthiques, des méthodes de mesure non invasives sont nécessaires pour répondre à ce besoin croissant d'accéder plus efficacement à des informations fonctionnelles sur les systèmes biologiques étudiés [15,16]. L'optique offre en la matière un certain nombre de possibilités qu'il convient d'explorer.

1.2.1 Problématiques liées aux potentiels transmembranaires en biologie

Eléments de neurobiologie utiles pour les microscopies non linéaires

Pour aborder un problème biologique avec un point de vue de physicien, on doit avant tout s'assurer de la pertinence des études que l'on peut mener. Pour cela, à moins d'une solide formation en biologie, le recours aux conseils et à l'expertise de biologistes spécialisés dans le domaine d'application envisagé est absolument nécessaire. L'objet d'étude se résume alors essentiellement en un jeu d'ordres de grandeur pour lesquels on dimensionnera l'instrument.

On estime à 10^{13} le nombre de neurones chez l'homme [16–19]. Structurés en réseau, ils sont chargés des communications rapides et du traitement de l'information. Ce sont des cellules utilisant les variations de leur potentiel transmembranaire pour assurer le transport d'informations. La communication interneuronale a lieu au niveau des synapses, qui sont des zones de contact assurant une communication chimique ou électrique entre le neurone pré-synaptique et le neurone post synaptique. Les neurones sont entourés de cellules gliales qui assurent, entre autres, la structure et une partie du métabolisme du système nerveux. Elles

sont aussi impliquées dans une partie du traitement de l'information.

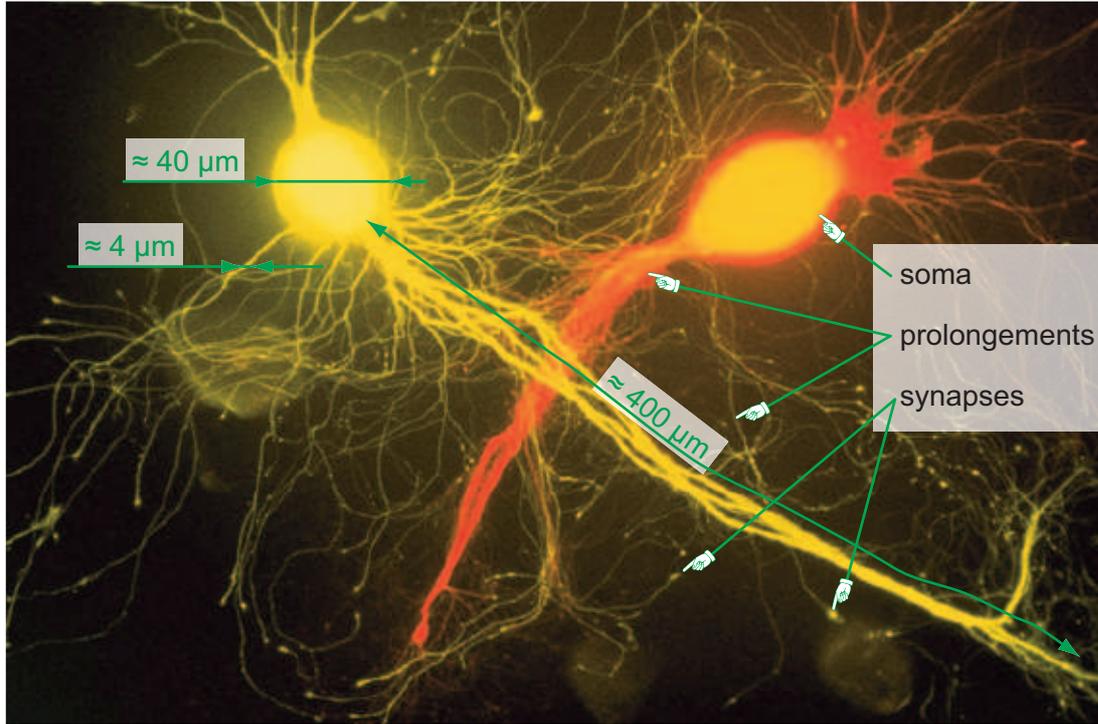


FIG. 1.1: Deux neurones d'un prélèvement d'*aplysia californica* (invertébré) marqués avec différents marqueurs [20]. Les ordres de grandeurs sont annotés sur le schéma. Les prolongements désignent indifféremment dendrites (de la synapse vers le soma dans le sens de propagation de l'information) ou axones (du soma vers les synapses). L'information est « recueillie » par les dendrites et les potentiels d'actions sont générés à la base de l'axone. Les neurones d'invertébrés sont généralement plus gros et plus robustes que ceux des vertébrés.

Bien que rien ne ressemble moins à un neurone qu'un autre neurone, nous donnons en fig. 1.1 une structure générale de ce type de cellule qui permet de comprendre comment le microscope électro-optique permettra d'accéder à la lecture des variations de potentiel transmembranaire.

Les neurones sont formés d'un corps cellulaire vers lequel convergent les dendrites (très ramifiées) et les axones. Les dendrites et axones ont une longueur typique de quelques centaines de micromètres à quelques centimètres et un diamètre de l'ordre de quelques micromètres. La conduction électrique est décrite par le modèle de Hodgkin et Huxley [21] qui donne un modèle électrique de la membrane tenant compte des effets résistif et capacitif et de la différence de potentiel transmembranaire maintenue par un système de protéines-canaux et de pompes à ions. On retiendra que le potentiel intracellulaire moyen d'un neurone, dû à l'équilibre et au

transport de densités ioniques au repos, est en général de -60 mV. Il varie de $+50$ à -120 mV lors des phénomènes de communication.

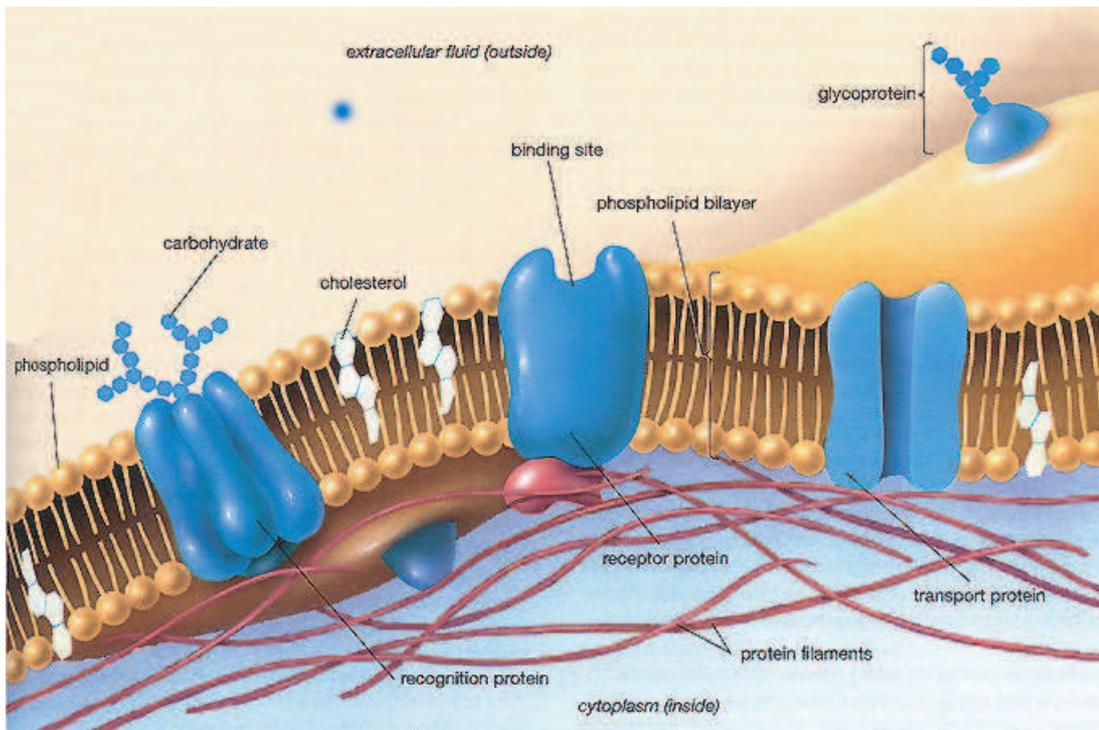


FIG. 1.2: Structure de la membrane d'un neurone. Les concentrations de protéines, de cholestérols, et autres molécules incluses dans la membrane sont plus élevées que sur ce schéma : elles occupent environ 40% de la surface de la membrane. Généralement, les membranes cellulaires de prélèvement n'ont pas cette forme lisse et dépouillée. La membrane est très ondulée et il y a des adhérences avec les autres cellules. Notamment, les cellules gliales enroulent une partie de leur membrane autour des prolongements pour former la gaine de myéline. Fig. extraite de [22].

La différence de potentiel est localisée entre les faces interne et externe de la membrane cellulaire du neurone. Cette membrane mesure en moyenne 3,7 nm d'épaisseur. Elle est composée d'une bicouche de phospholipides dans laquelle sont insérées des protéines assurant le maintien de la différence de potentiel de repos et la propagation active des variations de potentiel transmembranaire (fig. 1.2). Les chaînes grasses des phospholipides sont localisées vers l'intérieur de la membrane, les extrémités hydrophiles étant en contact avec les milieux intra et extra-cellulaires. On trouve une grande diversité de biomolécules dans cette membrane, telles que des cholestérols assurant par exemple sa rigidité. Les phospholipides ne représentent qu'environ 60% de la surface de la membrane. Il en existe trois espèces qui ne sont pas réparties dans les mêmes proportions des deux côtés de la membrane.

La membrane tient sa non-centrosymétrie de la différence de concentration en cholestérols, de la nature des phospholipides sur la face intracellulaire et extracellulaire, de la chélation d'ions par les phospholipides qui sont en concentrations très différentes sur chaque face.

La structure temporelle de ces variations de potentiel est très diversifiée. Au delà du « très classique » potentiel d'action, existe une grande diversité de signaux, codés numériquement, analogiquement ou selon un mode composite, d'amplitudes allant de la dizaine de μV à la centaine de mV , d'une fréquence toujours inférieure à quelques kHz .

Notons que les neurones ne sont pas les seules cellules à utiliser des phénomènes électriques : toutes les cellules ont une activité électrique plus ou moins prononcée. Les cellules endocrines et exocrines du pancréas utilisent largement les phénomènes électriques dans leur métabolisme.

1.2.2 Une méthode non optique : le patch-clamp

Le « patch-clamp »¹ est une méthode, développée dans les années 1980, couramment employée pour enregistrer localement le potentiel transmembranaire d'un neurone. Elle consiste à utiliser comme micro-électrode une micropipette (fig. 1.3) à l'extrémité micrométrique remplie de solution physiologique. Cette solution saline, donc conductrice, établit un contact conducteur entre une partie du neurone (extérieur ou intérieur de la membrane, en partie ou en totalité, selon le type d'enregistrement désiré) et une électrode d'argent qui plonge dans la solution à l'autre bout de la micropipette.

La technique de patch-clamp est délicate et demande un certain savoir-faire. Bien qu'elle ait permis un bond spectaculaire à l'électrophysiologie et qu'elle n'est pas près d'être détrônée, un grand nombre de difficultés techniques pourraient être évitées dans certaines mesures par l'utilisation de méthodes alternatives telles que la microscopie électro-optique.

Un échantillon de neurone ne peut vivre que deux ou trois heures dans des conditions d'expérience habituelle. Il faut couramment compter de l'ordre d'une heure pour fixer des électrodes de patch. Dans de bonnes conditions, la tenue des électrodes est d'une heure environ : les vibrations et les variations de pression osmotique désolidarisent assez rapidement les électrodes du neurone. Bien que les expériences durent généralement moins de 15 minutes, cette méthode reste la seule disponible pour les mesures plus longues.

Les prolongements sont très délicats à patcher : leur diamètre est de l'ordre de grandeur de l'extrémité de l'électrode. Peu d'électrophysiologistes savent réaliser cette prouesse qu'est par exemple de placer deux électrodes juste de part et d'autre d'un contact synaptique. Par

¹ terme non traduit en français.

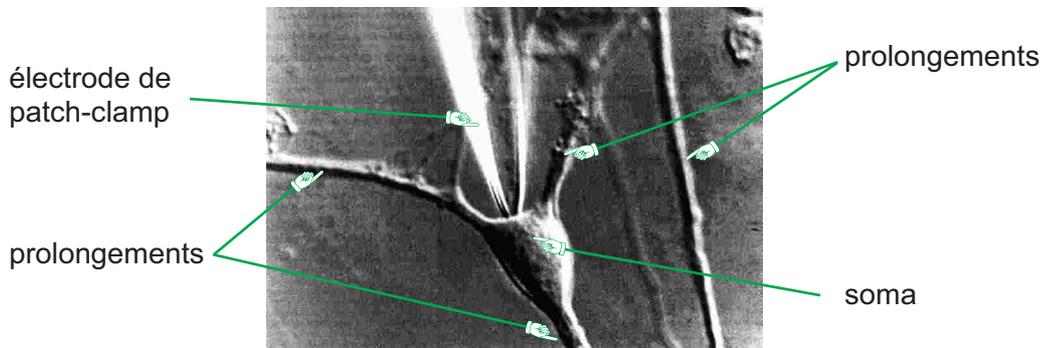


FIG. 1.3: Photographie d'une électrode de patch-clamp fixée sur un neurone vraisemblablement en mode cellule attachée ou cellule entière. Cette technique a permis des développements considérables en électrophysiologie. L'électrode de patch-clamp permet de mesurer et d'imposer des courants et des tensions dans différentes configurations. Placer une électrode sur des prolongements est un exercice très délicat. L'extrémité d'une électrode mesure 1 à 2 μm de diamètre.

exemple, l'axone d'un neurone pyramidal dans lequel a lieu une forte intégration de l'information n'a pas encore pu être patché. Il est aussi difficile de patcher dans certains cas, en fonction de l'âge du neurone (la rigidité de la membrane évolue) ou de la présence d'une cellule gliale (membrane trop dure).

Il va de soi qu'avec cette technique, la contrainte exercée sur la cellule est telle qu'on ne peut avoir accès qu'à une partie de son métabolisme : il serait illusoire d'observer avec cette méthode une intégration complète d'informations à l'échelle d'un neurone.

Mentionnons dès à présent que le microscope électro-optique ne peut que lire des différences de potentiel. Il ne pourra en aucun cas se substituer totalement à la technique de patch-clamp qui fournit de véritables électrodes. Le neurone étant physiquement équivalent à un composant électrique actif, on ne peut tirer pleinement partie de ses capacités qu'en ayant accès simultanément au courant et à la tension, en lecture comme en écriture.

L'utilisation de la rectification optique a été envisagée pour imposer des différences de potentiel transmembranaire. Il manque cependant plus de 2 ordres de grandeur, qui ne seront certainement pas atteints prochainement [23].

1.2.3 Fluorescence et propriétés optiques linéaires

Dans les années 1970, Larry Cohen et Amiram Grinvald ont mis au point les premières méthodes optiques d'enregistrement de l'activité électrique des neurones. Ils ont inséré dans les membranes des colorants dont l'intensité de fluorescence dépend du champ électrique environnant [24]. D'autres propriétés optiques ont ensuite été étudiées, telles que les variations

d'absorption, de dichroïsme, de biréfringence ou encore des modifications de spectre d'émission de fluorescence [25]. A l'heure actuelle, un grand nombre de chromophores sensibles au champ sont disponibles commercialement [20]. Une mesure précise de la différence de potentiel transmembranaire peut être obtenue par des techniques ratiométriques (comparaison de l'enregistrement de l'intensité de fluorescence à deux longueurs d'émission différentes), qui présentent l'avantage de s'affranchir d'une mesure absolue des signaux de fluorescence. Un grand nombre d'autres méthodes ont été développées depuis pour optimiser la qualité des enregistrements dans des cas spécifiques (résolution spatiale ou temporelle, précision de la mesure, profondeur de pénétration dans l'échantillon, etc.).

Avec ces méthodes, on atteint une résolution spatiale latérale typique de 300 nm (pour un microscope confocal) et une résolution temporelle descendant jusqu'à 10 μ s (dans le cas des styryls) [26].

Cependant, toutes ces techniques se heurtent au photoblanchiment qui limite le temps de mesure de quelques secondes à quelques minutes en fonction de la précision et de la résolution de la mesure recherchée. De plus, la précision des mesures demande un grand nombre de photons, ce qui requiert de fortes concentrations initiales en colorants dont l'innocuité est loin d'être assurée.

Il existe d'autres méthodes optiques pour enregistrer l'activité neuronale, cependant, elles fonctionnent à des échelles de temps et à des résolutions spatiales qui ne nous concernent pas dans ce cadre. De plus, elles ne renseignent pas nécessairement sur les variations de potentiel transmembranaire, mais sur l'activité métabolique globale du neurone ou du groupe de neurones [25, 27]. On notera par exemple le marquage à la cytochrome oxydase dont la concentration reflète l'activité métabolique des cellules. Elle est révélée par l'oxydation de la diamino-benzidine, alors visible au microscope optique ou électronique [28].

Ces méthodes peuvent être illustrées par un résultat des groupes de L. Cohen et D. Zecevic (fig. 1.4). Cet enregistrement a été fait sur un ganglion d'aplysie² préalablement incubé dans une solution d'oxonol RH155. Des enregistrements ont aussi été obtenus sur des neurones, plus fragiles, de vertébrés [29]. Dans ces deux cas, la résolution spatiale est assez faible (de 5 μ m à 14 μ m). On ne peut pas encore espérer un enregistrement de l'intégration de l'information sur l'étendue d'un neurone avec ces méthodes.

²Ce mollusque, fréquemment utilisé pour les études d'électrophysiologie est une sorte de grosse limace de mer que l'on trouve sous deux espèces différentes sur les côtes landaises et californiennes. Il est familièrement appelé « pisse-vinaigre », parfois « lièvre de mer ».

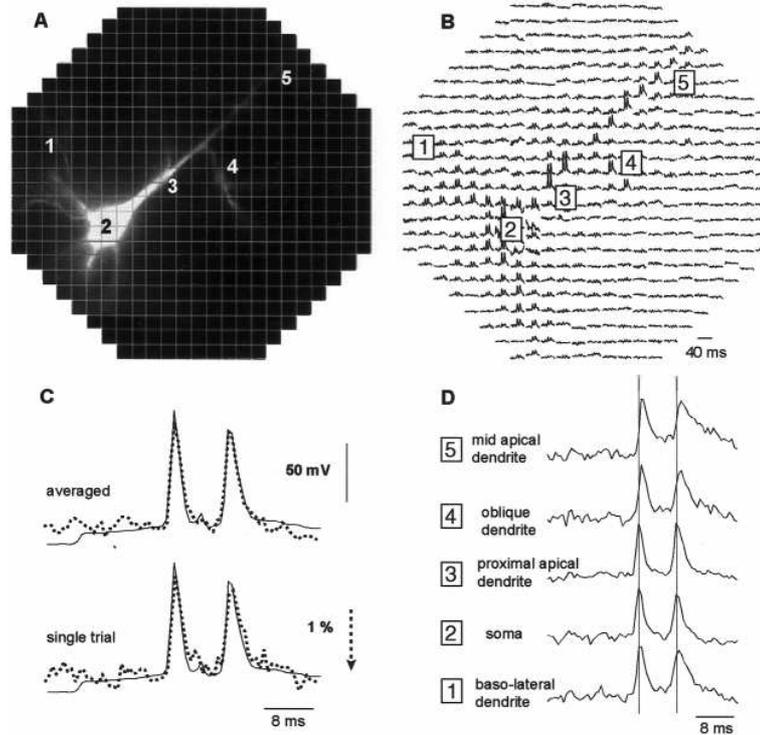


FIG. 1.4: Exemple d'enregistrement de propagation d'un potentiel d'action dans un neurone pyramidal d'aplysia : figure extraite de la réf. [26]. **A.** Vue globale du neurone pyramidal par fluorescence sur le réseau de 464 photodiodes. **B.** Enregistrement monocoup d'un potentiel d'action. La taille d'un pixel est de $14 \mu\text{m}$. **C.** Comparaison de l'enregistrement optique avec le résultat donné par une électrode. **D.** Evolution du signal sur le neurone, on voit que la vitesse de propagation est finie ($0,22 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$).

1.2.4 La génération de seconde harmonique sensible au champ

A la fin des années 1980, Aaron Lewis a proposé d'utiliser la génération de seconde³ harmonique (GSH) pour enregistrer l'activité électrique [30,31].

L'avantage principal de cette méthode par rapport à la fluorescence réside dans la possibilité de travailler hors-résonance, donc de limiter le photoblanchiment. L'excitation à deux photons ne nécessite pas de diaphragme de confocalité car l'intensité de génération de seconde harmonique est proportionnelle au carré de l'intensité surfacique du faisceau incident, présentant donc un pic au point focal. Cette technique est donc moins contraignante expérimentalement. On pompe dans la bande de transparence, ce qui permet une meilleure pénétration dans les

³ Les dictionnaires tiennent majoritairement *harmonique* comme étant féminin. D'autre part, comme une troisième harmonique est susceptible d'exister, à $3f_0$, on devrait parler de *deuxième* harmonique. D'autant plus que la n^{e} harmonique est de fréquence $(n+1)f_0$, il s'agit donc en réalité de *génération de première harmonique*. Mais on s'en tiendra à l'accord de l'adjectif!

échantillons. De plus la GSH fournit un meilleur contraste car elle est sensible aux ordres moléculaires non centrosymétriques, donc organisés, ce qui rend tout ensemble moléculaire isotrope inactif en GSH cohérente. La composante incohérente étant presque toujours très faible devant la partie cohérente, lorsqu'elle existe, on obtient des résultats bien plus contrastés (fig. 1.5).

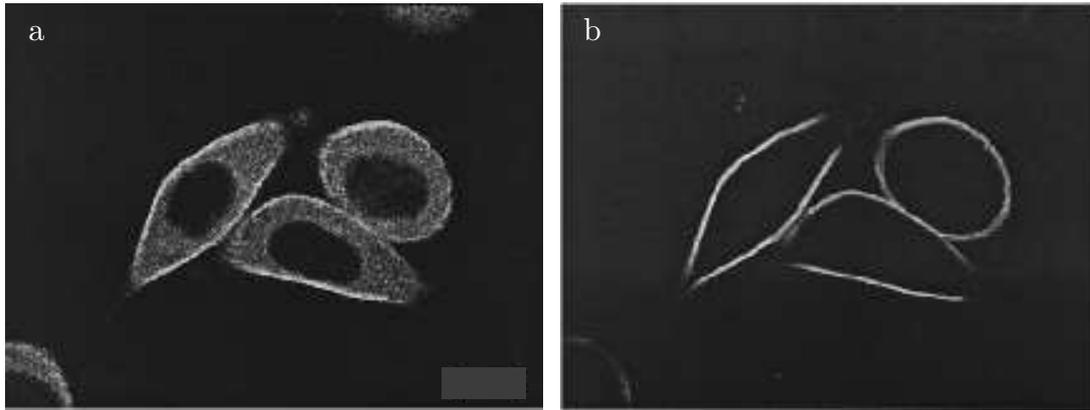


FIG. 1.5: Images de cellules isolées *Ncad1* marquées au RH237. **a.** Observation en fluorescence à deux photons. **b.** Observation en génération de seconde harmonique. La cohérence de l'émission en génération de seconde harmonique fait ressortir les membranes, alors que tout le corps cellulaire apparaît en fluorescence. Images extraites de la réf. [32].

La sensibilité de la génération de seconde harmonique à un champ statique repose sur deux effets distincts.

D'une part, la génération de seconde harmonique de chromophores *fixes* peut dépendre du champ électrique auquel elles sont soumises. En effet, l'hyperpolarisabilité γ des molécules confère au milieu une non linéarité $\chi^{(3)}$ qui par un effet du troisième ordre peut se coupler au champ électrique statique et au champ électrique optique de fréquence ω (deux fois) pour donner une polarisation de pulsation 2ω . Des ensembles de molécules fixes de $\chi^{(2)}$ nul peuvent, *a priori* présenter cet effet. Il a été également modélisé par un effet Stark [33].

On a d'autre part, une contribution orientationnelle. Des molécules *mobiles* possédant un moment dipolaire et une première hyperpolarisabilité non nulle peuvent elles aussi présenter une génération de seconde harmonique dépendant du champ. En effet, le doublage de fréquence observé à grande échelle dépend de la statistique des chromophores (ce point est détaillé au Chapitre 2 et illustré dans un autre cas aux Chapitres 4 et 6). Si les molécules possèdent un moment dipolaire permanent non nul, la statistique de leur orientation va être modifiée par le champ électrique statique. On peut donc avoir une génération de seconde harmonique dont l'intensité est sensible au champ électrique externe.

Ainsi, par ces deux effets, l'intensité de génération de seconde harmonique dans les membranes dépend du champ auquel les colorants sont soumis. Les contributions de chacun de ces effets ont été étudiées, leurs intensités relatives dépendent du colorant étudié [34].

Notons que cette technique est un cas particulier en membrane de la mesure dite EFISH (Electric field induced second harmonic generation). L'EFISH est une technique de génération de seconde harmonique utilisant des chromophores en solution dans un champ électrique macroscopique. Le champ électrique donne lieu à deux effets distincts et conjoints : orienter les chromophores suivant une statistique non centrosymétrique, et modifier le $\chi^{(2)}$ par la contraction d'un $\chi^{(3)}$ avec le champ électrique statique.

Travailler en membrane ne réduit pas le problème, mais l'enrichit, car il faut ajouter à l'interaction champ-dipôle, les interactions intermoléculaires (effets collectifs de type cristaux liquides) qui contribuent à l'orientation « statique ». Dans ce cas, le champ électrique modifie une structure initialement non centrosymétrique. C'est pour cela qu'on a une variation de l'intensité de génération de seconde harmonique et non apparition quand la membrane est soumise à un champ non nul.

Cette dépendance de la génération de seconde harmonique au champ électrique transmembranaire est illustrée en fig. 1.6.

Ces dernières années, ces méthodes ont été principalement développées par le groupe de Jérôme Mertz (ESPCI, France et Boston University, USA) [35,36] et par celui de Watt Webb (Cornell University, USA). Le groupe de chimie de Mireille Blanchard-Desce (Université de Rennes, France) a contribué par la fourniture de molécules adéquates. Ce dernier a obtenu un résultat significatif en janvier 2004 [37] confirmant la pertinence de cette technique (fig. 1.7).

Bien que cette méthode soit à l'heure actuelle des plus prometteuses pour ce type de mesures, il n'en reste pas moins des difficultés à lever. Dans un premier temps, il faudra augmenter la sensibilité des chromophores au champ électrique pour avoir une réponse de plus grande amplitude, ce qui éviterait de moyennner plusieurs dizaines de fois. Ceci devrait être atteint dans les prochaines années.

Ce qui est plus délicat concerne l'innocuité des chromophores. Elle est loin d'être établie ; bien que les chances soient grandes d'arriver à produire des colorants biologiquement inertes, des phénomènes de phototoxicité apparaissent et pourraient s'avérer plus délicats à résoudre. Ce point est brièvement mentionné en réf. [37], mais il risque de se révéler ardu. Ceci d'autant plus que si le chromophore est lui-même inerte, il faut s'assurer que son solvant peut être mélangé au milieu physiologique sans dommage. Les chromophores devant nécessairement être amphiphiles pour s'insérer naturellement dans la membrane, la gamme de solvants non toxiques disponibles est quasi inexistante (puisqu'ils peuvent dissoudre un tensio-actif, ils vont *a for-*

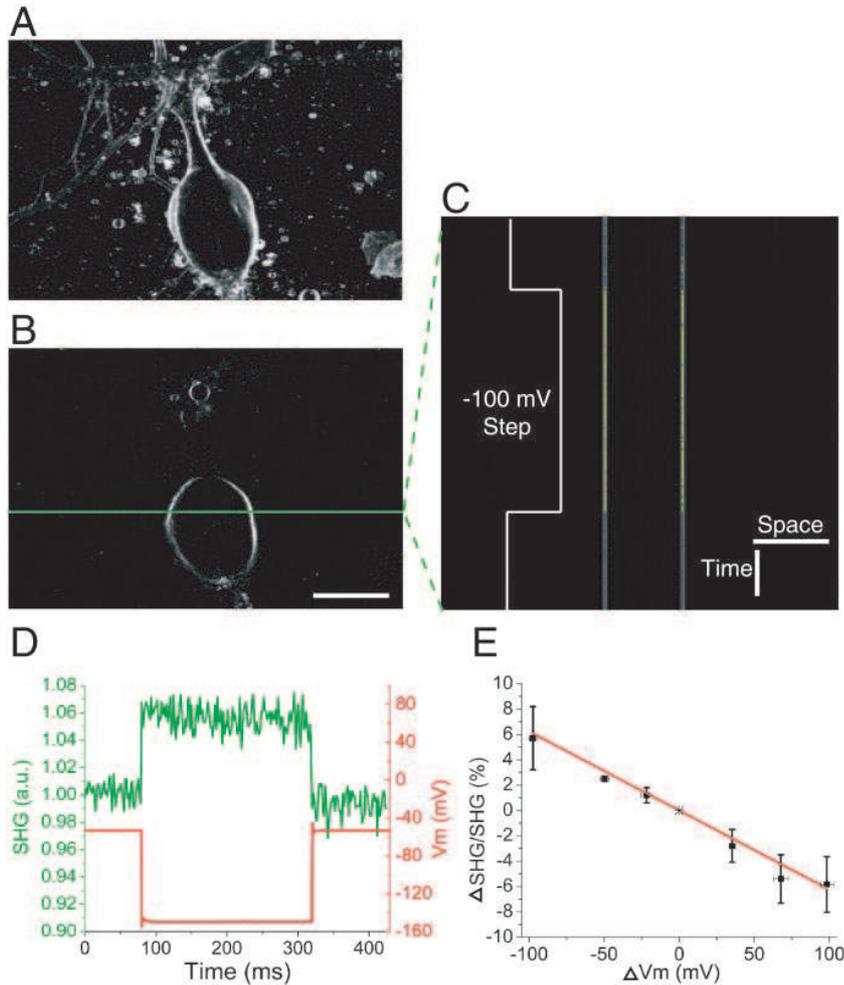


FIG. 1.6: Enregistrement de la dépendance de l'intensité de génération de seconde harmonique au potentiel transmembranaire dans un neurone d'*Aplysia* en culture dont la membrane a été dopée. **A.** Image du neurone. **B.** Ligne balayée par le laser. **C, D.** Intensité de GSH en fonction de la différence de potentiel transmembranaire. **E.** Dépendance de l'intensité de génération de seconde harmonique à la différence de potentiel : on a une variation d'environ 8% sur la gamme de potentiels utilisés par la biologie. Taille de l'échelle : 50 μm . Illustration extraite de la réf. [37].

tiori s'attaquer aux membranes, siège des phénomènes cellulaires électriques). Des prouesses en ingénierie moléculaire seront certainement nécessaires pour résoudre ce problème.

Notons aussi que pour augmenter l'efficacité de génération de seconde harmonique, on est tenté de s'approcher de la résonance du chromophore, augmentant par là le risque de photoblanchiment⁴. On perd alors une partie de l'intérêt de la génération de seconde harmonique

⁴ le jour où les chromophores ne blanchiront plus...

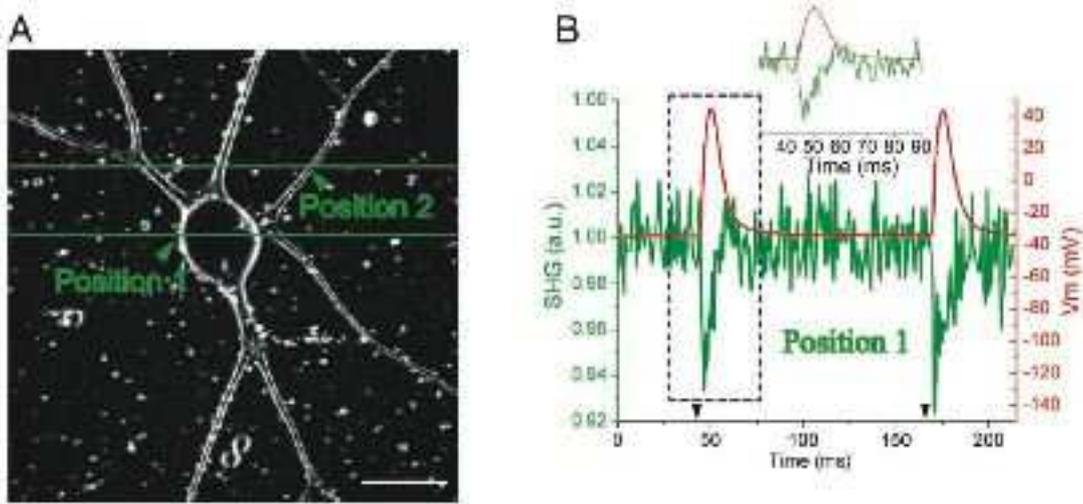


FIG. 1.7: Enregistrements de potentiels d'action dans les mêmes conditions qu'en fig. 1.6. **A.** Image du neurone, on voit les deux lignes balayées par le laser et notamment le point où est enregistrée la courbe B. **B.** Enregistrement de deux potentiels d'action créés par un courant injecté aux temps donnés par les abscisses des petites flèches noires. En vert : enregistrement optique moyenné 50 fois, en rouge, enregistrement au moyen d'une électrode insérée dans le soma. Taille de l'échelle : 50 μm . Illustration extraite de [37].

par rapport à la fluorescence.

Notons que la génération de seconde harmonique ne donne accès qu'à des informations où la membrane est tangente au faisceau. Ce point n'est pas trop réducteur dans la mesure où le signal est globalement uniforme sur une tranche d'axone.

1.3 Nouvelle approche avec l'effet Pockels

1.3.1 Le principe de conversion retenu

Dans le cadre de cette thèse, il est proposé de « descendre d'un ordre de polarisation » par rapport aux études précédentes en enregistrant les variations d'indice d'une membrane dopée. L'effet non linéaire d'ordre le plus bas qui permet de coupler un champ électrique avec les propriétés de la lumière dans un milieu $\chi^{(2)}$ est l'effet électro-optique linéaire, aussi appelé effet Pockels, décrit en détail dans le Chapitre 2.

L'effet électro-optique concerne certains matériaux dont l'ellipsoïde des indices est modifiée lorsqu'un champ électrique est appliqué. C'est un effet du même ordre que la génération

de seconde harmonique : les matériaux possédant une de ces propriétés présentent systématiquement l'autre. Il y a donc un intérêt manifeste à étudier l'apport de l'effet Pockels dans la mesure de champs électriques. Cet effet a bien été envisagé pour les mesures de champs électriques dans les composants optoélectroniques, mais nous souhaiterions l'aborder sous un angle un peu différent. L'utilisation faite de l'effet Pockels consiste ici à mélanger la fréquence optique ω avec le champ statique de fréquence Ω pour modifier la phase du champ à ω . Au lieu de placer des sondes près des zones à mesurer, il peut s'avérer intéressant de profiter de l'effet électro-optique intrinsèque de l'objet dont on souhaite sonder les propriétés ou le comportement. Et s'il ne possédait pas d'effet électro-optique intrinsèque, on pourrait lui en conférer un comme c'est le cas pour les mesures de génération de seconde harmonique dans les membranes.

En traversant le matériau, un faisceau *sonde* est déphasé proportionnellement au coefficient électro-optique et au champ électrique. Il suffit alors en principe de mesurer ce déphasage pour accéder au produit du champ électrique par le coefficient électro-optique. Si les composantes du tenseur électro-optique sont connues, on peut alors déterminer le champ électrique. Si c'est l'inverse, on cartographiera le tenseur. En l'absence d'informations sur le champ et le tenseur, on aura accès au produit des deux, d'autres moyens d'investigations étant nécessaires pour aller plus loin.

Mentionnons que le déphasage ne dépend pas de la puissance du faisceau qui sonde l'échantillon. On peut donc *a priori* travailler avec des faisceaux de basse puissance et par conséquent en régime continu, ce qui n'est pas le cas pour la génération de seconde harmonique.

Pour résumer, on propose de sonder les champs électriques, en utilisant l'effet Pockels qui va traduire un champ électrique en un déphasage. Pour fixer un ordre de grandeur, nous serons concernés par des variations de phase allant de quelques 10^{-3} rad à quelques 10^{-8} rad.

1.3.2 Les milieux non linéaires quadratiques

Une étude plus détaillée des milieux non linéaires quadratiques sera présentée au Chapitre 2. Il convient cependant de faire un tour d'horizon des matériaux qui présentent une activité non linéaire quadratique.

Au même titre que pour la génération de seconde harmonique, le milieu doit être non-centrosymétrique. Cette condition n'est bien entendu pas suffisante, mais pour chaque type de matériau présentant un ordre non centrosymétrique, il y a des représentants non linéaires quadratiques.

Certains cristaux présentent cette propriété, c'est le cas des très célèbres KD*P, KTP,

ou encore BBO [38], mais aussi du POM (3-methyl-4-nitropyridine-1-oxide) qui est un cristal moléculaire de référence [39], pour ne citer qu'eux.

Des couches monomoléculaires ou des couches de Langmuir-Blodgett peuvent aussi présenter cet effet [40, 41].

Les membranes qui n'auraient pas d'activité optique peuvent être dopées. Si l'insertion de colorant dans la membrane n'a lieu que sur une face, on peut alors obtenir l'effet désiré [42]. Les polymères dopés ou greffés avec des colorants non linéaires quadratiques ne présentent une activité optique importante que si les chromophores sont orientés selon un ordre non centrosymétrique. Cet ordre peut être obtenu par l'application d'un champ électrique si les colorants présentent un moment dipolaire non nul [43] ou par des méthodes purement optiques [44, 45] s'ils sont photoisomérisables.

Il existe d'autres types, plus marginaux, de matériaux non linéaires. Dans notre cas, seules les membranes dopées et les polymères orientés nous intéresseront. La mise en œuvre des autres matériaux convient beaucoup moins bien aux échantillons susceptibles de nous concerner.

1.4 Autour des mesures de variations de phase

Une fois le champ électrique « converti » en variations de phase, il s'agit de trouver une technique permettant de mesurer ces variations avec la résolution voulue.

1.4.1 Les microscopies à contraste de phase

Les techniques de visualisation d'objet de phase les plus courantes sont les microscopies à contraste de phase.

Ces microscopies ont été développées à partir des travaux de Zernike [46–48]. La technique initiale consistait à déphaser de $\frac{\pi}{2}$ la composante spatiale d'ordre zéro de la lumière traversant l'échantillon. Lors de la recombinaison de l'image, les variations de phase sont converties en variations d'amplitude.

Le défaut essentiel de cette technique est la difficulté d'obtenir une image brillante de bonne résolution. Elle a été améliorée dans les années 1950, notamment par Nomarski. Une des méthodes les plus évoluées est la technique DIC (*differential interference contrast*) qui consiste à séparer légèrement les deux polarisations de la lumière incidente au moyen d'un prisme de Wollaston pour obtenir des interférences relatives non pas à l'indice du milieu mais aux gradients d'indice.

Malgré la très grande qualité des images fournies, ces méthodes n'ont jamais permis d'obtenir

des résultats quantitatifs⁵. Des algorithmes de traitement d'images, assez simples, permettent d'obtenir, tout a plus, des résultats semi-quantitatifs [49].

1.4.2 La détection homodyne

La détection homodyne est une technique très éprouvée de mesure de fluctuations très fines de l'amplitude d'un champ optique [50–52]. Le principe de l'interférométrie homodyne est détaillé au Chapitre 2.

La technique consiste à mélanger un faisceau de forte intensité, appelé *oscillateur local*, avec un autre de faible intensité, appelé *signal*. La différence des intensités obtenues est proportionnelle aux fluctuations du *signal* sur la quadrature donnée par la phase relative entre les deux faisceaux mélangés. D'autre part, ces fluctuations sont amplifiées par l'amplitude de l'*oscillateur local*.

En verrouillant la phase relative à $\pm\frac{\pi}{2}$, on accède aux variations de phase. On a ainsi un système optique d'amplification des variations de phase. On les récupère sous la forme d'une variation de différence de photocourants.

1.5 Structure simplifiée du microscope électro-optique

Le microscope électro-optique est donc une détection homodyne utilisée pour mesurer des variations de phase générées par effet Pockels. Des mesures de phase efficaces demandent un asservissement pour verrouiller la phase optique, ce qui nous permet une lecture continue du déphasage dû à l'échantillon (son intérêt et son mode de fonctionnement sont détaillés au chapitre 2). Afin d'avoir une résolution nous permettant une cartographie micrométrique, un microscope confocal a été inclue dans la voie *signal* de l'interféromètre. On a ajouté une table piézoélectrique pour déplacer l'échantillon, ce qui nous donne la possibilité de cartographier la zone d'intérêt. Le signal est enfin traité sur une détection synchrone.

Un schéma de principe simplifié du microscope électro-optique est donné en fig. 1.8. La version détaillée est donnée en fig. 2.14, page 56 après la discussion de chacun de ses éléments.

⁵ au moins au sens où nous l'entendons, c'est-à-dire avec une dynamique de deux ordres de grandeur au minimum.

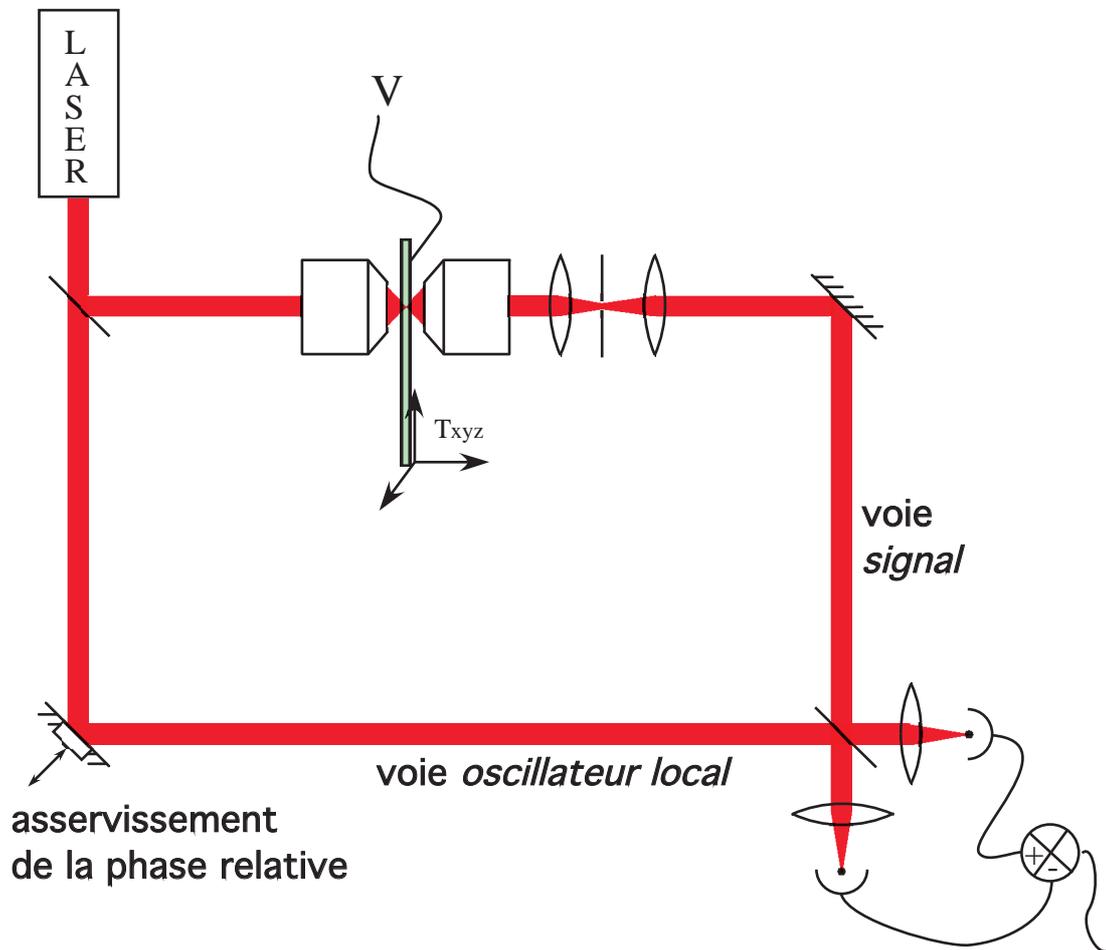


FIG. 1.8: Le microscope électro-optique est une détection homodyne asservie pour mesurer les variations de phase de l'échantillon. Par effet Pockels, ces variations de phase nous renseignent sur les champs électriques présents dans l'échantillon. Ces champs peuvent être intrinsèques ou provenir d'un potentiel que l'on a appliqué. Si les champs sont connus, on a alors des informations sur la structure du tenseur électro-optique dans l'échantillon. L'asservissement est réalisé au moyen d'un actuateur qui contrôle la position d'un miroir. Un microscope confocal, inclus dans le bras signal permet une résolution micrométrique. Couplé avec une table de translation trois axes, on a la possibilité de cartographier les déphasages induits par effet électro-optique. Les variations de phase apparaissent comme différence des photocourants obtenus en sortie de la détection homodyne (ils sont ensuite traités par une détection synchrone). On utilise aussi ces photocourants pour l'asservissement de la phase relative entre les deux bras de l'interféromètre. On dénomme communément oscillateur local le faisceau de forte intensité et signal celui de faible intensité. La détection homodyne ne fonctionne que pour une intensité d'oscillateur local très grande face à celle du signal.

Chapitre 2

Principe de la microscopie électro-optique

Le microscope électro-optique réalise l'association originale de techniques largement éprouvées séparément. Pour ce montage, on observe des modulations de phase dues à un effet Pockels au moyen d'une détection homodyne, la résolution spatiale étant assurée par un système de microscopie confocale. Les différents éléments du montage sont présentés dans ce chapitre, l'accent étant mis en particulier sur leur application au microscope. Le principe général de fonctionnement du microscope y est décrit.

2.1 L'effet Pockels

2.1.1 Brève présentation des phénomènes non linéaires en optique

Cet instrument fait appel à des résultats issus de la longue liste de travaux en optique non linéaire [38, 53–59] et plus particulièrement en optique non linéaire moléculaire [60–64].

Réponse d'un système à une excitation

Dans le cas le plus général, la réponse vectorielle \vec{P} d'un système à une excitation vectorielle \vec{E} peut s'exprimer suivant un développement en puissances de \vec{E} par :

$$\begin{aligned}
 P_i(t) = & P_i^{(0)} + \sum_{i_1} \int \tilde{R}_{i;i_1}^{(1)}(t; \tau) E_{i_1}(\tau) d\tau + \\
 & \sum_{i_1, i_2} \iint \tilde{R}_{i;i_1 i_2}^{(2)}(t; \tau_1, \tau_2) E_{i_1}(\tau_1) E_{i_2}(\tau_2) d\tau_1 d\tau_2 + \dots + \\
 & \sum_{i_1, i_2, \dots, i_n} \iint \dots \int \tilde{R}_{i;i_1 i_2 \dots i_n}^{(n)}(t; \tau_1, \tau_2, \dots, \tau_n) E_{i_1}(\tau_1) E_{i_2}(\tau_2) \dots E_{i_n}(\tau_n) d\tau_1 d\tau_2 \dots d\tau_n + \dots
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

où i_i sont les indices donnant les directions spatiales. $\tilde{R}^{(n)}$ est la *réponse percussionnelle* d'ordre n . Notons qu'aucune hypothèse n'est nécessaire pour cette écriture (autre que l'existence de ce développement).

Dans le cas d'un matériau soumis à un champ électrique \vec{E} dont on observe la polarisation \vec{P} , l'expression précédente se décompose en une polarisation statique $P_i^{(0)}$, une réponse linéaire décrite par le terme suivant que nous écrirons $P_i^{(1)}$ et des polarisations non linéaires d'ordres croissants $P_i^{(n)}$. L'électromagnétisme *linéaire*, et donc l'optique linéaire, sont décrits par l'approximation $P_i(t) = P_i^{(0)} + P_i^{(1)}(t)$. Une étude plus fine du matériau, généralement ouverte à l'expérience par l'utilisation de champs électromagnétiques intenses, permet d'accéder aux ordres supérieurs.

Pour un système causal et homogène temporellement l'expression 2.1 peut être mise sous la forme d'une « multiconvolution » :

$$\begin{aligned}
 P_i(t) &= \sum_n P_i^{(n)}(t) \\
 P_i^{(n)}(t) &= \sum_{i_1 \dots i_n} \int_{\tau_1 \dots \tau_n \geq 0} \dots \int \tilde{R}_{i;i_1 \dots i_n}^{(n)}(\tau_1, \dots, \tau_n) E_{i_1}(t - \tau_1) \dots E_{i_n}(t - \tau_n) d\tau_1 \dots d\tau_n
 \end{aligned} \tag{2.2}$$

Il est possible d'adjoindre des dépendances spatiales à cette expression si besoin¹.

¹ En tenant compte des dépendances spatiales, dans le cas d'un milieu spatialement homogène, l'expression 2.2 devient :

$$\begin{aligned}
 P_i(\vec{r}, t) &= \sum_n P_i^{(n)}(\vec{r}, t) \quad \text{avec} \\
 P_i^{(n)}(\vec{r}, t) &= \sum_{i_1 \dots i_n} \int_{\tau_1 \dots \tau_n \geq 0} \dots \int \tilde{R}_{i;i_1 \dots i_n}^{(n)}(\vec{\rho}_1, \tau_1; \dots; \vec{\rho}_n, \tau_n) E_{i_1}(\vec{r} - \vec{\rho}_1, t - \tau_1) \dots E_{i_n}(\vec{r} - \vec{\rho}_n, t - \tau_n) \\
 & \quad d\vec{\rho}_1 \dots d\vec{\rho}_n d\tau_1 \dots d\tau_n
 \end{aligned} \tag{2.3}$$

On remarque que cette dernière est une généralisation du produit de convolution usuel à une fonction à n variables que l'on peut noter formellement comme ceci² :

$$P_i^{(n)} = \sum_{i_1 \dots i_n} \tilde{R}_{i; i_1 \dots i_n}^{(n)} * (E_{i_1} \otimes \dots \otimes E_{i_n}) \quad (2.4)$$

Lorsque les produits de convolutions apparaissent, il est souvent utile de s'intéresser à la transformée de Fourier. Ceci est d'autant plus vrai en optique que les temps caractéristiques de variation de l'enveloppe sont très grands devant les périodes mises en jeu (sauf pour les lasers femtoseconde). En adoptant les conventions suivantes :

$$E(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} E(\omega) e^{-i\omega t} d\omega \quad (2.5)$$

$$E(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} E(t) e^{i\omega t} dt \quad (2.6)$$

On aboutit au résultat :

$$\begin{aligned} \vec{P}^{(n)}(\omega) = \int_{\omega_1 \dots \omega_n} \dots \int \chi^{(n)}(\omega; \omega_{i_1}, \dots, \omega_{i_n}) : \vec{E}(\omega_{i_1}) \otimes \dots \otimes \vec{E}(\omega_{i_n}) \\ \delta(\omega - (\omega_1 + \dots + \omega_n)) d\omega_1 \dots d\omega_n \end{aligned} \quad (2.7)$$

Qui se réduit, dans le cas de N fréquences discrètes à :

$$\begin{aligned} \vec{P}^{(n)}(\omega) = \chi^{(n)}(\omega; \omega_{i_1}, \dots, \omega_{i_n}) : \vec{E}(\omega_{i_1}) \otimes \dots \otimes \vec{E}(\omega_{i_n}) \\ \text{avec } \omega = \omega_{i_1} + \dots + \omega_{i_n} \\ \text{et } \omega_{i_k}, k \in [1; n] \text{ choisie parmi } \pm \omega_1, \dots, \omega_N \end{aligned} \quad (2.8)$$

Phénomènes non linéaires courants

Les phénomènes les plus courants en optique non linéaire sont résumés dans le tableau 2.1.1.

La diversité de ces effets fournit un grand nombre d'expériences permettant de sonder différentes propriétés de la matière. Si l'optique linéaire permet d'accéder à une grande quantité

² Les fonctions E_{i_i} sont vues comme des éléments d'un espace vectoriel. A ce titre, la notation \otimes reste dans cette expression un produit tensoriel bien qu'il n'agisse pas dans l'espace géométrique « habituel ». Cette notation prend le sens suivant : dans le cas général, la réponse d'un système n'est pas une fonction de l'excitation, mais une somme de fonctionnelles portant sur un produit tensoriel de l'excitation. Ce point de vue n'est pas uniquement une digression mathématique : lorsque l'on utilise les réponses non linéaires de matériaux, on s'intéresse à des corrélations entre instants différents de l'excitation, que ce soit pour comprendre la réponse du matériau (spectroscopie non linéaire,...) ou pour analyser finement l'excitation (autocorrélateurs,...) ce qui correspond bien à l'étude de l'action d'une fonctionnelle sur un tenseur [65]. On représente d'ailleurs souvent graphiquement ces problèmes lorsqu'ils se limitent à deux dimensions sur des matrices.

Principaux effets non linéaires				
ordre	fréquences incidentes	fréquence générée	effet	application
1	ω	$\omega : \Im(\chi^{(1)})$	Absorption	Loi de Beer-Lambert
		$\omega : \Re(\chi^{(1)})$	Réfraction, diffusion	Optique géométrique
2	$\omega, 0$	ω	Effet Pockels	Commutation optoélectronique
		0	Rectification optique	Génération d'hyperfréquences
	ω, ω	2ω	Génération de seconde harmonique	Doublage de fréquence
		$\omega_1 + \omega_2$	Génération fréquence somme	Spectroscopie
	ω_1, ω_2	$\omega_1 + \omega_2$	Génération de fréquence	Amplificateurs et oscillateurs paramétriques optiques
		$\omega_1 - \omega_2$	différence	
3	$\omega, 0, 0$	ω	Effet Kerr électrique	Commutation optoélectronique
		$\omega : \Im(\chi^{(3)})$	Absorption à deux photons	Limitation optique
	$\omega, -\omega, \omega$	$\omega : \Re(\chi^{(3)})$	Effet Kerr optique	Autofocalisation
		$\pm\omega_1 \pm \omega_2 \pm \omega_3$	Mélange à 4 ondes	Bistabilité optique
	$\omega_1, \omega_2, \omega_3$			Spectroscopie multidimensionnelle

TAB. 2.1: Présentation des effets linéaires et non linéaires des 3 premiers ordres ainsi que quelques unes de leurs applications.

de renseignements sur la matière, les phénomènes non linéaires ouvrent encore plus le champ d'étude. On a ainsi accès aux transitions interdites dans les processus à un photon, on peut mesurer des corrélations de tous ordres, etc.

On peut aussi mettre à profit ces effets non linéaires pour construire des systèmes élaborés. D'une manière générale, l'amplification et le traitement du signal requièrent l'utilisation d'effets non linéaires, le traitement optique de l'information passe donc par l'utilisation de ces phénomènes.

2.1.2 De l'hyperpolarisabilité microscopique aux non linéarités macroscopiques : quelques idées physiques

Les propriétés décrites précédemment sont macroscopiques. Le caractère non linéaire d'un matériau nécessite une structure des composants microscopiques (maille cristalline, molécule ou nano objet) exhibant ce type de propriétés à l'échelle nanométrique. A cela, doit s'ajouter une organisation qui donne au matériau massif les propriétés de ses composants microscopiques.

Nous nous intéresserons uniquement dans cette partie aux matériaux moléculaires et aux types d'organisations nécessaires pour avoir une non linéarité macroscopique d'ordre 2 [62, 63].

Hyperpolarisabilité moléculaire

La *diode moléculaire* est un schéma élémentaire couramment retenu pour obtenir une polarisation d'ordre 2 (fig. 2.1). Ces molécules, constituées d'un groupement donneur et d'un groupement accepteur reliés par un pont conjugué, exhibent une hyperpolarisabilité non nulle. Dans le cas de la diode moléculaire illustrée en fig. 2.1, la non centrosymétrie permet d'avoir une réponse non linéaire où les électrons se déplaceront préférentiellement du donneur vers l'accepteur....sens à vérifier Ainsi, un champ électrique positif (selon le sens donné sur la fig. 2.1) force un déplacement des électrons de l'accepteur vers le donneur, donc dans une direction qui est facilitée par les propriétés des groupements aux extrémités de la molécule. On a dans ce sens une forte susceptibilité. Pour un champ électrique négatif, les électrons se déplacent moins car les propriétés des groupements donneurs et accepteurs s'opposent au mouvement induit par le champ électrique. La susceptibilité est alors plus faible dans ce sens. C'est ce déplacement préférentiel des électrons dans une direction, à l'échelle de la molécule, qui justifie le nom de *diode moléculaire*. Dans le cas d'une excitation sinusoïdale (à fréquence unique), la polarisation fera apparaître des harmoniques traduisant les hyperpolarisabilités recherchées comme cela est illustré en fig. 2.2.

Bien entendu, pour une excitation avec une somme de sinusoïdes de fréquences différentes,

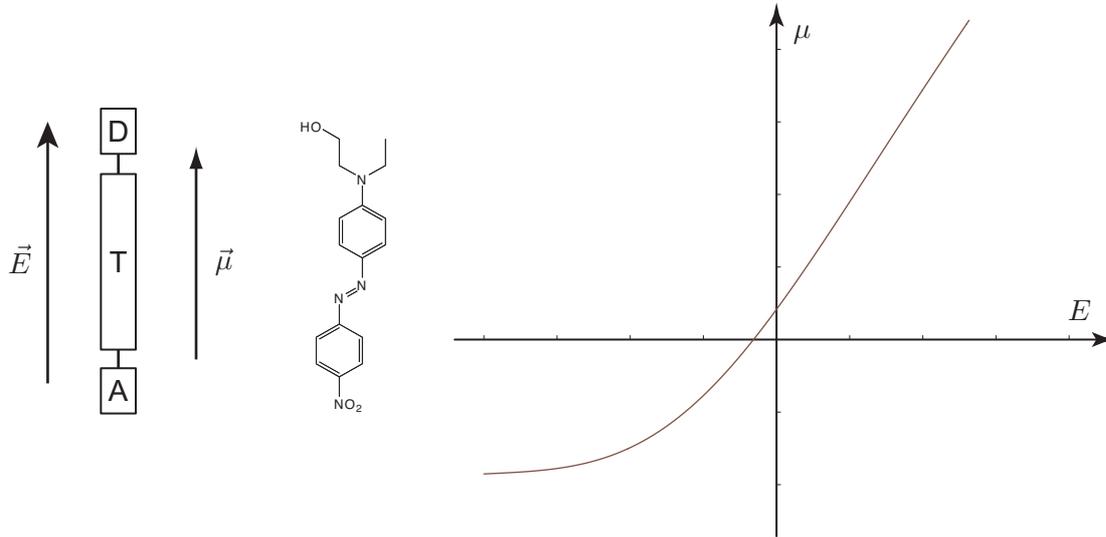


FIG. 2.1: Susceptibilité non linéaire d'une molécule selon le schéma de la diode moléculaire. Exemple du Disperse Red One. La courbe ne passe pas par l'origine à cause du moment dipolaire statique de la molécule. (graphe sans échelles)

les phénomènes décrits dans la partie précédente se retrouvent à l'échelle nanoscopique. phrase précédente à expliciter...

Dans le domaine fréquentiel, c'est-à-dire en travaillant avec des faisceaux monochromatiques, on définit l'hyperpolarisabilité β_{IJK} par :

$$\mu(\omega_1 + \omega_2)_I = \varepsilon_0 \beta_{IJK} (\omega_1 + \omega_2) E(\omega_1)_J E(\omega_2)_K \quad (2.9)$$

Le tableau 2.1.2 donne les ordres de grandeur courants de la polarisabilité et des hyperpolarisabilités moléculaires. La valeur faible correspond au minimum utilisable pour des applications raisonnables, la valeur typique à ce qui est facilement disponible et qui donne de bonnes performances, la valeur haute à des matériaux aux propriétés exceptionnelles.

Idées sur la structuration des matériaux non linéaires

L'existence d'une hyperpolarisabilité moléculaire est une condition nécessaire, mais non suffisante, pour avoir un matériau non linéaire à l'échelle macroscopique. La structure du matériau doit garantir en outre la coopérativité des entités moléculaires microscopiques. On peut regrouper les matériaux selon trois catégories génériques de propriétés non linéaires du deuxième ordre dépendant de leur structuration :

- La structure du matériau garantit une *annulation exacte de la polarisation non linéaire induite*.

Par exemple, une orientation « tête-bêche » des molécules dans la maille cristalline

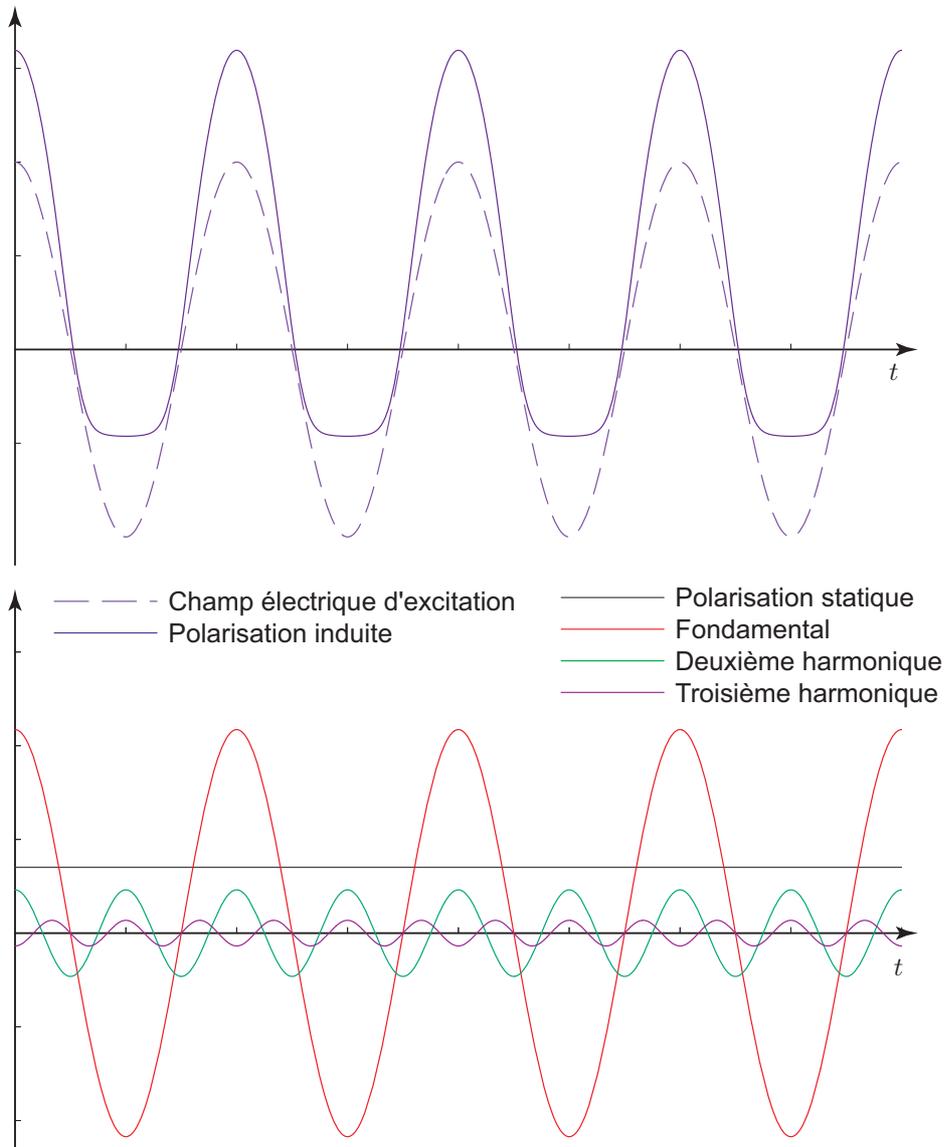


FIG. 2.2: Réponse d'une molécule à un champ électrique. Décomposition de la réponse en série de Fourier. (unités arbitraires, les ordres de grandeur des hyperpolarisabilités ne sont pas réalistes).

donne des interférences destructives entre les nouvelles fréquences générées. Ce point est détaillé dans la suite.

- La structure du matériau donne des polarisations induites incohérentes.

On a, dans ce cas, une *intensité totale proportionnelle au nombre d'émetteurs*. Une orientation amorphe rend les déphasages relatifs des ondes générées par chacune des molécules aléatoires. Les générations de fréquences sont alors incohérentes.

ordre	notation	valeur basse	valeur typique	valeur haute	unité (S.I.)
1	α	10^{-24}	10^{-23}	2.10^{-22}	m^3
2	β	2.10^{-39}	2.10^{-38}	2.10^{-37}	$\text{m}^4 \cdot \text{V}^{-1}$
3	γ	4.10^{-50}	4.10^{-48}	4.10^{-46}	$\text{m}^5 \cdot \text{V}^{-2}$

définis par $\mu_I = \varepsilon_0 (\alpha_{IJ} E_J + \beta_{IJK} E_J E_K + \alpha_{IJKL} E_J E_K E_L + \dots)$
où $\vec{\mu}$ est le moment dipolaire moléculaire et \vec{E} le champ électrique local

TAB. 2.2: Ordres de grandeurs des polarisabilités et hyperpolarisabilités moléculaires. Les valeurs typiques sont celles couramment rencontrées. Les valeurs basses constituent le minimum acceptable pour des travaux en optique non linéaire moléculaire. Les valeurs hautes réfèrent à de très bons chromophores (et non pas nécessairement les meilleurs).

- Les polarisations induites sont mutuellement cohérentes grâce à la structure du matériau. L'intensité totale émise est alors proportionnelle au carré du nombre d'émetteurs. Une orientation unique de molécules donne ce type d'émission.

Les trois catégories précédentes sont des cas limites. Un matériau orienté en phase fluide sous champ électrique présentera une orientation moléculaire décrite par une statistique de Boltzmann, aboutissant alors à une polarisation induite partiellement cohérente. On passera de polarisations incohérentes à des polarisations cohérentes en augmentant l'intensité du champ d'orientation.

Les effets non linéaires étant généralement assez faibles, on cherchera souvent à se placer aussi près que possible du troisième cas. Font par exemple exception les mesures de *diffusion harmonique de la lumière*.

Dans le cas des effets non linéaires quadratiques, une émission cohérente requiert une structure globalement non centrosymétrique. Illustrons ceci à l'échelle microscopique.

Considérons un cas simple de structure centrosymétrique qui illustre physiquement le phénomène : les molécules sont orientées tête-bêche (fig.2.3).

La distance intermoléculaire étant très petite devant la longueur d'onde (donc *a fortiori* devant la longueur de cohérence), on néglige les problèmes de propagation. La molécule *a* génère une polarisation, dans un repère qui lui est lié :

$$\vec{\mu}_a^{(2)} \Big|_a = \beta \Big|_a \bullet \vec{E}_1 \Big|_a \otimes \vec{E}_2 \Big|_a \quad (2.10)$$

Et pour la molécule *b*, dans le repère qui lui est lié :

$$\vec{\mu}_b^{(2)} \Big|_b = \beta \Big|_b \bullet \vec{E}_1 \Big|_b \otimes \vec{E}_2 \Big|_b = -\beta \Big|_a \bullet -\vec{E}_1 \Big|_a \otimes -\vec{E}_2 \Big|_a = -\vec{\mu}_a^{(2)} \Big|_a \quad (2.11)$$

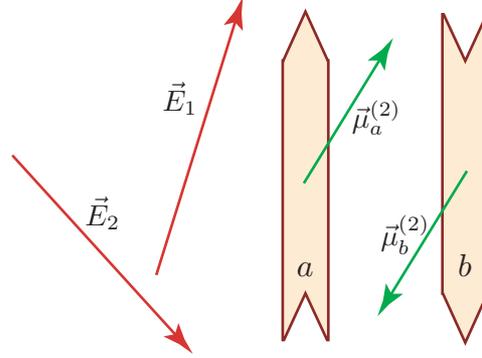


FIG. 2.3: Maille d'un cristal moléculaire où les molécules sont orientées tête-bêche.

L'ordre 2 des moments dipolaires induits s'annulent. Les mailles constituées par deux molécules disposées tête-bêche ne présentent pas de première hyperpolarisabilité, donc le matériau massif est lui aussi inactif pour l'optique non linéaire quadratique.

On peut démontrer simplement ce résultat dans le cas général. Le changement de repère du tenseur $\chi^{(2)}$ selon la transformation T est donné par :

$$\chi_{ijk}^{(2)} = T_{ii'} T_{jj'} T_{kk'} \chi_{i'j'k'}^{(2)} \quad (2.12)$$

Pour l'opération de centrosymétrie, on a $T_{ii'} = -\delta_{ii'}$, où δ_{ij} est le symbole de Kronecker, donc :

$$\chi_{ijk}^{(2)} = (-\delta_{ii'}) (-\delta_{jj'}) (-\delta_{kk'}) \chi_{i'j'k'}^{(2)} = -\chi_{ijk}^{(2)} \quad (2.13)$$

On a alors toujours pour les milieux centrosymétriques :

$$\chi_{ijk}^{(2)} = 0 \quad (2.14)$$

De l'hyperpolarisabilité à la polarisation non linéaire

Le terme de polarisation est utilisé pour la description des propriétés non linéaires du matériau macroscopique. La polarisabilité renvoie, quant à elle, au comportement du composant nanoscopique. Malgré la différence de vocabulaire, qui spécifie l'ordre de grandeur de l'étude, et donc les phénomènes spécifiques à prendre en compte, le principe physique est le même.

La polarisation non linéaire est donc la somme des polarisabilités, en tenant compte de la statistique d'orientation et du facteur de champ local. On a ainsi l'expression générale suivante pour le 2^e ordre :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega_1 + \omega_2; \omega_1, \omega_2) = N f(\omega_1) f(\omega_2) f(\omega_1 + \omega_2) \iint \beta_{IJK}(\omega_1 + \omega_2; \omega_1, \omega_2) (I, i)(J, j)(K, k) P(\check{\Omega}) d\check{\Omega} \quad (2.15)$$

L'intégrale porte sur l'angle solide $\check{\Omega}$. Dans le cas d'un alignement parfait, la probabilité d'orientation $P(\check{\Omega})$ est décrite par une fonction de Dirac. Pour une orientation sous champ électrostatique, on postule, à l'équilibre, une loi de Boltzmann.

(I, i) , (J, j) et (K, k) sont les cosinus directeurs des angles de changement de repère $\{I, J, K\}$ vers $\{i, j, k\}$.

$f(\omega_i)$ est le facteur de champ local : à l'échelle moléculaire, le champ vu est la somme du champ extérieur *et* du champ créé par les molécules environnantes en réponse au champ local. Le facteur de champ local donne la correction à apporter pour tenir compte de ce problème auto-cohérent. Selon le modèle de Clausius-Mosotti [66] ou les relations d'Onsager [67], il vaut :

$$f(\omega_i) = \frac{\varepsilon_r(\omega_i) + 2}{3} \quad (2.16)$$

$P(\check{\Omega})$ est la probabilité pour un chromophore d'être dirigé selon l'angle solide $\check{\Omega}$ et N est la densité de chromophores. L'angle solide est associé aux angles d'Euler : $\check{\Omega} = (\theta, \varphi, \psi)$. Dans le cas de molécules unidimensionnelles, les deux premiers angles θ et φ suffisent à déterminer l'orientation des molécules individuelles.

2.1.3 L'effet électro-optique linéaire

Présentation générale de l'effet électro-optique linéaire

On dénomme souvent *effet électro-optique* tout couplage possible entre un champ électrique statique³ et un champ électromagnétique aux fréquences optiques. Nous restreignons ici cette définition aux modifications de l'ellipsoïde des indices d'un milieu sous l'action d'un champ électrique statique, l'effet Pockels étant alors l'effet électro-optique linéaire. N'ayant, pour l'instant, pas mis en évidence d'effets d'ordres supérieurs (tels que l'effet Kerr électrique) avec le microscope électro-optique, ils ne seront pas abordés ici.

L'effet Pockels est un cas particulier de polarisation non linéaire. C'est la somme des générations de fréquences somme et différence d'un champ optique et d'un champ statique. Dans ce cas, la polarisation non linéaire macroscopique du matériau est donnée par :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \iint \beta_{ijk}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) \cdot P(\check{\Omega}) d\check{\Omega} \quad (2.17)$$

où les coordonnées i , j et k renvoient au repère macroscopique. $f(\omega)$ et $f(\Omega)$ sont les facteurs de champs locaux à fréquence optique et à fréquence nulle.

Les coordonnées macroscopiques ne conviennent pas à l'expression de l'hyperpolarisabilité

³ Nous considérerons comme statiques les champs d'une fréquence inférieure au GHz.

pour laquelle les coordonnées moléculaires sont plus adaptées. En notant $\{I, J, K\}$ ce système de coordonnées et (I, i) , (J, j) et (K, k) les cosinus directeurs, l'expression 2.17 devient :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \sum_{I, J, K} \iint \beta_{IJK}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) \cdot P(\check{\Omega}) (I, i) \cdot (J, j) \cdot (K, k) d\check{\Omega} \quad (2.18)$$

En notant la fréquence du champ statique Ω et celle du champ optique ω , la polarisation à l'origine de l'effet Pockels est :

$$P_i^p(\omega) = P_i^{(2)}(\omega + \Omega) + P_i^{(2)}(\omega - \Omega) \quad (2.19)$$

$$\text{avec } P_i^{(2)}(\omega + \Omega) = \varepsilon_0 \sum_{jk} \chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) E_j(\omega) E_k(\Omega) \quad (2.20)$$

$$\text{et } P_i^{(2)}(\omega - \Omega) = \varepsilon_0 \sum_{jk} \chi_{ijk}^{(2)}(\omega - \Omega; \omega, -\Omega) E_j(\omega) E_k(-\Omega) \quad (2.21)$$

L'effet électro-optique étant un effet non linéaire du deuxième ordre, il ne peut apparaître que dans des milieux non centrosymétriques comme il a été montré en partie 2.1.2.

Point de vue adiabatique

La fréquence du champ statique est très petite devant la fréquence du champ optique ($\Omega/\omega \ll 10^{-6}$). Le couplage entre les champs n'apparaît pas aussi directement que pour les processus de génération de somme ou de différence de fréquences optiques. Dans ces derniers cas, on considère que le matériau couple les champs pour en générer un autre, alors que pour l'effet électro-optique, on peut considérer qu'à chaque instant le champ optique ω « voit » un champ électrique Ω statique.

On adoptera donc ici un point de vue *adiabatique* : comme la différence entre les fréquences est importante, on peut considérer qu'à l'échelle du champ optique, le champ statique modifie lentement le matériau sans se coupler *directement* au champ optique. Ce champ statique modifie les propriétés du matériau dans lequel se propage la lumière.

Formellement, cela revient à l'approximation :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) \approx \chi_{ijk}^{(2)}(\omega - \Omega; \omega, -\Omega) \approx \chi_{ijk}^{(2)}(\omega + 0; \omega, 0) \quad (2.22)$$

La polarisation « Pockels » peut ainsi être réécrite :

$$P_i^p(\omega) = \varepsilon_0 \sum_j \left(\sum_k \chi_{ijk}^{(2)}(\omega + 0; \omega, 0) (E_k(\Omega) + E_k(-\Omega)) \right) E_j(\omega) \quad (2.23)$$

$$= \varepsilon_0 \sum_j \left(2 \sum_k \chi_{ijk}^{(2)}(\omega + 0; \omega, 0) E_k(0) \right) E_j(\omega) \quad (2.24)$$

On peut mettre cette dernière expression sous la forme :

$$\vec{P}^p(\omega) = \varepsilon_0 \chi^{(1)p} \bullet \vec{E}(\omega) \quad (2.25)$$

$$\text{avec } \chi^{(1)p} = 2 \sum_k \chi_{ijk}^{(2)}(\omega + 0; \omega, 0) E_k(0) \quad (2.26)$$

On considère d'ailleurs souvent l'effet Pockels comme un peu en marge de l'optique non linéaire⁴. On voit ce phénomène non comme l'interaction non linéaire de deux champs électromagnétiques dans la matière, mais comme l'action d'un champ électrique statique sur l'indice d'un milieu. Ce point de vue, strictement équivalent, sera plus efficace pour le problème que nous considérons tout au long de cette thèse. On interprète physiquement ce point de vue en remarquant que, sous champ électrique, on assiste à une redistribution de la géométrie des électrons dans une molécule, qui se traduit par un déplacement des niveaux d'énergie et des forces d'oscillateur (effet Stark), et une modification éventuelle de la statistique d'orientation moléculaire. Les propriétés optiques du matériau telles que l'indice de réfraction peuvent ainsi être modifiées par le champ électrique.

Tenseur électro-optique

La relation constitutive entre le champ et le déplacement électrique est :

$$D_i = \varepsilon_0 \sum_j \varepsilon_{ij} E_j \quad \text{ou} \quad E_i = \frac{1}{\varepsilon_0} \sum_j \eta_{ij} D_j \quad (2.27)$$

où ε_{ij} est le tenseur perméabilité diélectrique et η_{ij} le tenseur imperméabilité diélectrique⁵ tel que $[\eta] = [\varepsilon]^{-1}$. Dans un milieu diélectrique non absorbant, η est un tenseur réel symétrique. On a ainsi :

$$\begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix} = \varepsilon_0 \begin{pmatrix} \eta_{xx} & \eta_{xy} & \eta_{xz} \\ \eta_{xy} & \eta_{yy} & \eta_{yz} \\ \eta_{xz} & \eta_{yz} & \eta_{zz} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} D_x \\ D_y \\ D_z \end{pmatrix} \quad (2.28)$$

La densité d'énergie d'exprime alors par :

$$U = \frac{\vec{E} \cdot \vec{D}}{2} = \frac{1}{2} (\eta_{xx} D_x^2 + \eta_{yy} D_y^2 + \eta_{zz} D_z^2 + 2\eta_{yz} D_y D_z + 2\eta_{xz} D_x D_z + 2\eta_{xy} D_x D_y) \quad (2.29)$$

⁴ Historiquement, John Kerr et Agnès Pockels anticipent de plus de 60 ans l'optique non linéaire « laser ».

⁵ Pourquoi utilise-t-on η alors que ε semble si bien convenir ? Parce que, pour la suite des événements, il faudrait diagonaliser ε . Ce n'est pas bien difficile, mais cela alourdirait inutilement les expressions, d'où la simplification recherchée par cette notation.

On définit l'ellipsoïde des indices comme étant la surface isoénergétique à partir de laquelle on peut déduire toutes les propriétés de propagation et de polarisation du champ optique :

$$\eta_{xx} x^2 + \eta_{yy} y^2 + \eta_{zz} z^2 + 2\eta_{yz} yz + 2\eta_{xz} xz + 2\eta_{xy} xy = 1 \quad (2.30)$$

En introduisant l'indice de réfraction et la notation contractée $1 = xx$, $2 = yy$, $3 = zz$, $4 = yz$, $5 = xz$, $6 = xy$, cette expression devient :

$$\left(\frac{1}{n^2}\right)_1 x^2 + \left(\frac{1}{n^2}\right)_2 y^2 + \left(\frac{1}{n^2}\right)_3 z^2 + 2\left(\frac{1}{n^2}\right)_4 yz + 2\left(\frac{1}{n^2}\right)_5 xz + 2\left(\frac{1}{n^2}\right)_6 xy = 1 \quad (2.31)$$

En se plaçant dans le repère principal, c'est-à-dire dans le système d'axe XYZ qui diagonalise la matrice de permittivité relative, l'expression de l'ellipsoïde d'isoénergie devient :

$$\eta_{XX} X^2 + \eta_{YY} Y^2 + \eta_{ZZ} Z^2 = 1 \quad (2.32)$$

Annulant alors l'indice selon les coordonnées 4, 5 et 6.

Dans le cas de l'effet électro-optique, un champ électrique extérieur modifie l'ellipsoïde des indices. On développe la perturbation en puissances du champ :

$$\left(\frac{1}{n^2}\right)_i = \left(\frac{1}{n^2}\right)_i^{(0)} + \sum_j r_{ij} E_j + \sum_{jk} s_{ijk} E_j E_k + \dots \quad (2.33)$$

avec $i, j, k = 1, \dots, 6$.

L'effet Pockels ne retient que le premier terme de ce développement en fonction du champ électrique appliqué (le suivant correspond à l'effet Kerr électrique). On a donc, de manière générale, en notation explicite :

$$\begin{pmatrix} \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_1 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_2 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_3 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_4 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_5 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_6 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} r_{11} & r_{12} & r_{13} \\ r_{21} & r_{22} & r_{23} \\ r_{31} & r_{32} & r_{33} \\ r_{41} & r_{42} & r_{43} \\ r_{51} & r_{52} & r_{53} \\ r_{61} & r_{62} & r_{63} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} E_X \\ E_Y \\ E_Z \end{pmatrix} \quad (2.34)$$

A cause de la modification de l'ellipsoïde par un champ électrique, un milieu *uniaxe* peut devenir *biaxe*. Les propriétés de symétrie du milieu considéré induisent des relations entre les coefficients qui en annulent la plupart. Ce sera le cas dans les trois matériaux traités dans la suite de ce manuscrit.

Application au modulateur de phase

Le modulateur de phase utilisé comme référence pour le microscope électro-optique est une cellule de KDP (phosphate de dihydrogénépotassium, $NH_4H_2PO_4$) taillée perpendiculairement à son axe optique (placé suivant z dans la suite).

Les propriétés de symétrie du KDP permettent de réduire son tenseur électro-optique à 3 coefficients [38, 56] avec :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ r_{41} & 0 & 0 \\ 0 & r_{41} & 0 \\ 0 & 0 & r_{63} \end{pmatrix} \quad (2.35)$$

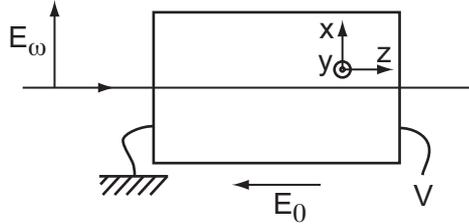


FIG. 2.4: Configuration du modulateur au KDP taillé perpendiculairement à son axe optique.

On montre en Annexe A que pour la configuration donnée en fig. 2.4 où un potentiel électrique V est appliqué sur le cristal, les variations de phase du faisceau valent :

$$\Delta\varphi = \pi \frac{V}{V_\pi} \quad \text{avec} \quad V_\pi = \frac{\lambda}{n_o^3 r_{63}} \quad (2.36)$$

La notation retenue ici pour V_π n'est généralement pas celle utilisée dans la littérature où l'on préfère étudier d'autres configurations.

Pour le cristal utilisé à $\lambda = 632,8$ nm, on a $V_\pi = 7,4$ kV.

Effet Pockels dans les films polymères orientés

Dans les matériaux organiques, un ordre non centrosymétrique peut s'obtenir par ingénierie cristalline, en matrice polymère avec une orientation (par méthode électrostatique ou optique) ou encore en travaillant avec des couches monomoléculaires [68]. Le cas des polymères orientés sous champ électrique a été le plus exploité pour la réalisation de composants optoélectroniques [69].

Dans les composants réalisés, le tenseur électro-optique a approximativement (à champ « faible ») la forme suivante :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & \frac{r_{33}}{3} \\ 0 & 0 & \frac{r_{33}}{3} \\ 0 & 0 & r_{33} \\ 0 & \frac{r_{33}}{3} & 0 \\ \frac{r_{33}}{3} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (2.37)$$

avec

$$r_{33} = -\frac{p N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{zzz}}{5 n_3^4} \quad \text{où} \quad p = \frac{\mu E}{k_B T} \quad \text{et} \quad f(\omega) = \frac{\varepsilon(\omega) + 2}{3} \quad (2.38)$$

Le facteur p donne « l'efficacité » de l'orientation sous champ électrique, N la densité de chromophores dans le matériau et $f(\omega)$ est le facteur de champ local à la pulsation ω .

Le détail du calcul donnant ce résultat est donné au Chapitre 4. Le champ électrique d'orientation des chromophores n'étant pas dirigé totalement selon z , ni parfaitement homogène, ce tenseur est une approximation valable à 10% près. Le calcul analytique ainsi que les détails sont donnés au Chapitre 4.

Effet électro-optique dans des films de Langmuir-Blodgett

Les films de Langmuir-Blodgett sont les structures qui se rapprochent le plus des membranes biologiques.

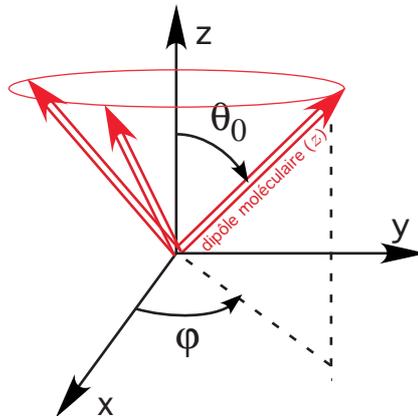


FIG. 2.5: Angles relatifs au modèle d'orientation des colorants dans la membrane. Le chromophore est orienté selon un angle θ_0 constant par rapport à la normale de la membrane (dit « angle de tilt », φ étant l'azimut aléatoire).

On peut utiliser un modèle très simple de colorants insérés dans une membrane. On dope un seul côté d'une membrane avec des colorants qui s'insèrent avec un angle θ_0 constant par rapport à la normale. Avec le système de notation donné en fig. 2.5, on montre que le tenseur électro-optique a la forme suivante :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & r_{13} \\ 0 & 0 & r_{13} \\ 0 & 0 & r_{33} \\ 0 & r_{13} & 0 \\ r_{13} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (2.39)$$

avec :

$$r_{13} = -\frac{N_s f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{e n^4} \sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \quad (2.40)$$

$$r_{33} = -\frac{N_s f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{e n^4} 2 \cos^3 \theta_0 \quad (2.41)$$

N_s est la densité surfacique de chromophores et e est l'épaisseur de la membrane.

Les calculs sont détaillés au Chapitre 6 en section 6.1.2. On sera pas étonné de retrouver une structure très semblable à celle du polymère orienté : la répartition des chromophores a la même symétrie ($C_{\infty v}$ suivant z). Seul le facteur 3 entre le r_{33} et le r_{13} disparaît, il est donné par le modèle de Langevin à faible paramètre d'ordre.

2.2 L'interférométrie homodyne

Le système de mesure des variations de phase est basé sur une technique d'homodyne qui est la fonction « centrale » de l'instrument. Elle a été retenue pour la sensibilité exceptionnelle qu'elle permet d'obtenir au prix d'une mise en œuvre techniquement et financièrement abordable [50–52].

L'interférométrie homodyne consiste à mélanger un faisceau de faible intensité, dit *signal*, portant les informations à un faisceau référence de forte intensité, dit *oscillateur local*. On verra que la différence des intensités obtenues nous renseigne sur le faisceau signal. Le principe théorique est détaillé dans ce chapitre, la mise en œuvre pratique le sera dans le suivant. Les dénominations *homodyne* et *hétérodyne* ne sont pas parfaitement fixées et font encore l'objet d'usages parfois controversés. Dans le cas présent, on mélange un faisceau de fréquence unique ω (oscillateur local) avec un faisceau de fréquences $\omega + p\Omega$ avec $p \in \mathbb{Z}$ (signal). On pourrait donc utiliser la dénomination d'interférométrie hétérodyne puisque les fréquences mélangées sont pour certaines différentes. Toutefois, la faible valeur de Ω permet à la chaîne de

traitement du signal d'enregistrer en temps réel le glissement de phase du signal par rapport à l'oscillateur local. Cette résolution temporelle nous permet donc de considérer l'enregistrement non comme un hétérodynage, mais comme un homodynage avec une variation de la phase du signal. C'est pour cette raison que j'ai retenu la dénomination d'interférométrie homodyne⁶.

2.2.1 Principe général

Le schéma de principe d'une détection homodyne est donné en fig. 2.6. L'amplitude dans

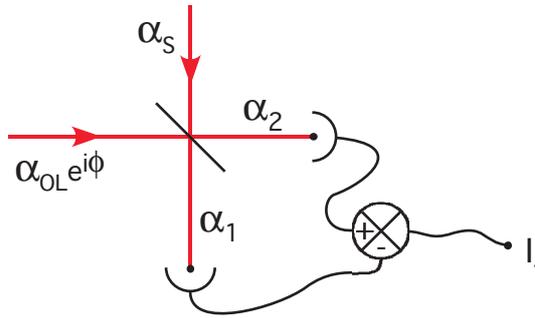


FIG. 2.6: Schéma de principe d'une détection homodyne. Le miroir est semi-transparent.

la voie *signal* est notée α_s , elle est choisie arbitrairement à valeur moyenne réelle. On notera l'amplitude de la voie *oscillateur local* $\alpha_{OL}e^{i\phi}$ où ϕ est la valeur moyenne de la différence de phase entre les amplitudes du *signal* et de l'*oscillateur local*. α_{OL} est donc aussi à valeur moyenne réelle. Les amplitudes notées α sont reliées à l'amplitude du champ électrique a via la relation $\alpha = \sqrt{c\epsilon_0}a$ de sorte que l'on ait la relation simple $I = |\alpha|^2$. La polarisation a été volontairement omise afin d'alléger les notations tout en ne restreignant pas le problème puisque seules les composantes de même polarisation interfèrent. Elle sera occasionnellement réintroduite lorsque ce sera nécessaire.

Les amplitudes émergentes du miroir semi-transparent sont :

$$\alpha_1 = \frac{1}{\sqrt{2}} (\alpha_{OL}e^{i\phi} + \alpha_s) \quad (2.42)$$

$$\alpha_2 = \frac{1}{\sqrt{2}} (\alpha_{OL}e^{i\phi} - \alpha_s) \quad (2.43)$$

ce qui donne les intensités incidentes sur les photodiodes :

$$I_1 = |\alpha_1|^2 = \frac{1}{2} |\alpha_{OL}e^{i\phi} + \alpha_s|^2 \quad (2.44)$$

$$I_2 = |\alpha_2|^2 = \frac{1}{2} |\alpha_{OL}e^{i\phi} - \alpha_s|^2 \quad (2.45)$$

⁶ Et le nom ne changeant pas le phénomène physique...

En fonction des sensibilités ρ_i des détecteurs et des intensités incidentes I_i , les photocourants i_1 et i_2 valent respectivement :

$$i_1 = \rho_1 I_1 \quad (2.46)$$

$$i_2 = \rho_2 I_2 \quad (2.47)$$

Afin d'équilibrer la détection homodyne, on fait la différence entre les photocourants pondérés. Cette fonctionnalité, non représentée sur le schéma 2.6, est intégrée aux préamplificateurs :

$$\delta i_- = i_1 - \frac{\rho_1}{\rho_2} i_2 = \rho_1 (I_1 - I_2) \quad (2.48)$$

On simplifiera la notation par $\rho = \rho_1$. On notera qu'en pratique, la différence entre les rendements quantiques des photodiodes est suffisamment faible pour qu'on puisse la négliger dans le cadre de ce montage.

Afin de simplifier les calculs et les résultats, on ne raisonne pas sur le photocourant, mais sur l'intensité lumineuse qui lui est associée. Les problèmes de dissymétrie sur lesquels nous renseigne la différence entre ρ_1 et ρ_2 sont à prendre en compte lorsqu'on travaille avec des états non classiques de la lumière, ce qui n'est pas le cas avec le microscope électro-optique présenté dans sa version actuelle.

La somme des photocourants vaut :

$$I_+ = I_1 + I_2 \quad (2.49)$$

$$= \frac{1}{2} \left| \alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} + \alpha_{\text{S}} \right|^2 + \frac{1}{2} \left| \alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} - \alpha_{\text{S}} \right|^2 \quad (2.50)$$

$$= I_{\text{OL}} + I_{\text{S}} \quad (2.51)$$

et la différence des photocourants :

$$I_- = I_1 - I_2 \quad (2.52)$$

$$= \frac{1}{2} \left| \alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} + \alpha_{\text{S}} \right|^2 - \frac{1}{2} \left| \alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} - \alpha_{\text{S}} \right|^2 \quad (2.53)$$

$$= \alpha_{\text{OL}} \alpha_{\text{S}}^* e^{i\phi} + \alpha_{\text{OL}}^* \alpha_{\text{S}} e^{-i\phi} \quad (2.54)$$

$$= 2\Re \left(\alpha_{\text{OL}} \alpha_{\text{S}}^* e^{i\phi} \right) \quad (2.55)$$

Pour calculer la variation de la différence des photocourants, on sépare valeur moyenne et fluctuation dans les amplitudes :

$$\alpha_{\text{OL}} = \bar{\alpha}_{\text{OL}} + \delta\alpha_{\text{OL}} \quad (2.56)$$

$$\alpha_{\text{S}} = \bar{\alpha}_{\text{S}} + \delta\alpha_{\text{S}} \quad (2.57)$$

L'expression 2.55, avec $\bar{\alpha}_{\text{OL}}$ et $\bar{\alpha}_{\text{S}}$ réels, donne au premier ordre en perturbation :

$$\delta I_- = 2\Re \left(\bar{\alpha}_{\text{OL}} \delta\alpha_{\text{S}}^* e^{i\phi} + \bar{\alpha}_{\text{S}}^* \delta\alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} \right) \quad (2.58)$$

Dans la détection homodyne, les intensités des voies sont volontairement très déséquilibrées de manière à avoir $I_{OL} \gg I_s$ et en particulier :

$$\bar{\alpha}_s \ll \bar{\alpha}_{OL} \quad (2.59)$$

Les fluctuations étant *a priori* du même ordre de grandeur, la relation 2.58 se simplifie en :

$$\delta I_- = 2\bar{\alpha}_{OL} \Re\left(\delta\alpha_s^* e^{i\phi}\right) \quad (2.60)$$

Dans ce montage, c'est la variation de phase du faisceau traversant l'échantillon qui nous intéresse. On asservit alors le déphasage moyen à $\phi = \frac{\pi}{2}$, indépendant du temps. La relation 2.60 devient alors :

$$\delta I_- = 2\bar{\alpha}_{OL} \Re\left(\delta\alpha_s^* e^{i\frac{\pi}{2}}\right) \quad (2.61)$$

$$= 2\bar{\alpha}_{OL} \Im(\delta\alpha_s) \quad (2.62)$$

Les échantillons retenus font varier la phase du faisceau les traversant, mais ont très peu d'incidence sur sa polarisation et aucune sur son amplitude. On note $\Delta\varphi$ les variations de phase subies par le faisceau *signal* traversant l'échantillon. On réécrit ainsi l'amplitude du signal :

$$\alpha_s = \bar{\alpha}_s e^{i\Delta\varphi} \quad (2.63)$$

L'expression précédente semble réductrice, car elle impose que $\overline{\Delta\varphi} = 0$, on ne peut donc pas imposer un déphasage moyen non nul au *signal*. C'est cependant bien ce qui se passe physiquement : la boucle à verrouillage de phase optique (décrite un peu plus loin) voit la valeur moyenne de $\Delta\varphi$ comme étant une partie de ϕ (au signe près). C'est une limitation du microscope électro-optique : on ne peut pas mesurer les déphasages à trop basse fréquence. Ce problème, à considérer pour les échantillons biologiques, sera levé par un dispositif de balayage présenté au dernier chapitre de cette thèse.

Dans le cas de faibles valeurs de $\Delta\varphi$, l'expression 2.63 devient :

$$\delta\alpha_s = \bar{\alpha}_s i\Delta\varphi \quad (2.64)$$

Ce qui, introduit dans l'expression 2.62, amène au résultat attendu :

$$\delta I_- = 2\bar{\alpha}_{OL} \Im(i\bar{\alpha}_s \Delta\varphi) \quad (2.65)$$

$$= 2\bar{\alpha}_{OL}\bar{\alpha}_s \Delta\varphi \quad (2.66)$$

En introduisant les intensités de chaque voie, la relation précédente devient :

$$\delta I_- = 2\sqrt{\bar{I}_{OL}\bar{I}_s} \Delta\varphi \quad (2.67)$$

Un asservissement à $-\frac{\pi}{2}$ donne le même résultat au signe près. On ne cherchera pas à savoir si on asservit à $+\frac{\pi}{2}$ ou à $-\frac{\pi}{2}$, ceci n'a pas d'intérêt dans la mesure où le coefficient de

proportionnalité (et aussi son signe) sera mesuré par une cellule à effet Pockels de référence. Cette méthode permet aussi de prendre en compte le taux de recouvrement des faisceaux qui a été considéré parfait dans ce calcul.

2.2.2 Le système d'asservissement

La détection homodyne ne mesure les variations de phase dans l'échantillon que si la phase relative moyenne entre les deux voies est $\pm \frac{\pi}{2}$. On a alors deux possibilités : soit on laisse glisser la phase et on enregistre « à la volée » les valeurs des photocourants lorsqu'on passe sur la bonne quadrature [70], soit on l'asservit et on a un résultat disponible en permanence [52]. Dans le cas du microscope électro-optique, la première solution n'est pas intéressante. Aucune autre quadrature que $\pm \frac{\pi}{2}$ ne nous intéresse, on illuminerait donc l'échantillon inutilement pendant l'essentiel du temps de la mesure, accélérant par là son vieillissement. D'autre part, on ralentirait la prise de mesures tout en prenant le risque de manquer un événement intéressant. On a donc opté pour la seconde solution qui nécessite un asservissement. D'une manière générale, on ne retient la première méthode que lorsqu'on a besoin d'accéder à un grand nombre de quadratures auxquelles l'asservissement s'avère difficile (au voisinage de 0 et π) [70, 71]. Dans le cas d'une détection homodyne verrouillée à une quadrature, l'asservissement de la phase relative entre les deux voies revient à un asservissement de chemin optique modulo une longueur d'onde. On stabilise ce chemin en déplaçant un miroir sur la voie *oscillateur local* de l'interféromètre.

Principe général des systèmes asservis

Le principe général d'un asservissement est donné en fig. 2.7, on emploie les notations usuelles de la transformée de Laplace. Les asservissements sont utilisés pour stabiliser la

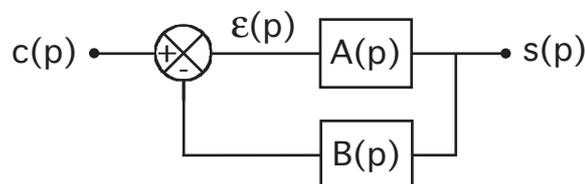


FIG. 2.7: Schéma général d'un système asservi linéaire. La comparaison de la consigne $c(p)$ avec ce que renvoie la boucle de retour $B(p)$ peut permettre de stabiliser le système : les écarts de $s(p)$ à sa valeur attendue sont pris en compte.

réponse de systèmes ayant une forte tendance à fluctuer ou pour améliorer la qualité de la réponse à une consigne. Ces deux applications sont utilisées simultanément pour le microscope

électro-optique : on rend les points de fonctionnement stables sur un voisinage de $\frac{\pi}{2}$ puis on verrouille la phase à cette quadrature.

Sans la boucle de rétroaction, la consigne $c(p)$ est simplement modifiée par le bloc $A(p)$. Pour cette raison, $A(p)$ est appelée *fonction de transfert en boucle ouverte* (FTBO) qui est la réponse du système non asservi à la consigne autour du point de fonctionnement. Dans certains cas, le point de fonctionnement n'est pas stable sans contre-réaction. La définition pratique de la FTBO peut alors être délicate car elle correspond à la réponse d'un système autour d'un point instable. C'est le cas du microscope électro-optique ; cette difficulté sera détaillée au chapitre suivant.

En boucle ouverte, la sortie ne correspond pas exactement (ni instantanément) à la consigne. Cet écart peut être dû au temps de réponse du système, à des oscillations, à une incertitude sur $A(p)$, au bruit extérieur, etc. Afin d'améliorer la qualité de la réponse, on ajoute une boucle de rétroaction qui va modifier le signal traité par le bloc A . Notons qu'on ne peut jamais obtenir de réponse instantanée, on doit se contenter d'un compromis entre stabilité, précision et temps de réponse. On obtient le système le mieux asservi possible quand la réponse générale du système ne peut plus être améliorée pour l'utilisation donnée.

Le principe physique d'un asservissement est le suivant : si la réponse est légèrement supérieure à ce qui est attendu, compte tenu de la valeur de la consigne, la boucle de rétroaction diminue la valeur du signal d'erreur $\varepsilon(p)$. Ceci a pour effet de diminuer l'amplitude de la réponse. Le phénomène se poursuit jusqu'à obtenir la valeur attendue. Dans le cas d'une réponse inférieure à ce qui est attendu, c'est l'inverse qui se produit. La dynamique de la rétroaction donne des systèmes qui peuvent devenir instables si la réponse est trop forte ou si le temps de réponse conduit à des oscillations.

Sous un autre point de vue, la réponse du système en boucle ouverte est $A(p)$. Il est fréquent qu'on ne puisse pas la modifier car elle dépend de paramètres physiques qui répondent à d'autres contraintes parfois très diverses. Si la réponse ne convient pas, on a la possibilité de la modifier en utilisant une boucle de rétroaction qui modifie la commande du système de manière à s'approcher le plus possible de la fonction de transfert désirée. Toute la problématique des asservissements repose sur la détermination de cette boucle de rétroaction.

Quantitativement, la réponse en boucle ouverte, c'est-à-dire sans rétroaction, est :

$$s(p) = A(p).c(p) \quad (2.68)$$

En boucle fermée, la sortie vaut :

$$s(p) = A(p).\varepsilon(p) \quad (2.69)$$

où $\varepsilon(p)$ est le signal d'erreur, qui vaut :

$$\varepsilon(p) = c(p) - B(p).s(p) \quad (2.70)$$

Les deux expressions précédentes permettent d'obtenir la réponse du système en boucle fermée :

$$s(p) = \frac{A(p)}{1 + A(p).B(p)}c(p) \quad (2.71)$$

Le choix de $B(p)$ se fait après la détermination (théorique ou empirique) de la FTBO. On doit surtout prendre garde à éviter les points annulant le dénominateur ($A(p).B(p) \approx -1$) qui conduisent à un système instable ou oscillant.

Application au microscope électro-optique

On a besoin d'une image de la phase que l'on obtient à partir de la valeur moyenne de la somme et de la différence des photocourants. La valeur moyenne de 2.51 donne simplement :

$$\bar{I}_+ = I_{OL} + I_S \quad (2.72)$$

Quant à la différence, on obtient à partir de l'équation 2.55 :

$$\bar{I}_- = 2\Re(\bar{\alpha}_{OL}\bar{\alpha}_S^*e^{i\phi}) \quad (2.73)$$

$$= 2\bar{\alpha}_{OL}\bar{\alpha}_S^*\Re(e^{i\phi}) \quad (2.74)$$

$$= 2\sqrt{I_{OL}I_S}\cos(\phi) \quad (2.75)$$

Le courant \bar{I}_- dépend de l'intensité du faisceau incident. Pour avoir une réponse indépendante de l'intensité entrante, on utilise le rapport $\frac{\bar{I}_-}{\bar{I}_+}$ comme réponse du système. On a en effet :

$$\frac{\bar{I}_-}{\bar{I}_+} = \frac{2\sqrt{I_{OL}I_S}\cos(\phi)}{I_{OL} + I_S} \quad (2.76)$$

Comme les intensités I_{OL} et I_S sont des fractions fixes de l'intensité injectée dans l'interféromètre, on a, en notant $R_{OL} = \frac{I_{OL}}{I_{injectée}}$ et $R_S = \frac{I_S}{I_{injectée}}$:

$$\frac{\bar{I}_-}{\bar{I}_+} = \frac{2\sqrt{R_{OL}R_S}}{R_{OL} + R_S}\cos(\phi) \quad (2.77)$$

qui est indépendant de $I_{injectée}$.

Cependant, en pratique, $I_{injectée}$ fluctue très peu et on asservit presque toujours à $\phi = \pm\frac{\pi}{2}$, c'est-à-dire à $\cos(\phi) = 0$, ou encore $\bar{I}_- = 0$. On n'a donc pas besoin de normaliser le signal entrant. Cette précaution est simplement utile pour les autres réglages de l'asservissement car elle garantit facilement une excursion en phase de $-\pi$ à $+\pi$ sans avoir à se préoccuper de l'intensité de la source.

Les bruits à éliminer ont essentiellement deux origines : la dérive thermique d'une part et les vibrations mécaniques et acoustiques d'autre part. Afin d'avoir un asservissement efficace, on va traiter séparément ces deux phénomènes [52].

Passée une heure de « préchauffage », les variations de températures des composants du microscope électro-optique ont cours sur des temps caractéristiques de la dizaine de secondes et les dilatations des matériaux donnent des variations totales relatives des chemins optiques de plusieurs dizaines de microns.

Les vibrations d'origines diverses (acoustiques, vibrations du sol, ventilation de l'électronique de contrôle, table piézoélectrique trois axes,...) sont de fréquences plus élevées, typiquement de 2 Hz à 20 kHz. Si la contribution mécanique provenant du sol peut être quasi totalement atténuée par le système antivibratoire de la table, on doit recourir à l'asservissement pour le reste. Dans ces deux cas, les longueurs impliquées sont inférieures au micron.

Pour assurer une réponse électro-mécanique efficace, l'actuateur est composé d'une table de translation de course maximale de 100 μm et de réponse inférieure à 100 Hz sur laquelle est montée un anneau de céramique piézoélectrique de course maximale de 5 μm et de fréquence de coupure 75 kHz. On compense donc les grandes fluctuations de basse fréquence et les faibles fluctuations de fréquence élevée avec des composants séparés.

Dans le cas du microscope électro-optique, on modélise l'asservissement en ajoutant le signal électro-optique à mesurer et le bruit extérieur (fig. 2.8). Le bruit est noté $b(p)$ et le signal

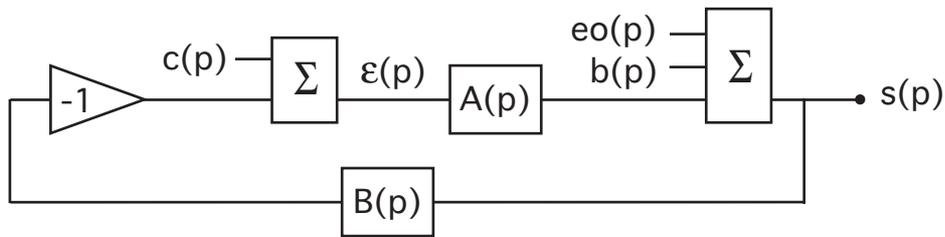


FIG. 2.8: Schéma de l'asservissement du MEO autour de son point de fonctionnement. Cet asservissement, de conception assez classique, permet de stabiliser la phase relative entre le signal et l'oscillateur local à la quadrature $\phi = \frac{\pi}{2}$. Le signal de sortie, à asservir est la valeur moyenne de la différence des photocourants \bar{I}_- . Les éléments $B(p)$, -1 , Σ sont des modules électroniques. $\varepsilon(p)$ est la tension de commande non amplifiée de l'actuateur piézoélectrique. $A(p)$ est constitué de l'actuateur piézoélectrique, de son amplificateur jusqu'à la réponse en déphasage relatif des voies du microscope. Le deuxième bloc Σ correspond à la conversion de ces déphasages en différence de photocourant : il représente le passage du déphasage dans un microscope absolument non bruité à la sortie du différentiateur du microscope réel.

électro-optique $eo(p)$. On ne s'intéresse réellement qu'à un asservissement à la quadrature $\pm \frac{\pi}{2}$,

c'est-à-dire à une consigne de valeur nulle. Elle est ajoutée à titre optionnel et n'est utilisée que pour la calibration de l'asservissement. Le signe dépend de l'introduction ou non de l'inverseur dans la boucle de rétroaction. La fig. 2.8 donne le cas d'un système stable à $\frac{\pi}{2}$; la quadrature $-\frac{\pi}{2}$ est alors un point de fonctionnement instable⁷. Sans inverseur dans la boucle de retour, le système serait stable à $-\frac{\pi}{2}$, ce qui signifie, vue l'expression 2.60, que l'inverseur est implicitement dans le système optique.

En boucle fermée, la sortie vaut :

$$s(p) = A(p).\varepsilon(p) + b(p) + eo(p) \quad (2.78)$$

et le signal d'erreur :

$$\varepsilon(p) = -B(p).s(p) + c(p) \quad (2.79)$$

La réponse vaut donc :

$$s(p) = \frac{b(p)}{1 + A(p).B(p)} + \frac{eo(p)}{1 + A(p).B(p)} \left(+ \frac{c(p)A(p)}{1 + A(p).B(p)} \right) \quad (2.80)$$

Cette expression n'est valable qu'au voisinage du point de fonctionnement du microscope électro-optique. Si on s'en écarte trop, l'expression devient non linéaire, on entre dans le cas plus général des asservissements non linéaires.

On voit dans l'expression 2.80 que le microscope ne fait pas de différence entre le bruit et le signal qui sont traités par la même « fonction de verrouillage » $\frac{1}{1+A(p).B(p)}$. Pour garder le signal tout en éliminant le bruit, cette fonction doit avoir une fréquence de coupure inférieure à la fréquence du signal qui doit donc être au delà du bruit. En deçà de cette fréquence, tout est considéré comme du bruit. Techniquement, la fréquence de coupure de l'asservissement est réglable de 1 kHz à 20 kHz et le signal est choisi entre 80 kHz et 1 MHz. Ce point sera particulièrement contraignant pour les mesures en électrophysiologie dont les signaux ont une fréquence caractéristique généralement inférieure au kHz. On ne peut pas baisser la fréquence de coupure de cet asservissement trop bas sans s'approcher de zones où le bruit est trop important. On déstabiliserait le système et on l'écarterait dangereusement de son point de fonctionnement.

⁷ Vérifions que la quadrature $\phi = \frac{\pi}{2}$ est stable. Pour cette quadrature, les fluctuations sont données par la relation 2.67. Si $s(p)$ augmente légèrement au dessus de sa valeur d'équilibre, alors il en sera de même pour la sortie de $B(p)$, ainsi le signal d'erreur $\varepsilon(p)$ va diminuer. La tension envoyée sur les cales piézoélectriques diminuant, celles-ci vont se contracter légèrement car la cale piézoélectrique est utilisée dans son mode « standard », c'est-à-dire en dilatation. La différence de chemin optique entre le *signal* et l'*oscillateur local* diminue légèrement, donc $\Delta\varepsilon$ aussi. L'expression 2.67 donne alors que δI_- diminue; on retrouve ainsi une diminution de $s(p)$. La boucle réagit donc à une augmentation du signal à asservir par une action tendant à le diminuer (et inversement, toutes les grandeurs utilisées qualitativement ici étant algébriques). On a donc un système stable pour la quadrature $\phi = \frac{\pi}{2}$. Sans inverseur dans la boucle de rétroaction, l'expression 2.60 permettrait d'arriver au même résultat de stabilité pour la quadrature $\phi = -\frac{\pi}{2}$.

On remarque qu'on ne peut pas définir aisément la réponse en boucle ouverte dans un tel système, qui, est instable sans asservissement. En effet, le modèle donné ici n'est valable qu'autour du point de fonctionnement ($\pm \frac{\pi}{2}$), c'est autour de cette valeur qu'il faut déterminer la réponse du microscope à une variation relative de chemin optique. Cependant, en boucle ouverte, la phase relative fluctue librement sans être *a priori* au point de fonctionnement, seul endroit où l'on peut déterminer la FTBO. Une méthode particulière de détermination de la FTBO sans fixer le microscope autour de son point de fonctionnement est donnée en section 3.6.2.

Identification avec une boucle à verrouillage de phase

On peut aussi assimiler ce système à un cas particulier de *boucle à verrouillage de phase* (PLL pour l'acronyme de l'anglo-saxon *phase locked loop*) [72–74]. Le schéma général d'une boucle à verrouillage de phase est donné en fig. 2.9. Elle est constituée d'un multiplieur analogique, d'un filtre passe bas de fréquence de coupure f_c , et d'un oscillateur contrôlé en tension (OCT). Ce dernier élément est un oscillateur dont la fréquence est une fonction affine de la tension d'entrée.

Un signal modulé à la pulsation ω_e entre dans le multiplieur. Il est mélangé avec un signal de

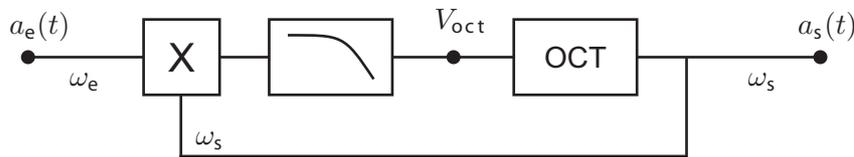


FIG. 2.9: Schéma général d'une boucle à verrouillage de phase. Elle est composée d'un multiplieur, d'un filtre passe bas, et d'un oscillateur contrôlé en tension (OCT).

pulsation ω_s . Si la différence de fréquences est inférieure à la fréquence de coupure du filtre passe bas f_c , il sort de celui-ci une tension de sortie proportionnelle au déphasage entre les signaux. Si la différence des fréquences d'entrée du multiplieur est supérieure à la fréquence de coupure du filtre ($|f_e - f_s| > f_c$), alors la tension d'attaque de l'oscillateur est nulle. Il oscille donc à sa fréquence centrale sans tenir compte du signal d'entrée $a_e(t)$. On a donc une *plage de capture* définie par la fréquence centrale de l'OCT et la largeur du filtre passe bas : $[f_{\text{centrale OCT}} - f_c, f_{\text{centrale OCT}} + f_c]$. En dehors de cette plage, la PLL n'accroche pas.

Si la sortie est trop en avance sur l'entrée, le déphasage diminue par rapport à sa valeur d'équilibre, baissant alors la tension à l'entrée de l'oscillateur commandé en tension (OCT). La fréquence de sortie baisse jusqu'à atteindre la fréquence d'entrée. On assiste au comportement opposé pour une fréquence de sortie trop élevée.

Si la différence de fréquence devient soudainement supérieure à la fréquence de coupure du

filtre passe bas, il en sort une tension nulle, donc la PLL décroche. Ce phénomène apparaît aussi, si, pour générer une fréquence assez loin de sa fréquence centrale, l'OCT demande une tension V_{OCT} qui correspond à un déphasage de $\pm\frac{\pi}{2}$ entre f_e et f_s . On arrive dans ce cas, à une zone instable, où en augmentant légèrement f_e , le système répond par une baisse de f_s , suivie naturellement d'un décrochage de la PLL. Ce phénomène définit la *plage de maintien*. Il se quantifie sans difficulté.

En portant ce raisonnement en équation, on fait apparaître des comportements propres aux PLL et que l'on retrouve dans le microscope électro-optique (les conditions de stabilité, le principe des plages de capture et de maintien, ainsi que la linéarisation autour du point de fonctionnement). Ces résultats sont nécessaires à la compréhension physique des problèmes de l'asservissement lorsqu'il « n'accroche pas » car l'absence de point de fonctionnement empêche dans ce cas de le considérer comme un système asservi linéaire.

Le microscope électro-optique peut se représenter suivant le schéma de principe donné en fig. 2.10. La différence principale avec les boucles à verrouillage de base réside dans l'oscillateur

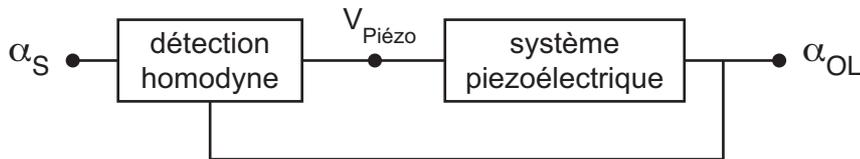


FIG. 2.10: Synoptique du microscope électro-optique selon le schéma général d'une boucle à verrouillage de phase.

contrôlé en tension. Dans un OCT la pulsation ω générée est fonction affine de la tension d'entrée V_{OCT} . Dans le cas du microscope électro-optique, la commande se fait par un actuateur piézoélectrique sur lequel est accolé le miroir mobile de l'interféromètre, c'est donc la phase φ qui est fonction affine de la tension de commande $V_{\text{piézo}}$. (Par la suite, nous confondrons *proportionnelle* et *fonction affine* pour simplifier la notation ; on pourra vérifier que cela ne pose pas de problème car *stricto sensu* tout est fonction affine dans la mesure où la phase est définie à une constante près et dans le cas des oscillateurs commandés en tension, un réglage de la fréquence centrale d'oscillation est nécessaire.)

L'identification se fait via les relations suivantes :

$$\omega \propto V_{\text{OCT}} \quad , \quad \varphi \propto V_{\text{piézo}} \quad \text{et} \quad \omega = \frac{d\varphi}{dt} \quad \text{donc} \quad V_{\text{OCT}} \propto \frac{dV_{\text{piézo}}}{dt} \quad (2.81)$$

On en déduit donc les équivalences de composants données en fig. 2.11. Le point de vue « PLL » qui a été adopté ici, montre que le rôle de l'asservissement est de caler la phase de l'oscillateur local sur la phase du signal qui est beaucoup moins intense. C'est un intérêt de certains systèmes à boucles à verrouillage de phase, tels que ceux utilisés dans les récepteurs

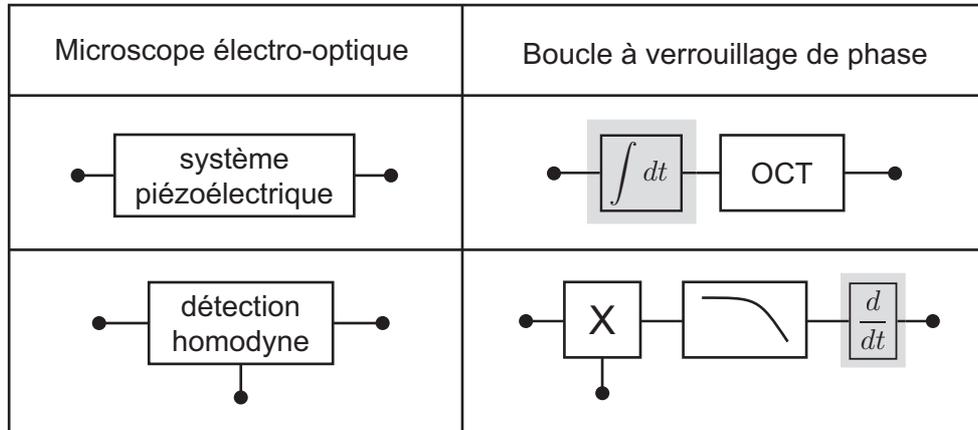


FIG. 2.11: *Equivalence entre les éléments du microscope électro-optique et d'une boucle à verrouillage de phase.*

radio qui asservissent la phase de l'oscillateur local, utilisé pour la démodulation, sur le signal reçu, d'intensité plus faible. Et de la même manière que pour une radio où l'on cherche la fréquence centrale d'un signal modulé, l'asservissement du microscope électro-optique verrouille l'oscillateur local sur la phase moyenne du faisceau signal qui, lui aussi est modulé.

Nous n'approfondirons pas plus ce point car seuls ces résultats ont été réellement utilisés jusqu'à présent. Il est cependant possible que lors des phases d'optimisation futures il se révèle nécessaire de quantifier cette partie pour améliorer la qualité de l'asservissement.

2.3 La microscopie confocale

2.3.1 Principe de la microscopie confocale

La qualité des images de fluorescence obtenues en microscopie conventionnelle est limitée par l'émission des fluorophores hors plan focal : on peut avoir un halo qui réduit la qualité de l'image. La microscopie *confocale* résout ce problème en utilisant la méthode astucieuse présentée ici dans le cas le plus général. Elle est largement utilisée en biologie [75] car elle permet d'obtenir des images en trois dimensions d'objets diffusants à structure complexe. Le principe général qui est décrit dans les lignes suivantes a été adapté à différentes applications particulières.

Le principe de base est illustré en fig. 2.12.

Dans un système de microscopie confocale, l'image du plan de l'échantillon que l'on souhaite observer est projetée sur un diaphragme dont l'ouverture est appelée trou de confocalité (ou *pinhole*). Seule la lumière provenant du foyer de l'objectif (rayons verts) peut passer à travers le trou de confocalité. L'image d'un point du plan focal situé hors axe optique, est bloquée

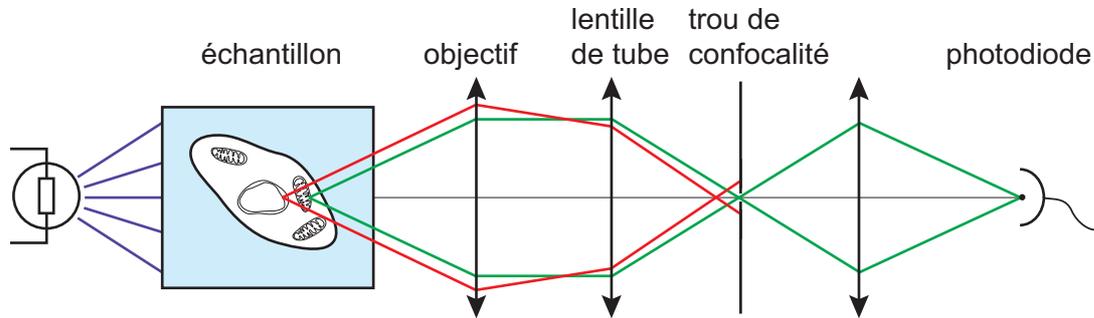


FIG. 2.12: Schéma de principe général de la microscopie confocale.

par la monture. L'image d'un point d'un plan en amont ou en aval du foyer (rayons rouges) est en aval ou en amont du diaphragme. La lumière provenant de ces points ne peut que très peu franchir le trou de confocalité. Semi-quantitativement, on montre que seule la lumière provenant du volume focal franchit le diaphragme et accède à la photodiode quand le trou de confocalité est choisi comme étant l'image de la tache d'Airy [75].

La notion de profondeur de champ n'est plus basée sur le même principe qu'en imagerie parallèle, on ajoute à la résolution transversale du microscope conventionnel une résolution longitudinale. Cependant, la microscopie confocale ne permet d'obtenir une image que point par point. Pour reconstituer une coupe, et *a fortiori* une structure tridimensionnelle, un balayage de l'échantillon est impératif. Selon le cas, on déplace soit l'échantillon au moyen de cales piézoélectriques soit le faisceau avec des déflecteurs. Ces deux techniques imposent un temps d'acquisition minimum pour une résolution donnée. Dans le cas du microscope électro-optique, un premier système qui n'autorise qu'un balayage lent (au moins une seconde par image) a été monté pour les composants optoélectroniques. Un second dont la fréquence, bien plus élevée, n'est limitée que par la technologie choisie (piézoélectrique, acousto-optique,...) est envisagé pour les applications biologiques.

2.3.2 Application au cas particulier du microscope électro-optique

Le dispositif monté ici a deux utilités un peu en marge des techniques de microscopie confocale classique.

Il sert, d'une part, à filtrer la lumière parasite diffusée en amont et en aval du foyer. Les échantillons réalisés en salle blanche ne sont pas parfaits et des poussières peuvent se déposer lors des manipulations ultérieures. La lumière diffractée par ces poussières ou ces inhomogénéités, ou diffusée par l'état de surface, est alors éliminée par le trou de confocalité. C'est notamment le cas, lorsqu'on illumine longuement (quelques minutes) un même point : on « trouve » le polymère et le mode spatial du *signal* est ainsi fortement modifié.

D'autre part, les milieux utilisés sont transparents mais l'indice de réfraction n'est pas homogène, on peut assister à des phénomènes de réfraction qui perturbent la structure du front d'onde. Les perturbations dues à cette modification peuvent devenir importantes au point de faire chuter le taux de recouvrement de 30%. Bien qu'éliminer les composantes trop loin du mode TEM_{00} avec lequel on travaille ne puisse pas augmenter l'amplitude des interférences, cela améliore nettement le contraste. La composante continue enregistrée sur les photodiodes qui vient de l'absence d'interférence entre des faisceaux de structures spatiales différentes est alors considérablement réduite.

Notons aussi que d'un point de vue purement pratique, le trou de confocalité aide à superposer les faisceaux *signal* et *oscillateur local* en leur donnant une structure spatiale semblable.

Notre utilisation de la microscopie confocale se rapproche ainsi de systèmes de microscopie inversée : la pompe n'illumine déjà qu'un point, le trou de confocalité sert, en retour, à éliminer la lumière provenant des points hors axe bien moins nombreux que dans le cas d'une illumination en champ large. Cependant, il faut remarquer que si la variation de phase apparaît sur un plan, en amont ou en aval du point focal, tout le faisceau en sera affecté et le trou de confocalité ne pourra pas l'éliminer. Contrairement au cas de la fluorescence où la lumière est réémise statistiquement dans toutes les directions, la modulation de phase laisse le faisceau cohérent : tous les rayons ayant subi un même déphasage en amont ou en aval du plan focal passeront quand même par le trou de confocalité.

Dans le cas d'un objectif et un condenseur de même ouverture numérique, la résolution vaut :

$$R = 0,61 \frac{\lambda}{ON} \quad (2.82)$$

où ON est l'ouverture numérique du microscope. Le diamètre de la tâche d'Airy sur le trou de confocalité est donné par :

$$D = GR = 0,61G \frac{\lambda}{ON} \quad (2.83)$$

G est le grossissement du microscope.

Dans notre cas, cela donne une tâche d'Airy (donc un diamètre de trou de confocalité) de 12 μm . Après un certain nombre d'essais, il est apparu intéressant d'augmenter largement cette valeur (40 μm). Les défauts sont presque aussi bien éliminés, mais le front d'onde de la composante TEM_{00} n'est pas altéré. Un trou de confocalité d'une taille trop proche de la tâche d'Airy modifie tellement le faisceau que les interférences sont très mauvaises et inexploitables.

2.4 La détection synchrone

Pour améliorer la qualité de la mesure on utilise une détection synchrone. Dans le cas d'un signal enregistré périodique, on peut augmenter le rapport signal à bruit en augmentant le facteur de qualité du filtre éliminant le bruit. Cela revient à intégrer sur un temps plus long. L'énergie du signal étant proportionnelle au temps et celle du bruit l'étant à la racine carrée du temps, le rapport signal à bruit augmente comme la racine carrée du temps. Comme on sait difficilement réaliser des filtres avec un très grand facteur de qualité (donc de bande passante étroite) à une fréquence non nulle éventuellement variable, on a recourt (... ou recours...) au principe de la détection synchrone dont le schéma général est donné en fig. 2.13.

Un système linéaire est excité à la pulsation ω par :

$$e(t) = e \cos(\omega t) \quad (2.84)$$

Sa réponse, à la même fréquence puisque le système est linéaire, est :

$$r(t) = A e \cos(\omega t + \varphi) + b(t) \quad (2.85)$$

On a ainsi une réponse à la fréquence d'excitation, à laquelle s'ajoute le bruit. La fonction de transfert $\underline{H}(\omega) = A e^{i\varphi}$ caractérise la réponse du système, c'est elle qu'on cherche à déterminer. Au moyen d'un premier filtre passe-bande, on élimine les parasites importants et, on amplifie éventuellement le signal.

La réponse du système, éventuellement filtrée (du secteur ou d'autres parasites), est multipliée par le signal d'excitation. On a alors le produit :

$$p(t) = e \cos(\omega t) \cdot (A e \cos(\omega t + \varphi) + b(t)) \quad (2.86)$$

$$= \frac{e^2 A}{2} (\cos(\varphi) + \cos(2\omega t + \varphi)) + e b(t) \cos(\omega t) \quad (2.87)$$

Le signal, éventuellement noyé sous le bruit, est multiplié par une sinusoïde de même fréquence. Il est ainsi déplacé à fréquence nulle et à sa fréquence double. Au moyen d'un filtre passe bas, dont on peut aisément faire varier la durée d'intégration, on ne garde que la composante de fréquence nulle.

Ainsi, la détection synchrone permet de déplacer la réponse d'un système vers une gamme de fréquence où le bruit est plus faible. Ensuite, le retour à fréquence nulle permet d'utiliser des filtres passe-bas dont on sait ajuster la fréquence de coupure sans limitation. On réalise donc un filtre à très grand facteur de qualité qui, dans certains cas, peut renseigner sur la phase de la réponse.

2.5 Schéma de principe du microscope électro-optique

Le schéma de principe du microscope électro-optique est donné en fig. 2.14. Il se résume

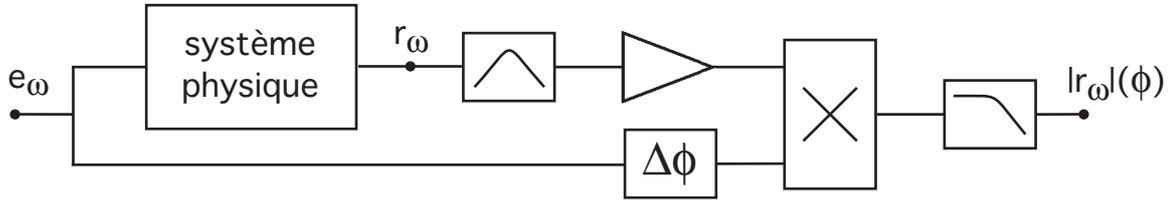


FIG. 2.13: Schéma de principe d'une détection synchrone. Un système physique est attaqué avec un signal modulé à la fréquence ω . Sa réponse r_ω , amplifiée et préalablement filtrée est multipliée par le signal d'entrée éventuellement déphasé. Un filtre passe bas permet de ne conserver que la composante continue qui contient l'information recherchée sur la fonction de transfert du système physique. Dans la détection synchrone utilisée pour le microscope électro-optique (EG&G Princeton Applied Research model 5302), les multiplications en parallèle par le signal d'entrée non déphasé et déphasé de $\frac{\pi}{2}$ permettent d'obtenir simultanément le déphasage et le gain du système physique.

essentiellement en l'intégration des éléments préalablement détaillés. La difficulté principale vient de l'association de ces techniques qui sont bien éprouvées indépendamment, mais dont les contraintes ne sont pas aisément compatibles. On notera que la principale perte de sensibilité du microscope vient de l'introduction du dispositif confocal dans la détection homodyne, ce qui limite assez fortement le recouvrement des faisceaux. Le détail technique de ces points est présenté au chapitre suivant.

Les « aiguillages » optiques nécessaires à la détection homodyne et à son asservissement sont réalisés avec des jeux de lames d'onde et de cubes séparateurs de polarisation. L'intensité relative entre le signal et l'oscillateur local est réglée en jouant sur la lame demi-onde précédant le cube séparateur de polarisation 1. La polarisation du faisceau traversant l'échantillon est réglée en jouant sur les deux lames demi-ondes se trouvant de part et d'autre du microscope confocal. Le faisceau *signal* traverse ensuite le cube séparateur de polarisation 2 en direction du mélangeur. La polarisation de l'oscillateur local est modifiée pour qu'il traverse le cube 2 vers l'actuateur piézoélectrique. La lame quart d'onde est orientée de manière à changer la polarisation linéaire horizontale en une polarisation circulaire droite. Après réflexion sur le miroir fixé sur l'actuateur piézoélectrique, la polarisation est circulaire gauche, puis devient linéaire verticale à la sortie de la lame quart d'onde. Le cube séparateur de polarisation dirige alors l'oscillateur local vers le mélangeur. On voit que l'actuateur joue sur la longueur de la voie de l'oscillateur local. La lame demi-onde suivant le cube 2 tourne les polarisations des faisceaux incidents (signal : horizontal, oscillateur local : vertical) de 45° . Le cube 3 envoie ainsi vers une photodiode $\frac{1}{\sqrt{2}}(\alpha_{\text{OL}}e^{i\phi} + \alpha_s)$ et vers l'autre $\frac{1}{\sqrt{2}}(\alpha_{\text{OL}}e^{i\phi} - \alpha_s)$. L'évolution des polarisations autour du troisième cube est illustrée en fig.2.15.

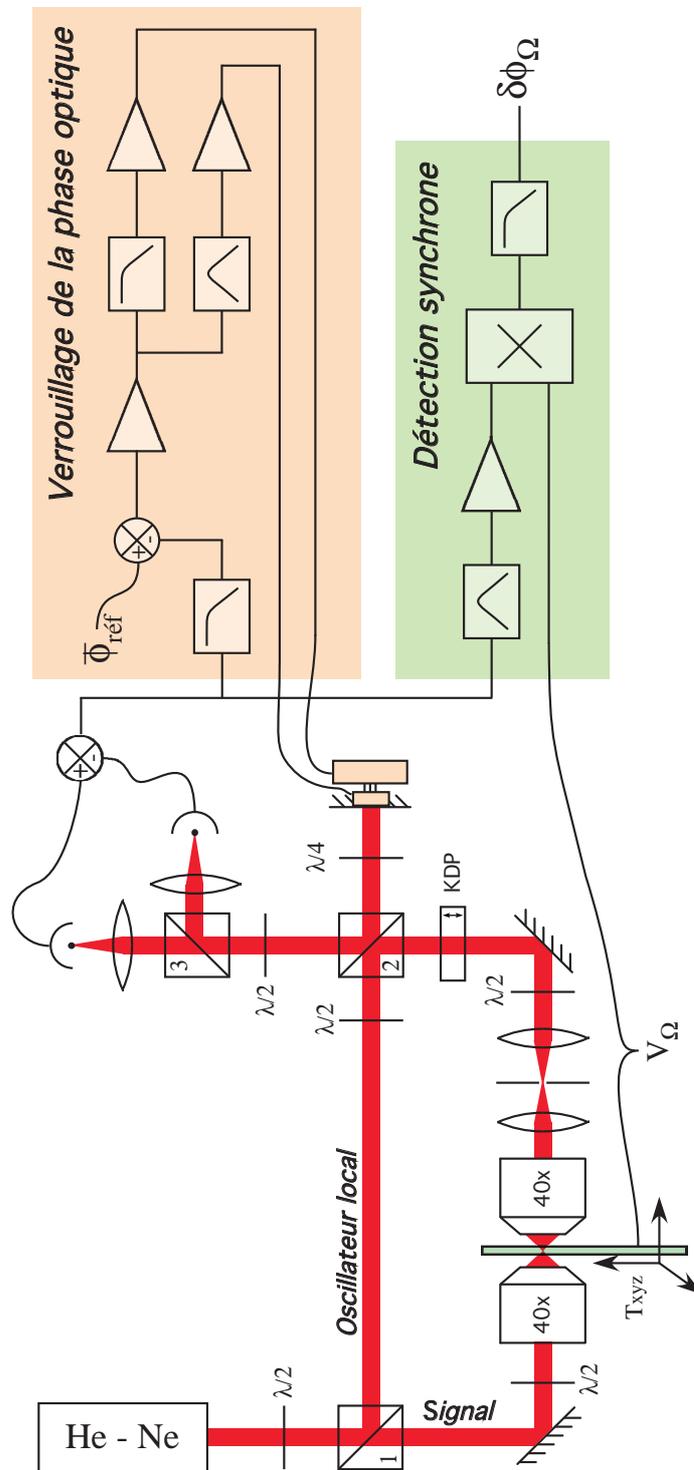


FIG. 2.14: Schéma de principe détaillé du microscope électro-optique.

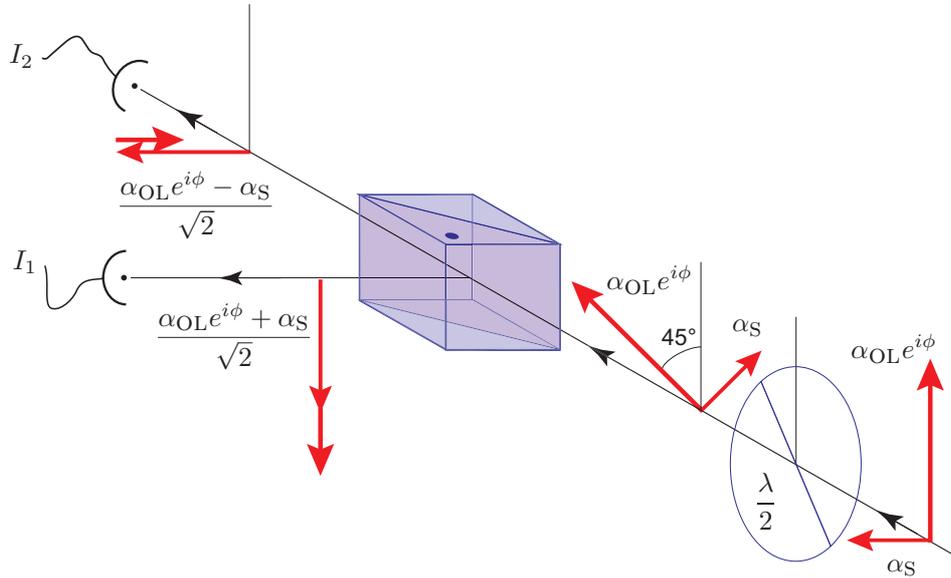


FIG. 2.15: Jeu de polarisation dans le « mélangeur » (cube séparateur 3). La lame $\frac{\lambda}{2}$ est orientée à $22,5^\circ$ de la verticale.

Le schéma de l'asservissement est conforme à ce qui est décrit dans la partie 2.2.2. Les problèmes de mise en œuvre sont essentiellement d'ordre technique, les détails sont donnés en partie 3.6.3.

La détection synchrone permet d'accéder non seulement à l'amplitude de la modulation de phase, mais aussi à sa phase. L'amplitude de sortie de la détection synchrone est proportionnelle à $r_{ij}E_j$. Le coefficient de proportionnalité (entre $r_{ij}E_j$ et la sortie de la détection synchrone) est déterminé par l'enregistrement de la modulation créée par une cellule à effet Pockels, taillée perpendiculairement à l'axe extraordinaire, de V_π connu, introduite dans la voie signal après le dispositif confocal. Il est illusoire d'utiliser un facteur de proportionnalité qui serait déterminé théoriquement car il serait entaché d'une erreur trop importante. De plus, en l'état actuel du montage, le taux de recouvrement des faisceaux fluctue quelquefois assez fortement ($\pm 5\%$ sur une dizaine de minutes). L'utilisation d'une référence est donc la méthode la plus simple et la plus fiable.

La phase de la modulation de phase optique (!) est donnée par la détection synchrone; on peut aussi la mesurer directement à l'oscilloscope si les signaux sont peu bruités. La phase, qui vaut toujours 0 ou π (sauf artefact si on s'approche trop des fréquences de coupure des électroniques) nous renseigne sur le signe de $r_{ij}E_j$. Comme le signe de E_j est généralement connu, on peut déterminer le signe de la composante du tenseur électro-optique. En jouant sur les polarisations du faisceau sondant l'échantillon, on détermine toutes les composantes de ce tenseur : pour cela, les deux lames demi-onde situées de part et d'autre du microscope

confocal ont été montées sur des moteurs pour être tournées simultanément. On adaptera, selon le cas, la polarisation aux composantes qui nous intéressent. En neurophysiologie, par exemple, seul le r_{13} nous intéressera (voir Chapitre 6).

La microscopie électro-optique est la seule expérience permettant une mesure de la phase sans cristal de référence. Les autres expériences [70, 76, 77] ne donnent pas directement accès à la phase. Il faut soit ajouter un cristal de référence sur une autre voie et faire interférer les deux faisceaux à 2ω [70, 77], soit ajouter un cristal après l'échantillon et observer les variations d'intensité lumineuses venant du signe des composantes du tenseur de $\chi^{(2)}$ [76].

Pour cartographier les échantillons opto-électroniques, le porte échantillon est monté sur un support piézoélectrique trois axes. La vitesse de déplacement (au moins 2 secondes pour une carte de 64 points) ne permet que la cartographie des échantillons dont le comportement est très reproductible. Un autre système de balayage, présenté au Chapitre 6 sera implémenté pour les échantillons biologiques dont le comportement n'est pas nécessairement reproductible.

Pour donner, dès maintenant, un ordre de grandeur, le déphasage le plus fin mesuré (rapport signal à bruit valant 1) dans une cellule de KDP taillée perpendiculairement à l'axe extraordinaire, sur un temps d'intégration de 50 ms, modulé à 70 kHz, est $2,3 \cdot 10^{-7}$ rad (équivalant à une tension d'excitation de 0,54 mV). Comme on le verra aux Chapitres 3 et 4, dans le cas d'un composant polymère (mettant cette fois-ci pleinement en œuvre la résolution spatiale), dans les mêmes conditions le déphasage le plus fin mesuré est de $4 \cdot 10^{-7}$ rad. En mode cartographie, on a obtenu $2 \cdot 10^{-6}$ rad (dans ce dernier cas, on est très perturbé par les vibrations de l'asservissement de position de la table piézoélectrique). Ces résultats sont tout à fait reproductibles.

Notons que l'on peut améliorer les mesures en augmentant le temps d'intégration de la détection synchrone. Pour l'instant, nous n'avons pas eu de problème à ce niveau dans la mesure où la précision obtenue est suffisante pour un temps d'intégration déjà très court. L'étape limitante est, en pratique, le temps de déplacement de la platine piézoélectrique! Une étude quantitative de la précision de la mesure en fonction du temps d'intégration sera nécessaire dès que l'on s'approchera des applications à la biologie.

2.6 Limitations techniques et influence des défauts

Un grand nombre de défauts du montage peuvent perturber le fonctionnement du microscope électro-optique, au point, pour certains, de risquer d'affecter sérieusement la qualité des mesures. Tous ne peuvent pas être pris en compte : l'étude aurait été déraisonnablement longue et inutile. J'ai choisi de ne présenter que les défauts les plus couramment rencontrés

et ceux qui ont posé un certain nombre de difficultés techniques.

L'étude des défauts est un problème technologique, mais, qui peut remettre en cause la faisabilité de l'instrument. Elle est à considérer dès l'étude théorique.

2.6.1 Défaut de recouvrement des faisceaux

Reprenons le calcul de la section 2.2.1, en considérant que le recouvrement des faisceaux n'est pas parfait. On note le recouvrement en intensité des faisceaux η^8 .

L'équation 2.43 devient alors :

$$\alpha'_1 = \frac{1}{\sqrt{2}} \left(\sqrt{\eta} \alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} + \sqrt{\eta} \alpha_s \right) \quad (2.88)$$

$$\alpha'_2 = \frac{1}{\sqrt{2}} \left(\sqrt{\eta} \alpha_{\text{OL}} e^{i\phi} - \sqrt{\eta} \alpha_s \right) \quad (2.89)$$

en notant α'_i l'amplitude des champs *ayant* interférés.

Une fraction $1 - \eta$ de l'intensité de chacun des faisceaux n'interfère pas. Elle est simplement partagée par le miroir semi-transparent. On a alors les intensités suivantes à la sortie du miroir :

$$I'_1 = \eta |\alpha_1|^2 + (1 - \eta) \frac{(I_{\text{OL}} + I_s)}{2} = \eta I_1 + (1 - \eta) \frac{(I_{\text{OL}} + I_s)}{2} \quad (2.90)$$

$$I'_2 = \eta |\alpha_2|^2 + (1 - \eta) \frac{(I_{\text{OL}} + I_s)}{2} = \eta I_2 + (1 - \eta) \frac{(I_{\text{OL}} + I_s)}{2} \quad (2.91)$$

La différence des photocourants vaut alors (au lieu de 2.67) :

$$I'_- = \eta I_- \quad \text{donc} \quad \delta I'_- = 2\eta \sqrt{I_{\text{OL}} I_s} \Delta\varphi \quad \text{ou} \quad \delta I'_- = \eta \delta I_- \quad (2.92)$$

La somme est bien entendu inchangée. On voit que le principe général de la détection homodyne n'est pas affecté par un recouvrement partiel des faisceaux. La sensibilité est simplement diminuée. C'est strictement équivalent à une baisse de contraste dans un interféromètre du type *Michelson* lorsque la cohérence temporelle ou spatiale n'est pas parfaite. On notera d'ailleurs que le défaut de recouvrement considéré ici n'est pas nécessairement dû à la différence de mode spatial. Il peut être simplement dû à un défaut d'alignement. Le phénomène prépondérant sur le microscope électro-optique est la différence de taille, de divergence et de mode transversal entre le signal et l'oscillateur local. Le passage du signal à travers les objectifs de microscope modifie sensiblement le mode spatial. Celui-ci n'est que partiellement

⁸Pour être parfaitement rigoureux et tenir compte de la différence de diamètre des faisceaux, il faudrait considérer deux taux de recouvrement : η_s et η_{OL} . L'expérience ayant montré que ce n'était pas utile, j'ai préféré restreindre le calcul au seul cas observé pour ne pas trop alourdir le texte.

rattrapé par le dispositif confocal qui ne fait que retirer les fréquences spatiales élevées du profil du faisceau. La troisième cause (presque négligeable) de diminution du recouvrement est due à la longueur de cohérence du faisceau et à la différence de marche entre les deux voies.

Dans le meilleur des cas, le recouvrement obtenu était de 73%, mais il est plus généralement de l'ordre de 55%. C'est faible comparé aux expériences d'optique quantique utilisant une détection homodyne pour lesquelles on dépasse un recouvrement de 95%. Cette valeur est cependant obtenue dans des montages très compacts et presque parfaitement symétriques sur les deux voies, ce qui est loin d'être notre cas. Une optimisation du système de microscopie devrait permettre d'améliorer sensiblement ce recouvrement (en particulier un réglage plus fin sur la translation longitudinale de la lentille après le trou de confocalité qui joue sur la divergence du faisceau *signal*).

On retiendra que la sensibilité théorique du microscope est diminuée du facteur η .

La technique de mesure est donnée en section 3.8.1, page 106.

2.6.2 Défaut d'asservissement

L'asservissement ne cale pas rigoureusement la phase relative à $\frac{\pi}{2}$, soit à cause de la qualité de l'électronique d'asservissement soit à cause des défauts de partage des faisceaux qui affectent $\overline{I_-}$ décrits précédemment. Intéressons nous aux conséquences d'un écart ε à cette phase sur la sensibilité et les erreurs introduites par le microscope.

Dans ce cas, l'expression 2.60 devient :

$$\delta I_- = 2\Re\left(\overline{\alpha}_{\text{OL}}\delta\alpha_s^* e^{i(\frac{\pi}{2}+\varepsilon)}\right) \quad (2.93)$$

On a alors :

$$\delta I_- = -2\Im\left(\overline{\alpha}_{\text{OL}}\delta\alpha_s^* e^{i\varepsilon}\right) \quad (2.94)$$

$$= -2\Im\left(\overline{\alpha}_{\text{OL}}\delta\alpha_s^* \cos\varepsilon + i\overline{\alpha}_{\text{OL}}\delta\alpha_s^* \sin\varepsilon\right) \quad (2.95)$$

$$(2.96)$$

qui donne au premier ordre de perturbation selon chaque quadrature :

$$\delta I_- = 2\overline{\alpha}_{\text{OL}}\left(1 - \frac{\varepsilon^2}{2}\right)\Im(\delta\alpha_s) + 2\varepsilon\overline{\alpha}_{\text{OL}}\Re(\delta\alpha_s) \quad (2.97)$$

On en déduit donc la réponse perturbée par l'erreur d'asservissement de phase en utilisant l'expression 2.60 et la dérivée $\delta I_- = 2\overline{\alpha}_s\Re(\delta\alpha_s)$:

$$\delta I_- = \left(1 - \frac{\varepsilon^2}{2}\right)\delta I_-(\varepsilon = 0) + \varepsilon\sqrt{\frac{\overline{I}_{\text{OL}}}{\overline{I}_s}}\delta I_s \quad (2.98)$$

où, dans cette expression en particulier, mais aussi les suivantes qui en sont issues, la notation δ renvoie aux fluctuations quadratiques moyennes.

Avec l'asservissement actuel, la phase est stabilisée à $0,1^\circ$ (erreur quadratique moyenne sur les durées typiques d'enregistrement d'un point, ici 1 ms). Ceci donne une erreur de 2.10^{-3} rad à prendre en compte.

Ainsi le premier terme de l'expression 2.98 amène une erreur relative inférieure à 2.10^{-6} qui est totalement négligeable.

Le second terme de l'expression 2.98 conduit à une erreur relative (conceptuellement équivalente à un rapport signal à bruit de phase) de :

$$e_{\text{relative}} = \frac{\varepsilon \sqrt{\frac{\overline{I_{\text{OL}}}}{\overline{I_s}}} \delta I_s}{2 \sqrt{\overline{I_{\text{OL}}} \overline{I_s}} \Delta\varphi} = \frac{\varepsilon}{2 \Delta\varphi} \frac{\delta I_s}{\overline{I_s}} \quad (2.99)$$

Là, le cas est beaucoup plus délicat car l'erreur relative dépend de la précision recherchée en $\Delta\varphi$. Il est plus intéressant dans ce cas d'exprimer l'erreur relative en valeur de $\Delta\varphi$ pour lequel le rapport signal à bruit est égal à 1, c'est à dire les « variations de phase équivalentes de bruit » :

$$\Delta\varphi_{\text{eqvB}} = \frac{\varepsilon}{2} \frac{\delta I_s}{\overline{I_s}} \quad (2.100)$$

Les mesures de variation quadratique moyenne de l'intensité du signal sur 1 ms donnent $\frac{\delta I_s}{\overline{I_s}} \approx 2.10^{-5}$. On a ainsi une variation de phase équivalente de bruit de $\Delta\varphi_{\text{eqvB}} \approx 2.10^{-8}$ rad. On voit ici qu'une erreur statique sur l'asservissement de la phase est absolument à éviter. Dans tous les cas, elle doit être maintenue inférieure à $0,1\%$, ce qui se révèle parfois un problème sérieux.

2.6.3 Problèmes liés à la polarisation

Les « aiguillages » sont réalisés uniquement en jouant sur les polarisations. Bien que nous ayons choisi des composants aux meilleures caractéristiques disponibles commercialement⁹, les cubes séparateurs de polarisation présentent des défauts dont les conséquences doivent être évaluées. Les lames d'onde (d'ordre 0) sont de très bonne qualité.

Je considère comme étant d'ordre 1, un *défaut de séparation* de polarisation d'un cube. Bien entendu, selon que l'on travaille en transmission ou en réflexion, le défaut n'est pas le même. Cependant, l'ordre de grandeur restant le même, il est légitime de les considérer au même ordre. Comme un défaut de séparation sur un cube se traduit par un *défaut de polarisation*¹⁰

⁹ Je parle-là des caractéristiques *exactes* qui diffèrent bien souvent des caractéristiques annoncées par le constructeur.

¹⁰ La polarisation incidente n'est pas exactement la polarisation attendue.

pour la lame d'onde ou le cube suivant, on considère que ces défauts de polarisation sont aussi d'ordre 1. Seront donc d'ordre 2 deux défauts (de séparation ou de polarisation) successifs. Etant donné que le nombre de défauts d'ordre 2 est très élevé et que leurs conséquences sont nécessairement faibles face aux défauts d'ordre 1 (ces derniers ne se compensent pas), il n'est pas nécessaire de mener une étude exhaustive à cet ordre. Les défauts d'ordre 2 ne sont étudiés au cas par cas que s'ils semblent se présenter. On limite donc l'étude à l'ordre 1.

Les défauts de polarisation de la première lame demi-onde rencontrée ne sont pas à considérer, le premier cube séparateur s'occupant en effet de partager les polarisations. Ces défauts ajoutent juste une petite difficulté au réglage des intensités relatives entre les deux voies parce qu'ils se traduisent par des comportements particuliers lorsqu'on s'approche des axes propres de la lame. Cependant, l'utilisation des lames d'ordre 0 nous permet de réduire ce genre de difficultés.

Les défauts de séparation du cube séparateur 1 n'ont pas de conséquence d'ordre inférieur à 2 sur l'expérience. En effet, ces défauts de séparation se traduisent par des défauts de polarisation avant le cube 2. Ce cube dirige les défauts provenant de la voie *oscillateur local* vers la voie *signal* en contre propagation et inversement. On peut les observer sur le montage, ils donnent des faisceaux parasites qui terminent leur course dans les montures.

Un défaut de polarisation créé par la lame quart d'onde ne pose pas de problème car il est redirigé vers l'*oscillateur local*.

On voit ainsi que jusqu'à la lame demi-onde du mélangeur, les défauts sont éliminés à l'ordre 1. Les conséquences des défauts apparaissant à cet endroit sont traitées maintenant.

Défaut d'équilibrage des polarisations (cube séparateur 2 et lame demi-onde précédent le cube séparateur 3)

On considère ici les défauts provenant d'une légère erreur de réglage ou un léger défaut de la lame demi-onde du mélangeur. Le cube séparateur de polarisation 3 est ici considéré parfait.

La qualité de la lame utilisée détaillée dans le tableau suivant 2.3.

La tolérance est telle ($\lambda/300$) que l'on peut négliger le caractère très légèrement elliptique du faisceau en sortie.

Optique Fichou : lames demi-onde et quart d'onde ordre 0 traitées pour 633 nm, ouverture 15 mm	
tolérance	déformation
$\lambda/300$	$\lambda/10$

TAB. 2.3: Qualité des lames d'onde.

Dans ce cas, les polarisations de l'*oscillateur local* et du *signal* restent linéaires mais ne sont pas exactement à 45° de part et d'autre de la verticale, elles présentent des légers décalages ε_{OL} et ε_S comme indiqué en fig. 2.16.

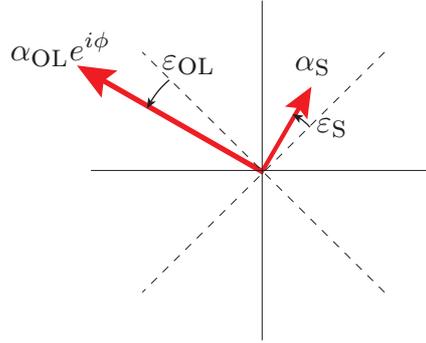


FIG. 2.16: Notations pour les défauts de rotation de polarisation en sortie de la lame demi-onde du mélangeur (en modification de la fig. 2.15).

Pour clarifier les résultats, on utilisera les notations suivantes :

$$\varepsilon = \frac{\varepsilon_{OL} + \varepsilon_S}{2} \quad (2.101)$$

$$\Delta\varepsilon = \frac{\varepsilon_{OL} - \varepsilon_S}{2} \quad (2.102)$$

Ainsi, ε rapporte une erreur de réglage de l'angle de la lame demi-onde. On a $\varepsilon \neq 0$ si l'axe rapide de la lame n'est pas exactement à $22,5^\circ$ de la verticale. On a habituellement $\varepsilon \approx 10^{-2}$ rad. $\Delta\varepsilon$ rend compte d'un défaut propre à la lame qui n'est pas exactement demi-onde si $\Delta\varepsilon \neq 0$. Ce défaut est très faible parce que les lames utilisées sont d'ordre 0.

Ce qui donnera pour les calculs :

$$\varepsilon_{OL} = \frac{\varepsilon + \Delta\varepsilon}{2} \quad (2.103)$$

$$\varepsilon_S = \frac{\varepsilon - \Delta\varepsilon}{2} \quad (2.104)$$

On a, utilisant les notations des figures 2.15 et 2.16 :

$$\alpha_1 = \alpha_{OL} e^{i\phi} \sin\left(\frac{\pi}{4} + \varepsilon_{OL}\right) + \alpha_S \sin\left(\frac{3\pi}{4} + \varepsilon_S\right) \quad (2.105)$$

$$\alpha_2 = -\alpha_{OL} e^{i\phi} \cos\left(\frac{3\pi}{4} + \varepsilon_{OL}\right) - \alpha_S \cos\left(\frac{\pi}{4} + \varepsilon_S\right) \quad (2.106)$$

Un développement limité au premier ordre en ε_{OL} et ε_S donne :

$$\alpha_1 = \frac{\alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} + \frac{\alpha_S}{\sqrt{2}} + \left(-\frac{\varepsilon_{OL} \alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} + \frac{\varepsilon_S \alpha_S}{\sqrt{2}} \right) \quad (2.107)$$

$$\alpha_2 = \frac{\alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} - \frac{\alpha_S}{\sqrt{2}} + \left(\frac{\varepsilon_{OL} \alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} + \frac{\varepsilon_S \alpha_S}{\sqrt{2}} \right) \quad (2.108)$$

qui amène avec le changement de variable donné en expression 2.104

$$\alpha_1 = \frac{\alpha_{OL} e^{i\phi} + \alpha_S}{\sqrt{2}} + \varepsilon \frac{\alpha_S - \alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} - \Delta\varepsilon \frac{\alpha_S + \alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} \quad (2.109)$$

$$\alpha_2 = \frac{\alpha_{OL} e^{i\phi} - \alpha_S}{\sqrt{2}} + \varepsilon \frac{\alpha_S + \alpha_{OL} e^{i\phi}}{\sqrt{2}} + \Delta\varepsilon \frac{\alpha_{OL} e^{i\phi} - \alpha_S}{\sqrt{2}} \quad (2.110)$$

d'où :

$$\alpha_1 = (1 - \Delta\varepsilon) \alpha_{1th} - \varepsilon \alpha_{2th} \quad (2.111)$$

$$\alpha_2 = (1 + \Delta\varepsilon) \alpha_{2th} + \varepsilon \alpha_{1th} \quad (2.112)$$

où α_{1th} et α_{2th} sont les amplitudes sur les voies 1 et 2 pour un réglage parfait de la lame demi-onde.

Les intensités valent :

$$I_1 = (1 - \Delta\varepsilon)^2 I_{1th} + \varepsilon^2 I_{2th} - 2\varepsilon(1 - \Delta\varepsilon) \Re(\alpha_{1th} \alpha_{2th}^*) \quad (2.113)$$

$$I_2 = (1 + \Delta\varepsilon)^2 I_{2th} + \varepsilon^2 I_{1th} + 2\varepsilon(1 - \Delta\varepsilon) \Re(\alpha_{1th} \alpha_{2th}^*) \quad (2.114)$$

Calculons le terme $\Re(\alpha_{1th} \alpha_{2th}^*)$:

$$\Re(\alpha_{1th} \alpha_{2th}^*) = \frac{1}{2} \Re \left[(\alpha_{OL} e^{i\phi} + \alpha_S)(\alpha_{OL}^* e^{-i\phi} - \alpha_S^*) \right] \quad (2.115)$$

$$= \frac{1}{2} \Re \left[\alpha_{OL} \alpha_{OL}^* - \alpha_S \alpha_S^* - \alpha_{OL} e^{i\phi} \alpha_S^* + \alpha_{OL}^* e^{-i\phi} \alpha_S \right] \quad (2.116)$$

$$= I_{OL} - I_S - \frac{1}{2} \Re \left[\alpha_{OL}^* e^{-i\phi} \alpha_S - \alpha_{OL} e^{i\phi} \alpha_S^* \right] \quad (2.117)$$

L'argument de \Re est un imaginaire pur car c'est une différence d'un complexe et de son conjugué. On a donc :

$$\Re(\alpha_{1th} \alpha_{2th}^*) = I_{OL} - I_S \quad (2.118)$$

Le système 2.114 devient avec le résultat précédent au premier ordre :

$$I_1 = (1 - 2\Delta\varepsilon) I_{1th} - 2\varepsilon (I_{OL} - I_S) \quad (2.119)$$

$$I_2 = (1 + 2\Delta\varepsilon) I_{2th} + 2\varepsilon (I_{OL} - I_S) \quad (2.120)$$

Les sommes et différences des intensités valent alors, en fonction des sommes et différences des intensités (théoriques) obtenues avec une lame sans défaut parfaitement réglée, :

$$I_+ = I_{+th} + 2\Delta\varepsilon I_{-th} \quad (2.121)$$

$$I_- = I_{-th} - 2\Delta\varepsilon I_{+th} - 2\varepsilon (I_{OL} - I_S) \quad (2.122)$$

On peut interpréter comme ceci les résultats précédents : ε ne modifie pas la somme des intensités enregistrées, en effet, cela agit juste sur la redistribution des amplitudes sur les voies 1 et 2. Par contre, la différence des intensités est modifiée, ce qui paraît naturel, puisqu'on déséquilibre la répartition des amplitudes.

On voit que δI_- n'est pas modifié par une erreur de réglage de la lame. On n'a donc pas de perturbation du signal d'enregistrement. Par contre, la composante continue de la différence des intensités, cruciale pour l'asservissement de la phase relative, est affectée par un mauvais réglage de la lame. C'est d'autant plus important qu'on a $I_{OL} \gg I_S$. En général, on résumera ce défaut à un décalage de la composante continue de $2(\Delta\varepsilon + \varepsilon) I_{OL}$.

Dans l'état actuel du montage, une erreur d'orientation de la lame ε d'un degré est le maximum acceptable. Dans l'hypothèse d'utiliser un *oscillateur local* plus intense, une meilleure précision sera requise.

Défaut de mélange des voies (cube séparateur 3)

Bien que les cubes séparateurs de polarisation choisis sont les meilleurs disponibles sur le marché pour notre application, ils ne sont pas parfaits. Ils présentent des écarts assez importants par rapport au cas idéal. Pour les cubes retenus (Melles Griot 03PBS045 : cubes polariseurs de 20 mm traités pour 633 nm), on a les caractéristiques suivantes (les taux de réflexion et de transmission sont donnés en intensité) :

Melles Griot 03PBS045 : cubes polariseurs de 20 mm pour 633 nm						
T_h	R_h	T_v	R_v	taux d'extinction	déformation	déviaton
> 98%	< 1%	< 2%	> 99%	100	$\lambda/2$	5°

Ici, les polarisations sortant du cube ne sont plus exactement verticale en voie 1 et horizontale en voie 2. On notera donc ces polarisations avec les vecteurs unitaires \vec{e}_h et \vec{e}_v .

Dans le cas d'un cube séparateur de polarisation non parfait, en utilisant les notations habituelles rappelées en fig. 2.17, on a :

$$\vec{\alpha}_1 = \frac{1}{\sqrt{2}} \left[r_v(\alpha_{OL} e^{i\phi} + \alpha_S) \vec{e}_v + r_h(\alpha_{OL} e^{i\phi} - \alpha_S) \vec{e}_h \right] \quad (2.123)$$

$$\vec{\alpha}_2 = \frac{1}{\sqrt{2}} \left[t_v(\alpha_{OL} e^{i\phi} + \alpha_S) \vec{e}_v + t_h(\alpha_{OL} e^{i\phi} - \alpha_S) \vec{e}_h \right] \quad (2.124)$$

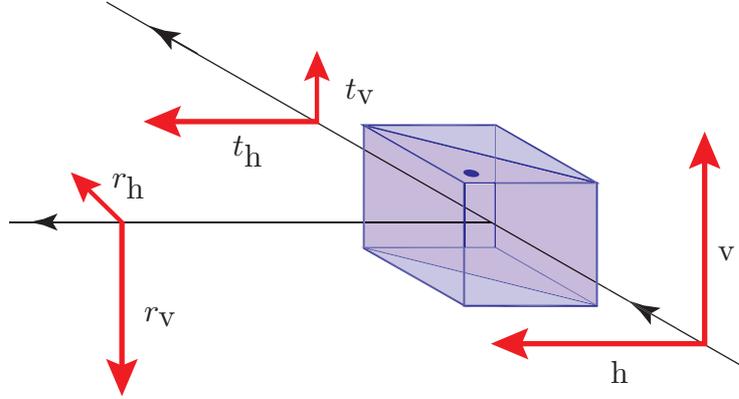


FIG. 2.17: Notations des coefficients de réflexion et de transmission du cube séparateur de polarisation.

Utilisons les notations suivantes qui introduisent mieux les défauts pour les coefficients de réflexion et de transmission du cube :

$$r_h = \varepsilon_{rh} \qquad r_v = 1 - \varepsilon_{rv} \qquad (2.125)$$

$$t_h = 1 - \varepsilon_{th} \qquad t_v = \varepsilon_{tv} \qquad (2.126)$$

On a avec ces notations ici $\varepsilon_{rh}, \varepsilon_{rv}, \varepsilon_{th}, \varepsilon_{tv} \ll 1$.

L'expression 2.124 devient avec ces notations :

$$\vec{\alpha}_1 = \frac{1}{\sqrt{2}} \left[(1 - \varepsilon_{rv})(\alpha_{OL} e^{i\phi} + \alpha_S) \vec{e}_v + \varepsilon_{rh}(\alpha_{OL} e^{i\phi} - \alpha_S) \vec{e}_h \right] \qquad (2.127)$$

$$\vec{\alpha}_2 = \frac{1}{\sqrt{2}} \left[\varepsilon_{tv}(\alpha_{OL} e^{i\phi} + \alpha_S) \vec{e}_v + (1 - \varepsilon_{th})(\alpha_{OL} e^{i\phi} - \alpha_S) \vec{e}_h \right] \qquad (2.128)$$

En utilisant les notations α_{1th} et α_{2th} pour les amplitudes en sortie du cube considéré sans défaut, le système d'expression précédent, devient :

$$\vec{\alpha}_1 = (1 - \varepsilon_{rv}) \alpha_{1th} \vec{e}_v + \varepsilon_{rh} \alpha_{2th} \vec{e}_h \qquad (2.129)$$

$$\vec{\alpha}_2 = \varepsilon_{tv} \alpha_{1th} \vec{e}_v + (1 - \varepsilon_{th}) \alpha_{2th} \vec{e}_h \qquad (2.130)$$

On a alors pour les intensités :

$$I_1 = (1 - \varepsilon_{rv})^2 I_{1th} + \varepsilon_{rh}^2 I_{2th} \qquad (2.131)$$

$$I_2 = \varepsilon_{tv}^2 I_{1th} + (1 - \varepsilon_{th})^2 I_{2th} \qquad (2.132)$$

donc pour la somme (avec un cube non absorbant traité à la bonne longueur d'onde) et la différence :

$$I_+ = I_{1th} + I_{2th} \qquad (2.133)$$

$$I_- = [(1 - \varepsilon_{rv})^2 - \varepsilon_{tv}^2] I_{1th} - [(1 - \varepsilon_{th})^2 - \varepsilon_{rh}^2] I_{2th} \qquad (2.134)$$

On a donc :

$$I_+ = I_{+th} \quad (2.135)$$

$$I_- = I_{-th} - [1 - R_v + T_v] I_{1th} + [1 - R_h + T_h] I_{2th} \quad (2.136)$$

Or, on a $I_{1th} \approx I_{2th} \approx \frac{I_{OL}}{2}$. On simplifie donc l'expression 2.136 en :

$$I_- = I_{-th} + [R_h - T_v + R_v - T_h] \frac{I_{OL}}{2} \quad (2.137)$$

Le terme $[R_h - T_v + R_v - T_h]$ vaut de l'ordre de 10^{-2} pour le cube utilisé. Ce défaut atteint très peu la mesure δI_- . Par contre, la valeur moyenne de la différence d'intensité utilisée pour l'asservissement est fortement affectée par ce défaut. On a en effet :

$$\bar{I}_- = \bar{I}_{-th} + [R_h - T_v + R_v - T_h] \frac{I_{OL}}{2} \quad (2.138)$$

Le défaut $[R_h - T_v + R_v - T_h]$ ne peut être mieux défini : il faut alors procéder à une mesure sur le cube séparateur.

Chapitre 3

Réalisation technique du microscope électro-optique

Cette partie est essentiellement technologique. Il s'agit là de présenter la réalisation concrète de l'instrument ainsi que les choix techniques et technologiques qui lui sont associés. La structure générale de l'instrument, des points sur l'optique, l'optomécanique, l'électronique, l'asservissement et quelques éléments sur le pilote de l'instrument y sont passés en revue. Le principe générique d'une mesure est présenté à la fin de ce chapitre.

3.1 Structure générale

La structure générale du montage est contrainte par les utilisations particulières qui en seront faites. C'est à partir du schéma de principe, dans lequel ont été incluses ces contraintes, qui a guidé la réalisation technologique du microscope. Les contraintes déterminant la forme générale de l'instrument sont présentées dans cette section.

Dans la perspective d'études d'échantillons « fluides », c'est-à-dire biologiques ou microfluidiques, il a fallu définir un système travaillant avec un échantillon horizontal. Ces échantillons, d'épaisseur millimétrique, doivent pouvoir être glissés entre le condenseur et l'objectif de microscope. La mesure des différentes composantes du tenseur électro-optique demande le contrôle de la polarisation traversant l'échantillon et l'analyse des signaux émergeant. D'autre part, pour avoir une résolution tridimensionnelle, l'échantillon est fixé sur une translation piézoélectrique d'une course d'environ 100 μm . Ces contraintes ont déterminé la structure générale en imposant de travailler avec un bâti qui les satisfait.

Les interféromètres homodynes réalisés jusqu'ici étaient assez compacts et les deux voies n'étaient séparées que sur une faible distance (30 cm de chemin optique tout au plus). Le

microscope confocal, dans les conditions énumérées ci-dessus, impose de séparer les voies sur une distance bien plus importante et d'introduire plus d'éléments optiques donc de perturber davantage le front d'onde sur la voie *signal*. Dans la configuration actuelle, qui n'est pas optimale en terme de compacité, mais qui permet d'intervenir assez aisément sur les optiques, les voies sont séparées sur un mètre environ. Pour réduire les perturbations sur une telle longueur, le microscope est monté sur un banc isolé et enfermé dans une boîte (fig.3.1). L'électronique a été concentrée dans une baie extérieure, seul le préamplificateur étant à proximité des photodiodes pour réduire les conséquences des perturbations dans les câbles. Notons au passage que le laser utilisé (un Hélium-Néon de 3,7 mW) est sur le banc, dans la boîte. Son échauffement pose actuellement problème, une autre solution étant en cours d'étude.

Mise à part la détection synchrone (commerciale), toute l'électronique a due être conçue spé-



FIG. 3.1: Photographie générale du montage. L'électronique de traitement et de pilotage est regroupée dans la baie, à gauche, l'optique est dans la boîte noire. Seul un bloc de préamplification des signaux est adjoint à l'optique pour limiter les parasites.

cifiquement pour le microscope électro-optique. Seul un oscilloscope, un analyseur de spectre et un générateur de fonction arbitraire auxiliaire sont utilisés pour l'étude et la résolution des problèmes qui apparaissent occasionnellement (mise en place de l'automatisation de l'acquisition, réglage et optimisation de l'asservissement, amplification, etc.).

Afin de simplifier la procédure d'enregistrement qui demande simultanément de contrôler le

bon fonctionnement de l'asservissement, de générer les signaux de modulation et de traiter l'enregistrement ainsi que de translater l'échantillon et de régler la polarisation du faisceau de sonde, l'ensemble du système est piloté par ordinateur grâce à un programme réalisé spécifiquement pour le microscope électro-optique. Ce programme est nécessaire pour acquérir un nombre suffisant de mesures en un temps raisonnable. Une carte de résolution acceptable (au moins 200 points de mesures sont nécessaires pour une carte de faible résolution) ne peut en effet être obtenue qu'avec un système piloté par ordinateur.

3.2 Parcours des faisceaux, banc optique

En général, un montage optique est d'autant moins sensible aux perturbations extérieures qu'il est compact. Nous avons donc tenté de réaliser le montage le plus compact possible tout en laissant les accès nécessaires pour les réglages manuels et les alignements. Il a aussi été prévu des degrés de liberté de façon à faire évoluer facilement le montage et satisfaire ainsi à d'autres contraintes que nous aurions pu ne pas avoir encore prises en compte.

Le banc optique est présenté en fig. 3.2.

Le trait rouge indique le chemin du faisceau laser. Il est d'abord épuré, puis séparé en *signal* et *oscillateur local* au niveau du premier cube séparateur de polarisation. L'intensité relative des deux voies est réglée par une lame demi-onde. Le laser a été placé volontairement loin de ce premier cube pour faciliter le réglage de la position et de la direction du faisceau entrant dans le reste du montage.

L'*oscillateur local* longe le banc noir qui supporte le microscope confocal, sa polarisation est modifiée par une lame demi-onde, puis il traverse le deuxième cube séparateur de polarisation. La polarisation linéaire horizontale est transformée en circulaire droite par la lame quart d'onde. Il est réfléchi sur le miroir de l'actuateur piézoélectrique, sa polarisation devient alors circulaire gauche. Passant une nouvelle fois la lame quart d'onde, l'*oscillateur local* est alors polarisé verticalement. Le cube séparateur de polarisation 2 le réfléchit alors vers le mélangeur.

Le *signal* qui a traversé le cube séparateur de polarisation 1 est dirigé par un jeu de miroir dans l'objectif de microscope, traverse l'échantillon, puis le condenseur qui repousse l'image à l'infini (les objectifs utilisés sont corrigés à l'infini), ce qui permet de retrouver un faisceau parallèle. Pour pouvoir utiliser des échantillons qui ne supportent que la position horizontale, un bâti de microscope spécifique a été réalisé pour supporter le jeu de miroirs ainsi que les objectifs de microscope et le système de *porte-échantillon*. L'échantillon est mobile sur un support indépendant de la monture des objectifs, il peut être aligné par un système de vis micrométriques selon trois axes. Les déplacements micrométriques et submicrométriques

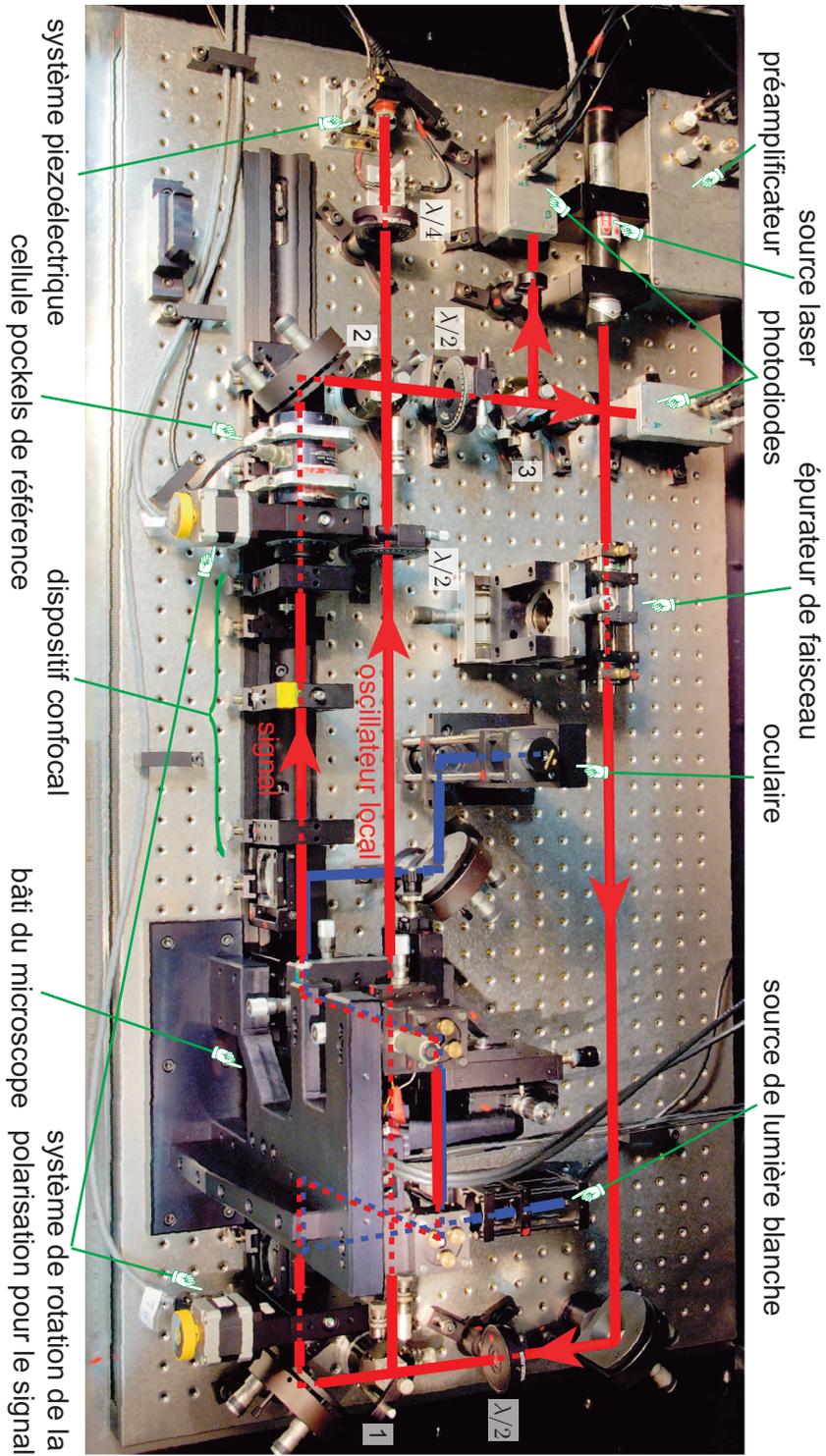


FIG. 3-2: Photographie du banc optique. La ligne rouge représente le chemin du faisceau laser et la ligne bleue celui de la lumière blanche pour l'alignement. Les chiffres de 1 à 3 indiquent les cubes séparateurs de polarisation comme pour le schéma 2.14.

nécessaires pour cartographier les déphasages sont contrôlés par une platine piézoélectrique trois axes pilotée par ordinateur.

Le dispositif confocal est placé juste après le bâti du microscope. Il est réalisé simplement par un système afocal de deux lentilles convergentes avec le trou de confocalité placé au point image. La lentille de sortie peut être translatée selon le chemin optique pour ajuster le diamètre et la divergence du *signal* à celui de l'*oscillateur local* qui est toujours légèrement modifié par son passage dans les deux systèmes théoriquement afocaux du microscope confocal.

Situées de part et d'autre du bâti et du système confocal, deux lames demi-ondes permettent de modifier la polarisation du faisceau sondant le déphasage dans l'échantillon. Pour simplifier la manipulation de cette polarisation, les lames demi-ondes ont été montées sur des platines motorisées qui sont pilotées par l'ordinateur.

Le faisceau traverse ensuite une cellule Pockels de KDP taillée perpendiculairement à l'axe extraordinaire qui sert de référence de déphasage. Cette cellule Pockels, a été calibrée indépendamment au moyen d'un interféromètre de type Michelson, ce qui permet d'avoir une référence de déphasage absolue.

L'alignement de l'échantillon nécessite un système simple de « prévisualisation » de la zone de l'échantillon placée entre les deux objectifs de microscope. Pour cela, un éclairage en lumière blanche et un oculaire ont été placés en parallèle de la voie signal. Le faisceau de lumière blanche, dont le trajet est représenté en bleu se superpose au trajet du signal uniquement dans le bâti. Un jeu de miroirs amovibles permet de choisir le faisceau qui traverse l'échantillon. La superposition exacte de ces deux trajets est réalisée en confondant le centre de la mire de l'oculaire et l'image du faisceau *signal* que l'on a préalablement atténué pour pouvoir l'observer à l'oeil nu.

Le *signal* et l'*oscillateur local* arrivent alors vers le mélangeur exactement dans la configuration donnée en fig. 2.15. On retrouve donc ce jeu de polarisations, les lentilles nécessaires pour focaliser les faisceaux sur les photodiodes étant ajoutées. Ces photodiodes sont directement montées sur les convertisseurs courant-tension suivis de jeux de filtres qui séparent la composante continue nécessaire à l'asservissement (*monitoring*) de la composante haute fréquence contenant l'information sur la phase. Le boîtier de préamplification agit sur les composantes hautes fréquences et effectue la différence entre les deux voies, menant ainsi à δI_- . Cette préamplification sert à diminuer l'effet des parasites reçus entre les photodiodes et la détection synchrone en augmentant simplement le rapport signal à bruit.

3.3 Le bâti du microscope

Il n'existe pas, commercialement, de bâti adapté aux contraintes du microscope électro-optique. Les microscopes fonctionnant en transmission n'offrent pas assez de degrés de liberté en réglages optiques. Les structures de bâtis proposées ne permettent pas de modification simple pour être adaptées à ce besoin particulier. La spécificité de ces produits commerciaux ainsi que leur coût prohibitif m'a conduit à dessiner un bâti dédié au microscope électro-optique.

Le système a été conçu avec le logiciel de CAO *Catia*, produit par *Dassault Systèmes*. En effet, la complexité du bâti à réaliser aurait rendu très délicate une étude sans assistance informatique.

J'ai d'abord défini les contraintes externes non modifiables (taille du marbre, réseau de tarauds, etc.). Les contraintes optiques ont ensuite été intégrées, soit en positions relatives (distances entre les objectifs de microscope, alignements, réglages des degrés de libertés) soit en exclusion (gabarits des miroirs et des objectifs, passage des faisceaux, etc.). Autour de cela a ensuite été définie la position des éléments supports de l'échantillon. On a commencé par la table piézoélectrique trois axes qui doit supporter la masse la plus faible possible pour garantir un temps de réponse court en régime asservi, et ensuite la translation manuelle trois axes sur laquelle on doit appliquer un couple aussi faible que possible pour éviter les problèmes d'arc-boutement lors du déplacement de l'échantillon. Suite à cela, ont été intégrées les contraintes ergonomiques nécessaires pour permettre à l'expérimentateur un accès pratique aux réglages des différents éléments optiques (alignements et positions relatives). Le bâti a ensuite été conçu en reliant par de la matière les éléments appartenant à la même classe cinématique. D'autres pièces telles que des passe-fils, un support pour les « pincés crocodiles » nécessaires à l'alimentation de l'échantillon ou encore un support d'oculaire pour le contrôle manuel de la position de l'échantillon ont été ajoutées à la fin. Il a demandé la réalisation de 27 pièces et l'assemblage de 64 éléments (hors visserie de fixation). Plusieurs vues du schéma sont données en figs. 3.3, 3.4 et 3.5. Une vue du schéma support d'échantillon est donnée en fig. 3.6, on peut la comparer à la photographie de la fig 3.10.

Il est composé de quatre classes cinématiques principales, auxquelles on pourra ajouter, pour être exhaustif, les miroirs et leurs supports :

- La première classe est naturellement la partie fixe reliée au banc. Elle est composée de deux parties principales. La face avant, qui supporte les objectifs de microscope et les éléments guidant le faisceau *signal*. Un pied situé sur l'arrière qui supporte la translation trois axes nécessaire pour le porte-échantillon. Ces deux parties sont reliées par un pont qui rigidifie l'ensemble et guide les câbles.

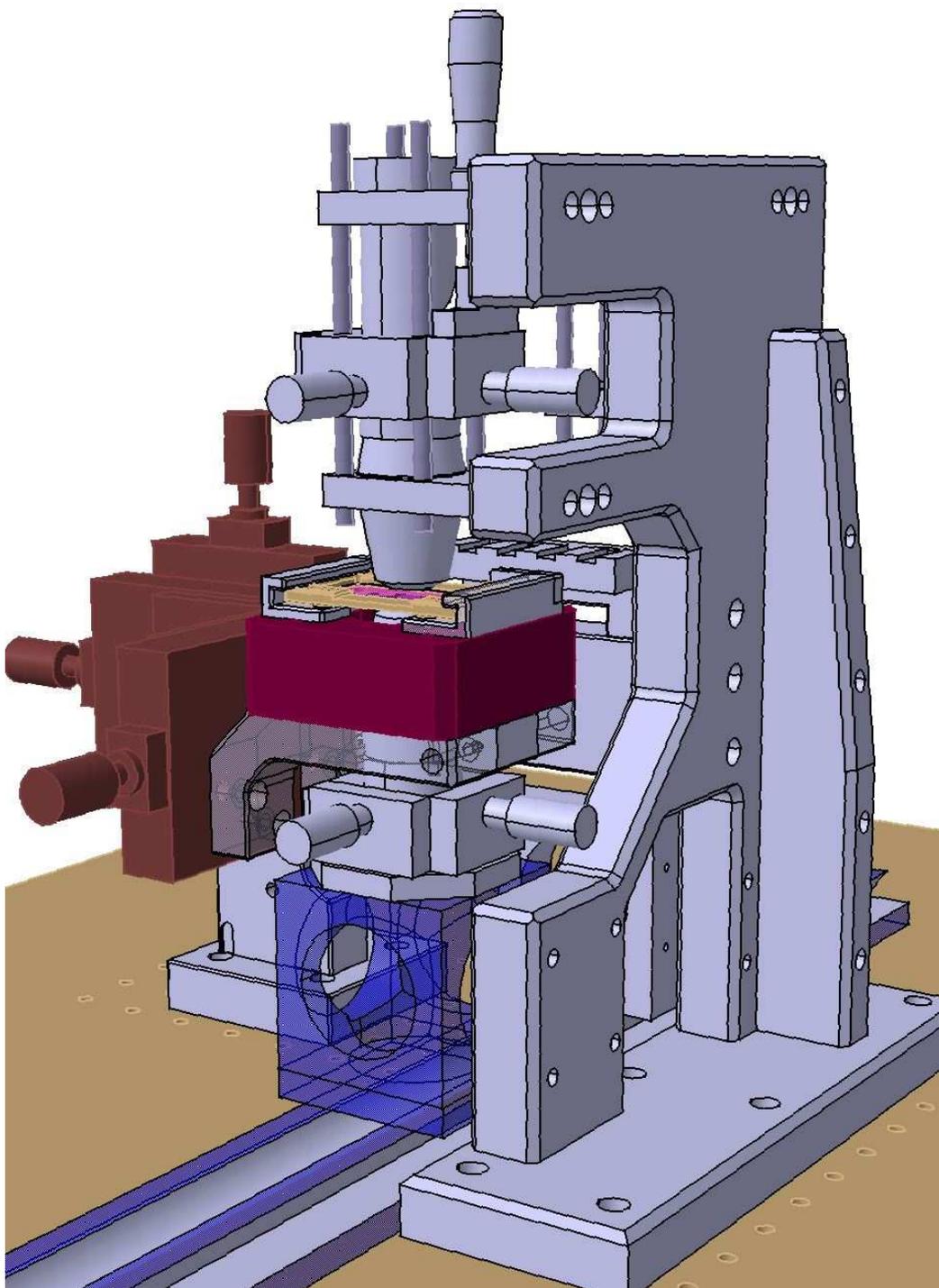


FIG. 3.3: *Vue générale du bâti de microscope. Les détails de sa conception sont donnés dans le texte.*

- La deuxième classe est associée à l'échantillon. Elle est reliée à la partie fixe du bâti par une translation trois axes achetée chez *ThorLabs Inc.* On notera qu'elle est elle même

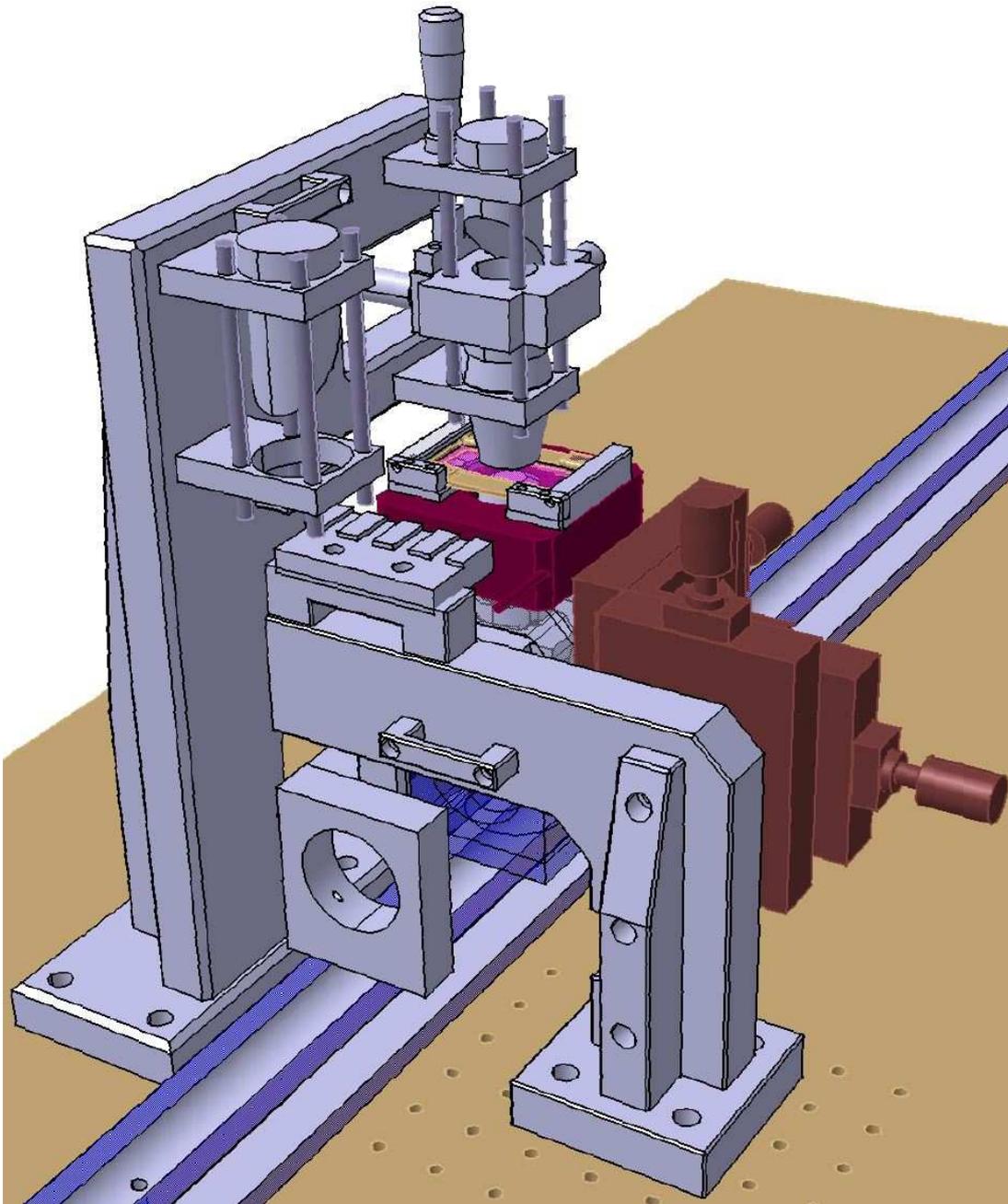


FIG. 3.4: *Vue de dos du bâti de microscope. On voit le parcours des faisceaux et le pont qui rigidifie la structure.*

divisée par la translation piézoélectrique en une « équerre » et le porte-échantillon à proprement parler.

- La troisième classe est constituée du condenseur, qui peut-être déplacé perpendiculairement

à l'axe du faisceau.

- La quatrième concerne l'objectif qui est mobile perpendiculairement et parallèlement au faisceau. C'est cette dernière liaison cinématique qui pose problème en raison d'un désalignement angulaire lors de la focalisation en z , il semble qu'elle sera à revoir entièrement.

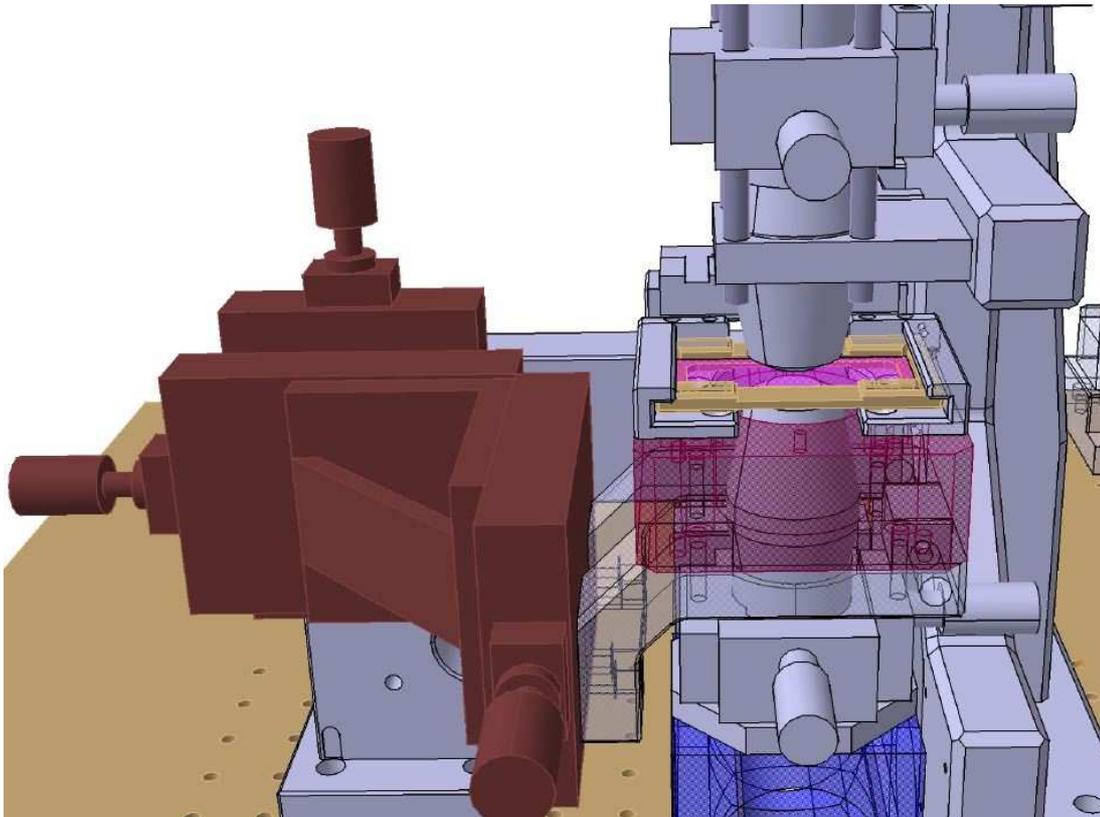


FIG. 3.5: Environnement et support de l'échantillon.

Ces pièces ont été réalisées à l'atelier de mécanique du laboratoire SATIE (physique appliquée, IFR d'Alembert, ENS Cachan). Le matériau retenu, le duraluminium, n'est pas optimal pour ce type d'élément car il est trop léger et de module d'Young trop faible, et vibre donc facilement. C'est cependant un bon compromis entre les exigences du microscope électro-optique et les moyens techniques de l'atelier mécanique, pour lequel, la réalisation d'un bâti en fonte n'était pas possible. La réalisation d'une pièce de fonderie par une méthode à cire perdue aurait été inutilement coûteuse pour un prototype. De plus, l'usinage des parties fonctionnelles aurait été très délicate avec les moyens dont nous disposons, il aurait fallu externaliser aussi cette étape de la fabrication. Pour les développements futurs, il est envisagé de faire fabriquer un bâti en fonte après identification et correction des défauts de ce premier bâti. Les pièces

en duraluminium ont été anodisées en noir pour atténuer les réflexions parasites. Le résultat global est relativement satisfaisant pour un prototype réalisé dans un métal mou (au sens des métallurgistes!). Seul le réglage de l'objectif selon l'axe du faisceau pose problème, la position de la vis micrométrique, nécessairement hors axe optique, arc-boute le support de l'objectif de microscope sur le système de quatre tiges guides. Un hystérésis apparaît lors du réglage de la position de cet objectif. Pour l'instant, aucune solution à ce problème, commerciale (quitte à la modifier) ou non, n'a été trouvée.

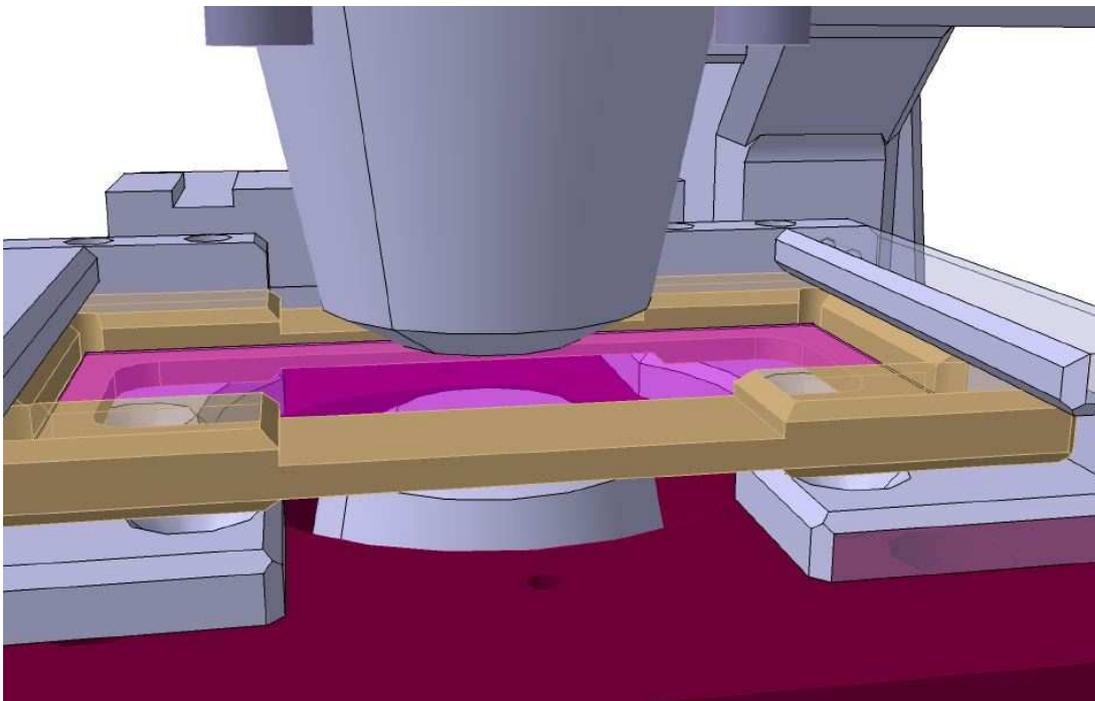


FIG. 3.6: *L'échantillon est guidé entre les deux objectifs de microscope.*

3.4 Composants optiques et optoélectroniques

Comme pour tous les montages d'optique, et en particulier pour l'interférométrie, un soin particulier a été apporté au choix des composants optiques, optomécaniques et optoélectroniques. Comme il s'agit d'un premier montage et qu'on avait peu d'informations sur la sensibilité du microscope à la qualité des composants, j'ai opté pour des composants à coût raisonnable dans l'objectif de remplacer progressivement, en tant que besoin, ceux dont les performances sont insuffisantes, plutôt que d'opter pour un équipement surdimensionné.

3.4.1 Optomécanique

La partie de microscopie confocale de la voie *signal* demande un bon alignement. Un banc SYS65 fabriqué par OWIS permet un alignement aisé le long de l'axe optique. La hauteur du faisceau est fixée à 65 mm. Tous les autres supports ont été choisis en conséquence. Les éléments ne supportant pas d'optique dont le réglage serait critique ont été commandés chez *ThorLabsInc*, les autres proviennent essentiellement de *Microcontrôle*.

Un certain nombre d'adaptateurs a été réalisé sur place pour assurer la compatibilité des supports disponibles commercialement au standard retenu pour le microscope.

Les assemblages verticaux, dont le principal représentant est le bâti de microscope, sont réalisés à partir de composants optomécaniques commercialisés par Linos. Ils ont été retenus car ils sont supportés par un système de quatre barres métalliques parallèles qui semblait leur assurer une très bonne stabilité et permettre des translations selon l'axe sans désalignement. S'il s'avère que leur stabilité est en effet exceptionnelle, ce système n'est toutefois pas optimal pour les pièces qui doivent coulisser le long des quatre barres.

On trouvera des illustrations en figs. 3.2 et 3.10.

3.4.2 La source

La source est un laser Hélium-Néon Melles Griot d'une puissance de 2,96 mW. Les caractérisations (et non les données constructeur) ont donné un col de $\omega_0 = 0,26 \pm 0,06$ mm et une divergence de faisceau de $\theta = 0,8 \pm 0,2$ mrad. Le laser émet dans deux modes longitudinaux, de mêmes polarisations linéaires, espacés de 780 ± 10 MHz.

Le laser stabilise sa puissance d'émission à 2,96 mW en 45 min environ. Après ce préchauffage, on assiste à un phénomène de dérive assez lent : la puissance fluctue de $\pm 0,01$ mW sur des temps caractéristiques de l'ordre de la minute. A cela s'ajoutent les fluctuations du secteur dont un enregistrement est donné en fig 3.7.

Le bruit en intensité du laser est très faible, il n'a pas posé de problème à ce jour. On relève juste deux oscillations à 133 kHz et 257 kHz. Le spectre de puissance de bruit est donné autour de ces fréquences en fig. 3.8. Ce sont les seules bandes de fréquences où le bruit du laser n'est pas négligeable devant le bruit des convertisseurs courant-tension.

La qualité du mode transverse du faisceau laser est assez moyenne. On a choisi de l'épurer en le faisant converger avec un objectif de microscope sur un diaphragme qui filtre les modes de fréquences spatiales élevées. Le résultat est présenté en fig. 3.9. On aurait sûrement obtenu un filtrage de meilleur qualité avec une fibre monomode, mais les problèmes de polarisation seraient alors délicats à gérer et il nous faut nous affranchir au mieux des fluctuations mécaniques extérieures en utilisant un système aussi rigide que possible et peu dépendant de la température.

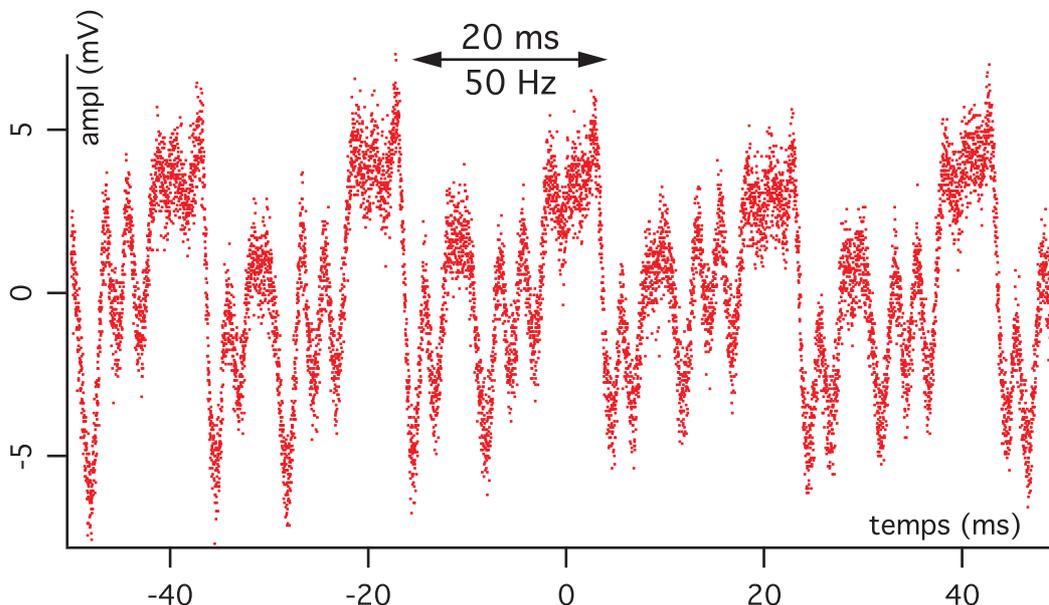


FIG. 3.7: Enregistrement des fluctuations de l'intensité émise par le laser (composante alternative). On retrouve notamment la composante à 50 Hz due au secteur. Ces fluctuations viennent bien du laser et non de la photodiode : éclairée avec un pointeur laser alimenté en continu et d'intensité équivalente, la photodiode ne présente pas ces fluctuations.

L'objectif de microscope du filtrage a un grossissement de x20 et une ouverture numérique $NA = 0,35$ ($f=8,2$ mm). Le trou du diaphragme a un diamètre de $30\ \mu\text{m}$. Ces valeurs ont été retenues après un certain nombre d'essais en partant de résultats de calculs. On a cherché un bon compromis entre la qualité de l'épuration et la facilité de réglage. Il s'agit de toute façon d'un montage très classique.

3.4.3 Les composants optiques

Les composants sont tous traités pour fonctionner à $632,8$ nm, à l'exception des objectifs de microscope (déjà traités large bande), et de la cellule Pockels de référence. Cette dernière a été fabriquée par la société anglaise *Leysop*. Les caractéristiques nécessaires, notamment la taille du cristal, ne permettant pas d'obtenir le produit désiré en un temps raisonnable, nous avons profité d'une opportunité sur un composant proche de nos spécifications (le seul écart est la transmission de 97% à $632,8$ nm. Son V_π est de 7400 V, voir en Annexe A).

Les lentilles ont été fabriquées par la société chinoise *Casix* (optique de diamètre 25,4 mm). Elles sont de qualité suffisante pour notre application. Les lames d'ondes ont été fabriquées par *Fichou* (lames $\frac{\lambda}{2}$ et $\frac{\lambda}{4}$, ordre 0 traitées pour $632,8$ nm). On a retenu les lames les plus

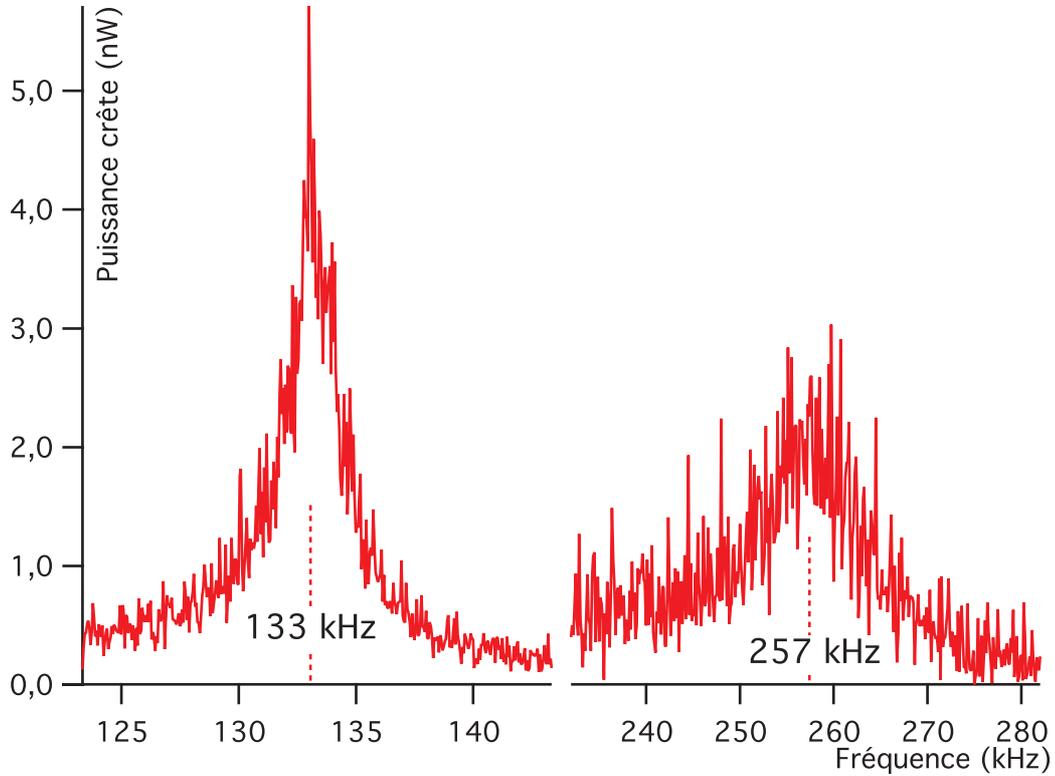


FIG. 3.8: *Détail du bruit du laser à 133 kHz et à 257 kHz (resolution bandwidth = video bandwidth = 1,0 Hz, filtre gaussien). Ces oscillations ne sont pas vraiment gênantes, il suffit d'éviter les mesures autour de ces fréquences.*

stables possibles en température pour éviter qu'une modification de leurs propriétés se traduise par les défauts détaillés en section 2.6.3.

Les cubes séparateurs de polarisation ont été fabriqués par *Melles Griot* (réf. 03BPS045). Le choix n'est pas exceptionnel pour ces composants, aucun ne présentant de très bonnes caractéristiques simultanément en transmission et en réflexion. Après une première tentative malheureuse (comme pour les lames d'onde d'ailleurs), on a opté pour cette référence, qui est semble-t-il le meilleur compromis entre les performances en transmission et en réflexion pour notre application.

Les caractéristiques des lames et des cubes sont données dans le chapitre précédent en partie 2.6.3.

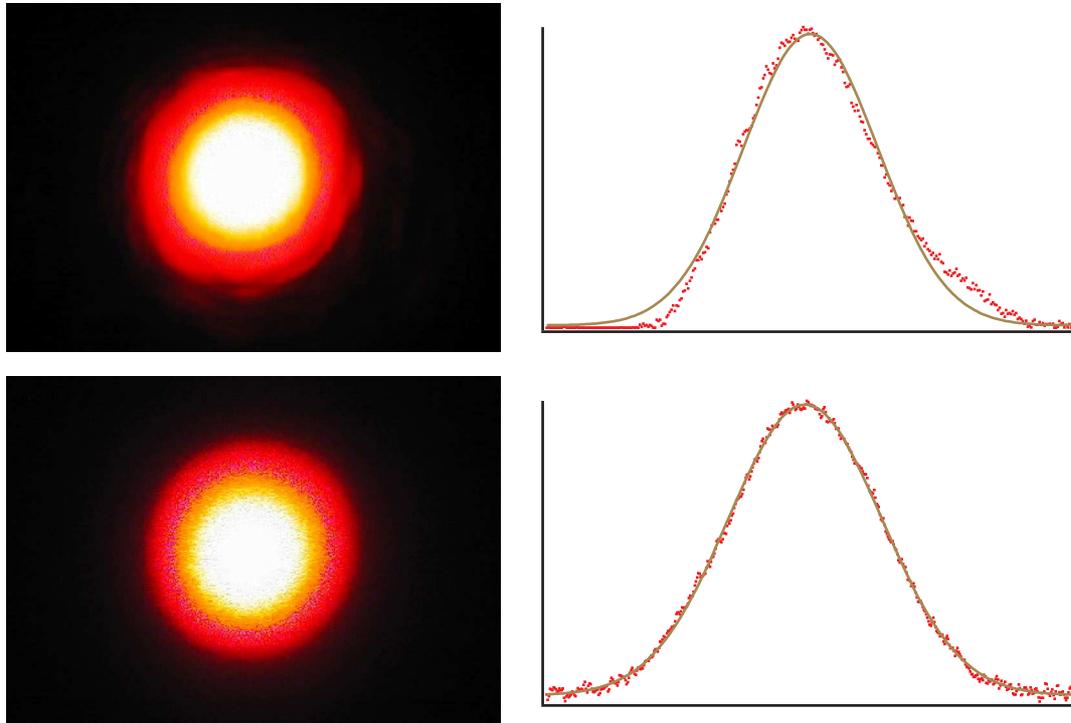


FIG. 3.9: L'épuration du laser améliore très sensiblement la qualité du mode. On a à droite des images du faisceau, avant (en haut) et après (en bas) filtrage. La couleur blanche au centre du faisceau vient de la saturation des pixels de l'appareil photo numérique qui « débordent » d'une couleur sur l'autre. A droite, un profil issu d'une image CCD est ajusté par une gaussienne. La qualité du mode (TEM_{00}) se retrouve dans le très bon ajustement des ailes de la gaussienne.

3.4.4 Les objectifs de microscope

L'étude optique d'échantillons biologiques renvoie à trois échelles distinctes qui imposent des contraintes particulières. Celles-ci sont résumées dans le tableau 3.1.

En général, un instrument ne permet d'accéder qu'à une seule de ces échelles, il faut donc s'assurer, dès la conception, de la pertinence des informations qui vont être recueillies à l'échelle choisie.

Dans le cas du microscope électro-optique, l'échelle centimétrique n'est pas réaliste. D'une part le mode de fonctionnement en transmission ne permettra pas de procéder à des mesures *in vivo*, même chez le petit animal après intervention chirurgicale. D'autre part, l'intérêt du microscope réside dans la possibilité de lire les champs électriques avec une échelle micrométrique, donc résolue aux gros organites. A cette résolution, la quantité d'informations à recueillir serait trop importante pour un échantillon centimétrique dont l'intérêt serait de ne pas se limiter à une cartographie sur des zones submillimétriques. Les moyens actuels, les limi-

ordre de grandeur de l'épaisseur de l'échantillon	types d'objet	origine	type d'étude
10 μm	cellules	<i>in vitro</i> (culture)	biologie cellulaire
1 mm	prélèvements	<i>ex vivo</i> (prélèvement)	éléments d'organe
1 cm	organes	<i>in vivo</i>	comportementale

TAB. 3.1: Ordres de grandeur des objets d'études biologiques en microscopie.

tations physiques et les capacités de traitement de l'information rendent, en l'état, irréaliste le développement du microscope pour cette échelle d'étude.

L'échelle millimétrique permettra de travailler avec des prélèvements réalisables sans difficulté par des biologistes. De plus, le travail sur des échantillons neuronaux *ex vivo* amène des informations plus riches (sur le comportement des réseaux par exemple) qu'à l'échelle micrométrique pour laquelle on doit se limiter à quelques cellules en interaction. Bien que l'étude du comportement à cette dernière échelle ne soit pas dénuée d'intérêts, il nous a semblé important de ne pas nous y limiter.

Pour accéder aux deux échelles, micrométrique et millimétrique, des objectifs de microscope à longue distance de travail ont été choisis. Le modèle retenu est un *Nikon CFI plan-Fluor ELWD 40x/0.60*. Ces objectifs ont une grande distance de travail (de 2,7 à 3,7 mm) et une bague de correction de l'épaisseur de la lame (de 0 à 2 mm). La longueur de tube¹ est de 200 mm et il est nécessaire d'ajouter cette lentille pour se conformer au grossissement indiqué par le constructeur. On peut ainsi travailler avec un faisceau parallèle sur de grandes longueurs. Etant donnée la configuration optique imposée par la détection homodyne, ce dernier point est important. Dans notre cas, pour des raisons de compacité, la lentille utilisée a une focale de 100 mm.

D'un point de vue pratique, on retiendra que le modèle choisi impose de travailler avec des échantillons dont l'épaisseur totale est inférieure à 3 mm et la distance entre objectifs est de 6 mm. Ce montage offre une grande souplesse d'utilisation tant par l'épaisseur maximale des échantillons que par la distance entre objectifs qui permet (avantage non négligeable) de déposer l'échantillon sur un plateau et de le glisser entre les objectifs sans risque de rayure.

La résolution latérale des objectifs n'est pas modifiée par le dispositif confocal pour les raisons données en section 2.3.2. On a appliqué dans ce cas simplement la relation d'Airy, aboutissant à une résolution de 643 nm. On retiendra qu'on résout sans difficulté les détails

¹ ou plus précisément, la longueur focale de la lentille de tube.

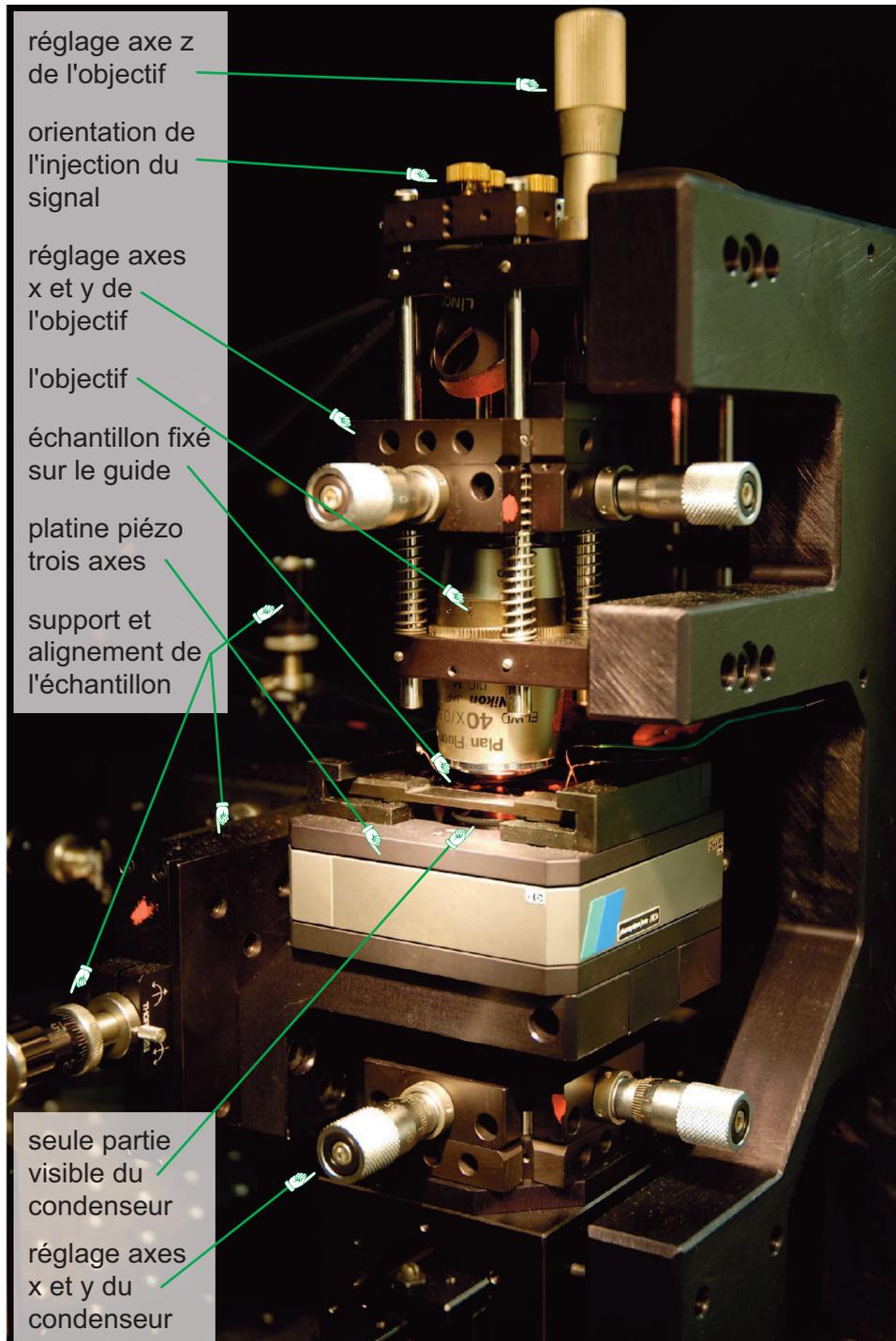


FIG. 3.10: *Détail de la chaîne d'objectifs de microscope. Seul le condenseur, entouré de la translation piézoélectrique, n'est pas visible.*

d'un micromètre. Ce point n'est pas vraiment critique à cette étape du développement de l'application.

Mentionnons cependant qu'une meilleure résolution peut être obtenue de deux manières.

On peut soit augmenter l'ouverture numérique de l'objectif, mais le champ optique incident ne peut plus être considéré comme une onde plane entre les objectifs de microscope. Il faut procéder à des calculs du type de ceux menés en annexe de la thèse [78]. Ce serait très malaisé pour la microscopie électro-optique, à moins d'admettre une moindre résolution en polarisation, donc une moindre aptitude à discriminer les différentes composantes du tenseur électro-optique ou la direction du champ électrique.

On peut aussi travailler avec une intensité lumineuse plus forte. Dans ce cas on peut « déconvoluer » le résultat obtenu, s'il présente une résolution suffisante en intensité, de la fonction d'appareil du système. En pratique, on ralentirait fortement la vitesse d'acquisition, et surtout on prendrait le risque de détruire l'échantillon par effet thermique ou par photoblanchiment.

Pour les raisons évoquées en section 2.3.2, la définition de la résolution longitudinale est délicate. On peut s'accorder sur la largeur à mi-hauteur de la réponse d'un point unique qui générerait de l'effet Pockels quand on déplace l'échantillon suivant l'axe optique. Dans ce cas, cette mesure dépendrait essentiellement du diamètre du trou de confocalité retenu. Un calcul d'ordre de grandeur donne 2 μm . Il faudrait cependant l'évaluer expérimentalement, ce qui n'est pas simple et qui n'a pas été encore fait dans la mesure où les premiers échantillons utilisés ne nécessitaient pas de résolution longitudinale. Quand un échantillon présentera des caractéristiques permettant une telle mesure, il faudra la déterminer en procédant à des mesures en parallèle sur un microscope à génération de seconde harmonique. On pourra ainsi mesurer les mêmes effets avec une résolution connue, ce qui servira de référence.

3.4.5 Les photodiodes

Les photodiodes S5972 fabriquées par Hamamatsu ont été retenues. Elles ont été montées directement sur un convertisseur courant-tension selon le schéma 3.11.

Ces photodiodes en silicium ont été choisies pour leur très large bande passante (500 MHz) malgré une surface effective de 0,5 mm qui facilite l'alignement. Elles ont une très bonne dynamique pour une tension de polarisation inverse raisonnable (point important pour le microscope car les variations d'intensité sont très faibles comparées à la composante continue du signal). A 632,8 nm, leur rendement quantique est supérieur à 82% (sensibilité² de

²La relation entre la sensibilité S et le rendement quantique η est $\eta = S \frac{hc}{\lambda e}$.

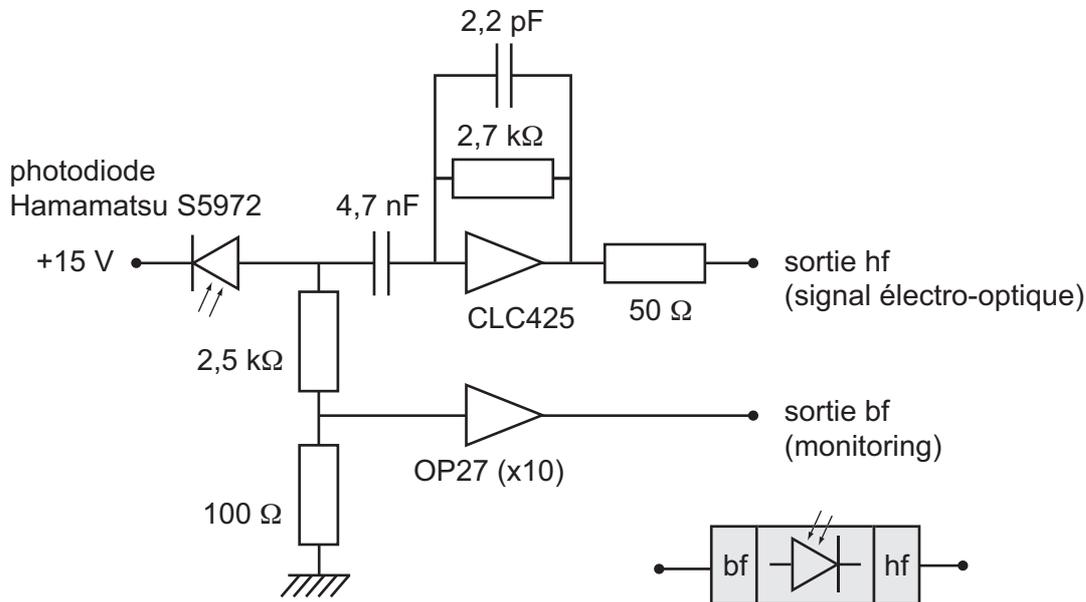


FIG. 3.11: Convertisseur courant-tension des photodiodes. Il s'agit essentiellement d'un schéma développé pour la photodiode EG&G FND100 (réf [52]) qui a été adapté pour la photodiode Hamamatsu S5972. Le convertisseur a deux sorties : une sortie filtrée pour le signal qui provient de l'effet électro-optique et une sortie de « monitoring » utilisée pour l'asservissement.

0,42 A.W⁻¹, réflexions sur la fenêtre de protection comprises) ce qui est suffisant pour l'utilisation du microscope pour les composants optoélectroniques. Leur coût est négligeable. Pour limiter les parasites et le problème d'adaptation d'impédance avec le câble, elles sont soudées directement sur le double convertisseur courant-tension (fig. 3.11). Ce convertisseur est issu d'un schéma développé pour des diodes EG&G FND100 utilisées pour des expériences d'optique quantique [52]. Ce schéma a été simplement adapté pour nos spécifications. Les éléments du convertisseur (amplificateurs et résistances métalliques) ont été choisis pour avoir une grande bande passante et un faible bruit. La partie « monitoring » est traitée par un amplificateur courant dans la mesure où cette sortie n'est pas critique (son taux de conversion est 1 V.mA⁻¹, elle coupe vers 450 kHz). La sortie « haute fréquence » a fait l'objet d'un traitement plus soigné. Un montage transimpédance a été retenu pour limiter les conséquences de la capacité parasite de la photodiode (on a un taux de conversion de 2,7 V.mA⁻¹ et une fréquence de coupure de 70 MHz). Une résistance a été ajoutée en sortie pour assurer l'adaptation d'impédance avec les câbles coaxiaux.

Le spectre de bruit des photodiodes associées aux convertisseurs courant-tension est donné pour chacune des sorties en fig. 3.12 pour la plage de fréquence allant de 9 kHz à 1 MHz. Il est quasi identique pour les deux systèmes. Il ne limite pas, pour l'instant, les capacités du

microscope électro-optique. Pour l'amélioration des caractéristiques des photodétecteurs que nécessitera une application à la biologie, il est envisagé d'utiliser des systèmes fabriqués par la société allemande *Femto*. Ils sont adaptés aux caractéristiques requises demandées. Nous pouvons noter, dès maintenant, qu'avec un convertisseur et des photodiodes bien choisis, on peut descendre en deçà des fluctuations dues au bruit quantique dans la voie *signal*.

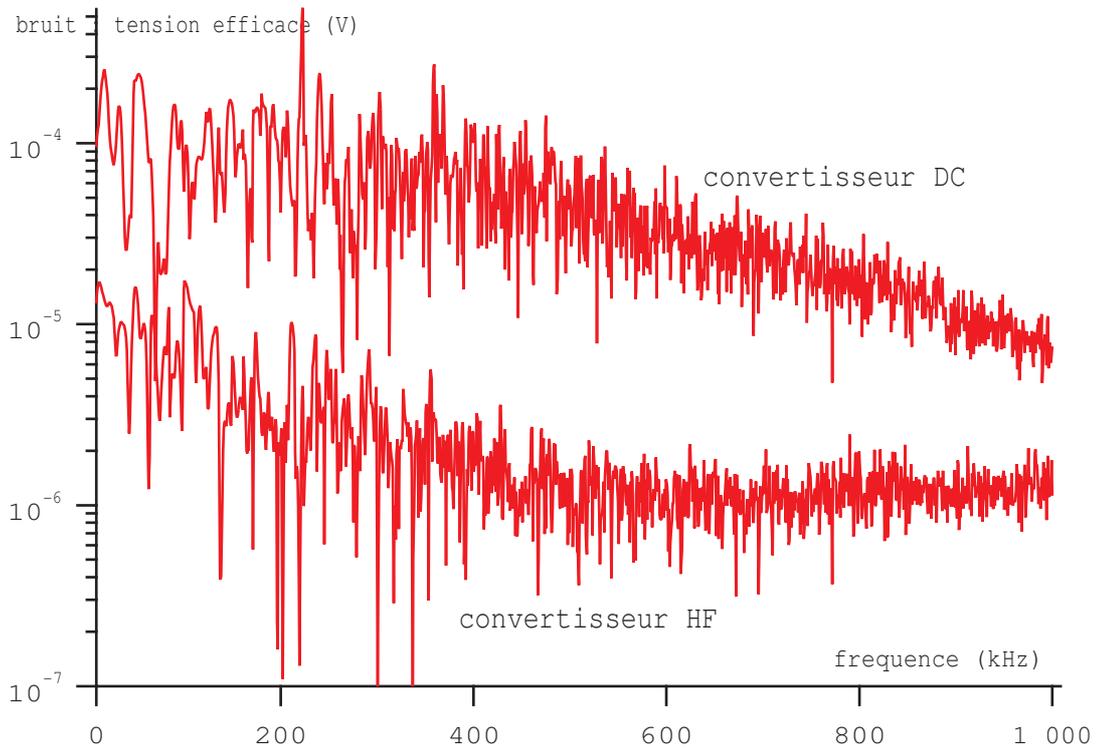


FIG. 3.12: Spectre de bruit (en tension efficace) de la photodiode câblée sur le convertisseur courant tension (resolution bandwidth = video bandwidth = 300 Hz, filtre gaussien). Aux fréquences auxquelles on travaille, ce niveau de bruit s'avère parfois problématique : on atteint facilement 1 μ V (la répartition habituelle de la tension entre les voies donne un taux de conversion qui est de l'ordre de 0,6 à 1 $\text{V}\cdot\text{rad}^{-1}$).

3.5 Electronique générale et traitement des photocourants

3.5.1 Structure générale

Un synoptique de la chaîne de contrôle est donné en fig. 3.13. Le contrôle des instruments est centralisé sur un PC. L'oscilloscope, le GBF annexe ainsi que l'analyseur de spectre ne

sont pas proprement utiles au fonctionnement du microscope électro-optique. Ils sont utilisés pour les réglages ou pour le contrôle des enregistrements.

L'électronique propre au microscope a été réalisée au LPQM (photographie 3.14). Il s'agit de l'asservissement, des pilotes des moteurs des lames d'onde qui permettent une analyse en polarisation de l'échantillon et du générateur de fonction arbitraire utilisé pour la tension appliquée sur l'échantillon.

3.5.2 Les préamplificateurs et le différentiateur

Le préamplificateur/différentiateur est le seul module électronique placé sur le bac optique (en plus des convertisseurs courant-tension sur lesquels sont soudées directement les photodiodes). Il a été placé près des photodiodes pour éviter de transporter des signaux trop faibles dans les câbles coaxiaux, de plus de 3 m, qui mènent à la baie où est centralisée l'électronique. Sa conception est très simple (fig. 3.15). Deux amplificateurs bas bruit adaptés en impédance préamplifient les signaux selon des gains ajustables pour équilibrer les photodiodes. Enfin, un amplificateur/soustracteur donne δI_- avec une amplitude suffisante pour ne pas être trop sensible aux perturbations dans les câbles. Deux suiveurs donnent une image des composantes haute fréquence des photodiodes pour la maintenance.

3.5.3 Les générateurs basse fréquence

Il était nécessaire de disposer d'un générateur de fonction sur le microscope pour alimenter les échantillons. On a besoin d'une très large gamme d'amplitude de sortie en fonction du type d'échantillon. Comme aucun GBF commercial ne remplit ces fonctions à un prix raisonnable, j'ai préféré développer un générateur adapté au microscope. En plus des spécifications déjà mentionnées, il est apparu utile de disposer d'une seconde voie pour étudier des structures de champs plus complexes qu'on pourra obtenir en appliquant deux champs sur deux couples d'électrodes. Pour travailler sur des membranes et des systèmes biomimétiques nous pourrions avoir besoins de signaux de formes complexes. J'ai proposé le schéma donné en fig. 3.16.

Ce générateur de fonction présente le défaut essentiel d'être assez long à charger : il faut prévoir parfois près d'une minute pour le transfert des données. Et, bien entendu, il est inutilisable sans PC. Le programme de contrôle et de génération des signaux est inclus au pilote du microscope.

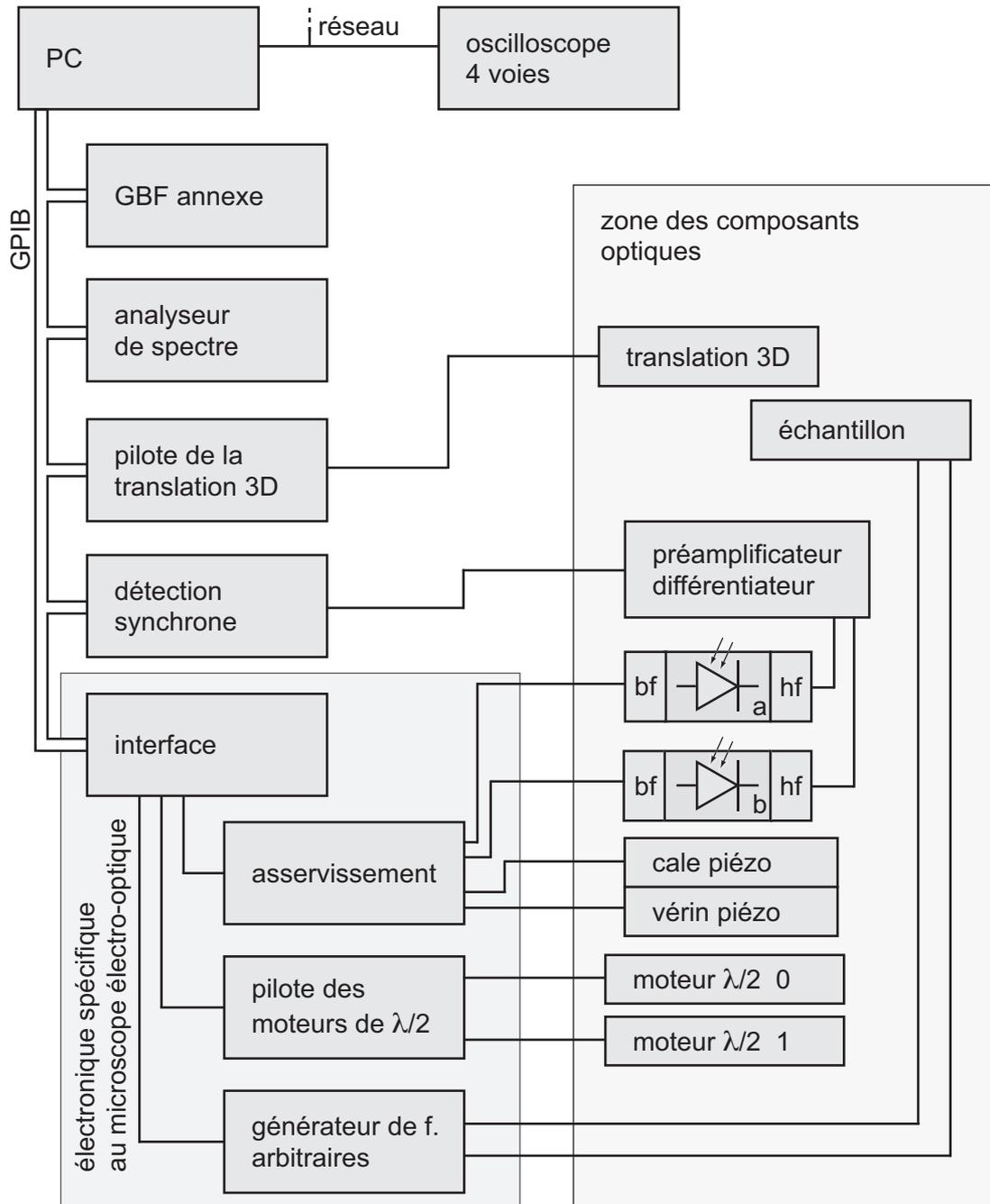


FIG. 3.13: Synoptique de la chaîne de commande et de contrôle du microscope. Le câblage est simplifié et les alimentations ne sont pas représentées. Les connections temporaires utilisées en routine pour contrôler le bon déroulement des mesures automatisées (GBF annexe, analyseur de spectre, oscilloscope) n'ont pas été représentées.

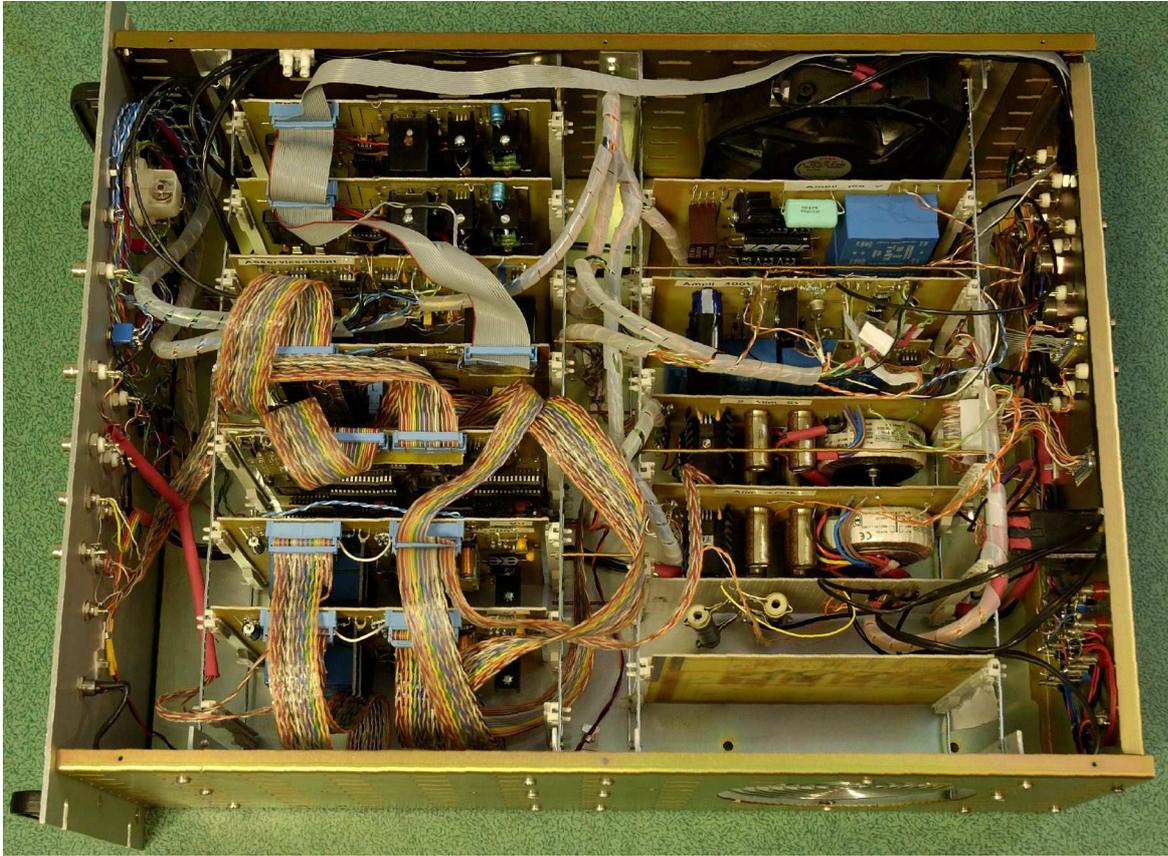


FIG. 3.14: Cartes électroniques d'asservissement et du générateur de fonctions arbitraires.

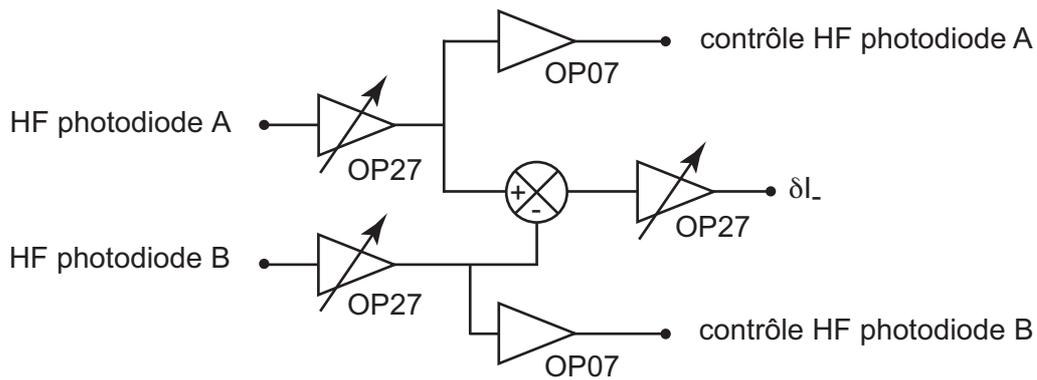


FIG. 3.15: Synoptique du préamplificateur différentiateur. Un système d'équilibrage des voies (non représenté sur la figure) permet de corriger facilement les différences d'amplification des convertisseurs et d'efficacité quantique des photodiodes. Les deux premiers amplificateurs sont couplés et n'ont que des coefficients discrets.

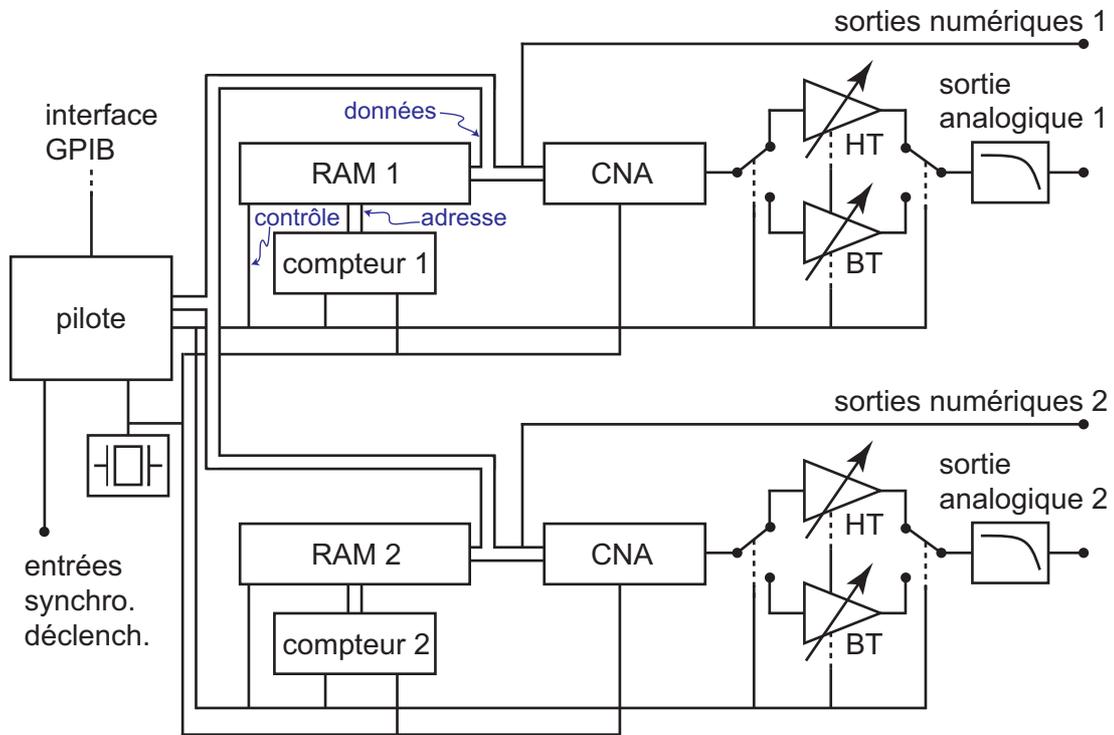


FIG. 3.16: Schéma de fonctionnement du double générateur basse fréquence. Deux modules identiques sont pilotés par un bloc de 3 circuits programmables Xilinx. Une mémoire vive préalablement chargée est balayée par un compteur. Les données numériques sont converties en signal analogique puis amplifiées. Pour pouvoir travailler avec des signaux de 100 μV à 200 V symétriques, deux amplificateurs sont montés en parallèle sur chaque voie. Quatre signaux numériques sont disponibles en sortie pour la synchronisation des éléments esclaves (détection synchrone par exemple), de même, chacune des voies peut-être déclenchée en interne ou en externe. Le signal à convertir ainsi que le mode de fonctionnement (périodique, monocoup, etc.) est préalablement chargé. Les signaux générés peuvent être absolument quelconques avec une fréquence de lecture de 1 mHz à 300 kHz.

3.6 Le verrouillage de la phase relative

3.6.1 L'actuateur piézoélectrique

On a vu que l'actuateur piézoélectrique doit compenser deux types de bruits : faible amplitude / haute fréquence et forte amplitude / basse fréquence. On peut voir la forme du bruit à compenser sur la zone où l'asservissement est arrêté de la fig. 3.23.

Un premier montage n'a pas donné les résultats attendus. Un vérin piézoélectrique remplaçait la vis micrométrique d'une translation *Microcontrôle*. La liaison par glissière à bille avait un jeu trop important : les petits déplacements ne sont absolument pas rectilignes avec ce type de liaisons, ce n'est que pour les grandes longueurs de translation que les dérives latérales

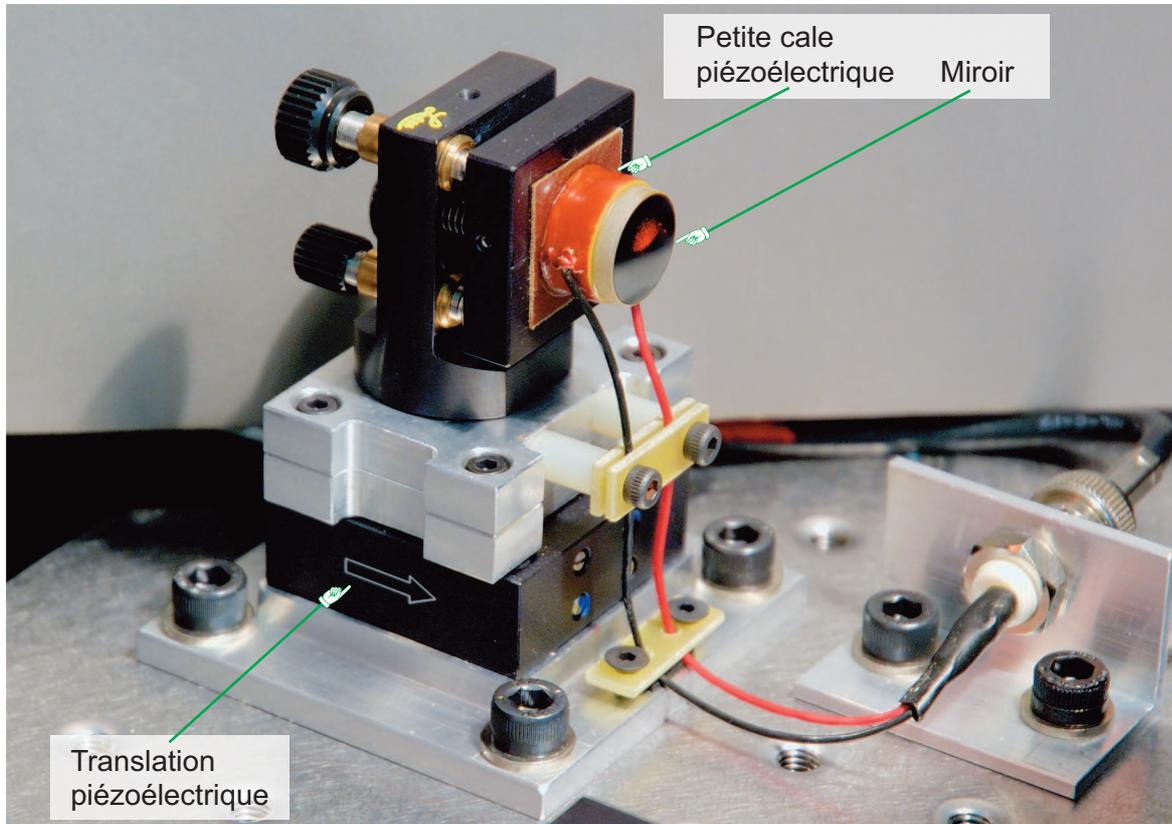


FIG. 3.17: *Détail de l'actuateur piézoélectrique. La translation compense les variations lentes de grande amplitude, quant à la cale, elle a en charge les variations rapides de faible amplitude. L'orientation du miroir est réglée au moyen du support Lees. Deux pièces d'adaptation ont été réalisées sur place. Les fils d'alimentation de la cale sont guidés pour éviter que les contraintes mécaniques exercées par ces fils ne dépendent de la position de la translation (et pire encore, d'un choc). On peut voir la diffusion d'une partie du faisceau laser sur le miroir.*

deviennent négligeables. Une translation de quelques micromètres de la platine donnait ainsi du « tilt » au miroir, réduisant alors le taux de recouvrement. D'autre part, le miroir était trop mince (1 mm), il s'est déformé au collage à la colle cyanoacrylate.

Le système a été redessiné à partir d'une translation dont la platine est directement collée sur les céramiques piézoélectriques (propriétés et références en tab. 3.2). On n'a donc plus le problème de « tilt » du miroir. Le réglage du miroir se fait au moyen d'un support *Lees LM-1* sur lequel est fixé la cale piézoélectrique. Tous les collages sont réalisés avec une colle époxy (PI EPOTEK 730) qui présente l'avantage de ne pas se contracter au séchage, d'être très visqueuse et repositionnable pendant 3h. Une plaque en verre époxy est d'abord collée sur le support *Lees* pour assurer l'isolation électrique. J'ai ensuite collé la cale piézoélectrique en prenant soin d'orienter les fils vers un passe-fil qui évite les fluctuations de contraintes

élément	référence	course	tens. de commande	capacité	fréq. de rés. à vide
vérin	P-621.10L	120 μm	-20 à 120 V	n.c.	800 Hz
cale	P-016.00H	5 μm	0 à 1000 V	42 nF	144 kHz

TAB. 3.2: Caractéristiques des éléments piézoélectriques retenus pour l'actuateur. Fabricant : PI Ceramic.

mécaniques. La cale est un cylindre évidé : cette forme réduit la dilatation transverse de la céramique qui apparaît lors de l'application d'une tension longitudinale sur les cales. Le miroir est finalement collé sur la cale piézoélectrique. Pour éviter qu'il se déforme au collage malgré l'utilisation d'une colle époxy, j'ai choisi une épaisseur assez importante (3 mm). Pour garder une fréquence de coupure assez élevée (au moins supérieure à 20 kHz), il a fallu retenir une cale assez grosse et de forte capacité (42 nF). L'amplificateur de la cale piézoélectrique a été dimensionné en conséquence : il a été conçu pour fournir un courant permettant à la cale d'osciller à 40 kHz sur une amplitude de $\frac{\lambda}{3}$ (soit 40 V autour d'une moyenne de 200 V maintenue pour assurer un fonctionnement symétrique de la cale).

3.6.2 Caractérisation de la FTBO

Principe de caractérisation

La caractérisation de la fonction de transfert en boucle ouverte n'est *a priori* pas possible. En effet, la FTBO n'a de signification dans notre montage qu'autour d'une phase moyenne de $\frac{\pi}{2}$, donc lorsque le système est verrouillé à cette quadrature. Ainsi, à première vue, la caractérisation de la FTBO impose que la boucle soit fermée. On peut lever ce problème en remarquant que pour la quadrature particulière qui nous intéresse, la réponse en amplitude est maximale (ceci apparaît dans l'équation 2.60). M'appuyant sur cette constatation, je propose la technique expérimentale suivante de détermination de la FTBO³ :

1. Pour avoir des mesures reproductibles, il faut d'abord s'assurer un préchauffage assez long (environ une heure pour tous les éléments).
2. Dans un premier temps, on optimise le recouvrement des faisceaux.
3. Un générateur de rampe alimente directement sur le vérin piézoélectrique. L'amplitude et la période de la rampe sont ajustées pour que le vérin se déplace sur une dizaine de

³ Vus la complexité du montage et le nombre d'éléments, une détermination théorique n'est pas concevable.

longueurs d'onde en environ une minute.

L'amplificateur de la cale piézoélectrique est branché sur un générateur basse fréquence. Il est réglé à la fréquence de mesure désirée et l'amplitude de déplacement de la cale doit être petite devant la longueur d'onde (ici, on a pris environ 5% de la longueur d'onde).

4. La différence des photocourants est traitée par une détection synchrone calée sur le signal de commande de la cale piézoélectrique.
5. On suit à l'oscilloscope la réponse de la détection synchrone (fig. 3.18). On observe des arches bruitées dont le maximum correspond aux quadratures $\pm \frac{\pi}{2}$. L'amplitude du maximum de l'arche est reportée pour le tracé de la fonction de transfert ainsi que la phase indiquée par la détection synchrone.
6. Cette mesure est à reproduire pour chaque point du diagramme de Bode en variant la fréquence.

Si la phase relative moyenne entre les deux bras de la détection homodyne fluctue fortement, les arches apparaissent très bruitées. Avec cette méthode, ça n'est pas un problème dans la mesure où le maximum correspond de toute façon à l'amplitude recherchée. En travaillant dans une salle calme après une heure de « préchauffage » du matériel, le bruit était très faible, la lecture en était donc plus simple.

Dans le cas présent, j'ai mesuré plus de 300 points. En plus de ce protocole, avant et après chaque mesure de FTBO pour une fréquence donnée, j'ai mesuré le taux de recouvrement des faisceaux car celui-ci variait fortement (voir partie 3.8.1). Les mesures présentées par la suite, sont donc des points corrigés pour un taux de recouvrement constant.

La phase est donnée modulo 180° . En effet, on a toujours une indétermination de modulo 360° avec une mesure sur détection synchrone. A ceci, s'ajoute dans notre cas, une indétermination de 180° car on ne sait pas si on se trouve sur la quadrature $\frac{\pi}{2}$ ou $-\frac{\pi}{2}$. La réponse peut donc être en phase ou en opposition de phase. Pour lever cette indétermination, on détermine qualitativement si, à fréquence nulle, la réponse doit être en phase ou en opposition de phase. Ensuite, pour assurer la continuité du diagramme de phase, on ajoute n fois 180° à chaque point. Ceci est assez délicat à haute fréquence où la phase varie fortement. Pour les fréquences supérieures à 20 kHz..... manque un morceau de phrase.... Les zones délicates sont étudiées en faisant varier continuellement la fréquence et en cherchant si un saut de phase (de 90° ou 180°) semble se produire.

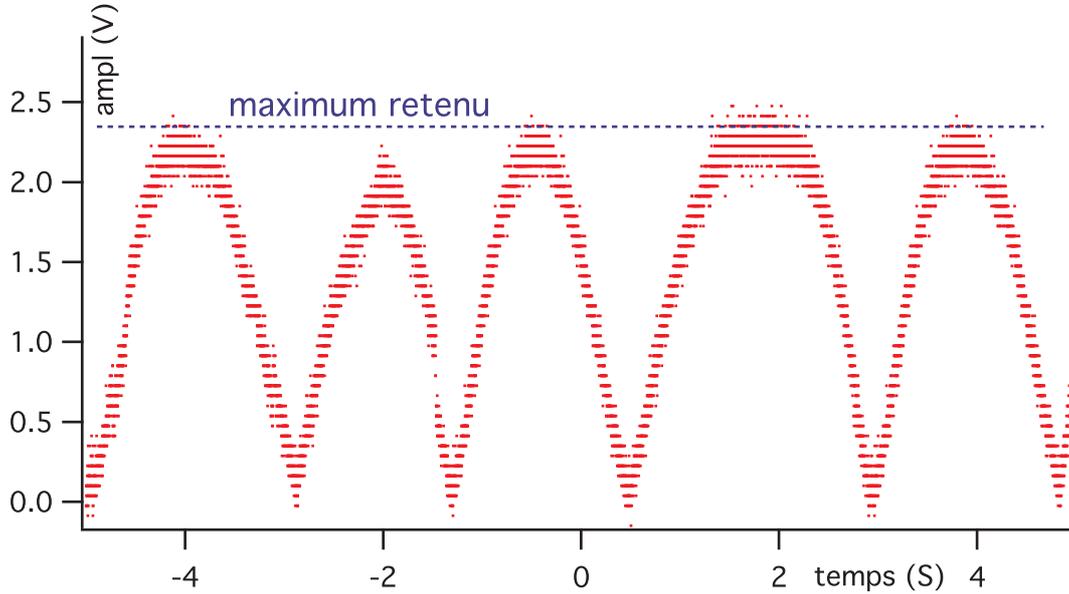


FIG. 3.18: Réponse de la détection synchrone lors de la mesure de l'amplitude de la réponse de la FTBO. On retient la tension maximale comme valeur pour les quadratures $\phi = \pm \frac{\pi}{2}$. Les arches sont de largeurs inégales car, au glissement commandé par le générateur de rampe, s'ajoute une dérive lente par effet thermique. Les fluctuations rapides viennent « épaissir les arches ». On remarque sur la deuxième arche un certain nombre de discontinuités qui sont caractéristiques d'un coup dans le marbre. La discrétisation vient du convertisseur analogique-numérique de sortie de la détection synchrone. Elle ne pose pas vraiment de problème : pour les faibles valeurs, il suffit d'augmenter la sensibilité.

Résultat et commentaires

La courbe a été tracée pour un gain à basse fréquence valant approximativement 1. Elle a été normalisée ainsi car elle est déterminée à un facteur près qui dépend de l'intensité optique dans les voies *signal* et *oscillateur local*. Ce dernier point est ajusté par l'utilisateur du microscope en fonction, essentiellement, de la robustesse des échantillons.

Malgré le bruit, le résultat est très satisfaisant. Les mesures sont parfaitement reproductibles, et à une exception près, vers 700 Hz, tous les phénomènes apparaissant peuvent être expliqués.

Le diagramme de Bode en phase et en gain de la FTBO est donné en fig 3.19. On retrouve l'allure globale d'un système passe-bas, ce qui était naturellement attendu : passée une certaine fréquence, les amplificateurs et la cale piézoélectrique coupent la réponse.

La courbe de gain s'ajuste bien avec une fonction passe-bas d'ordre 2 dont les valeurs sont données dans le tableau 3.3. Seules les variations de gain à partir de 30 kHz ne sont pas décrites par une fonction de cet ordre.

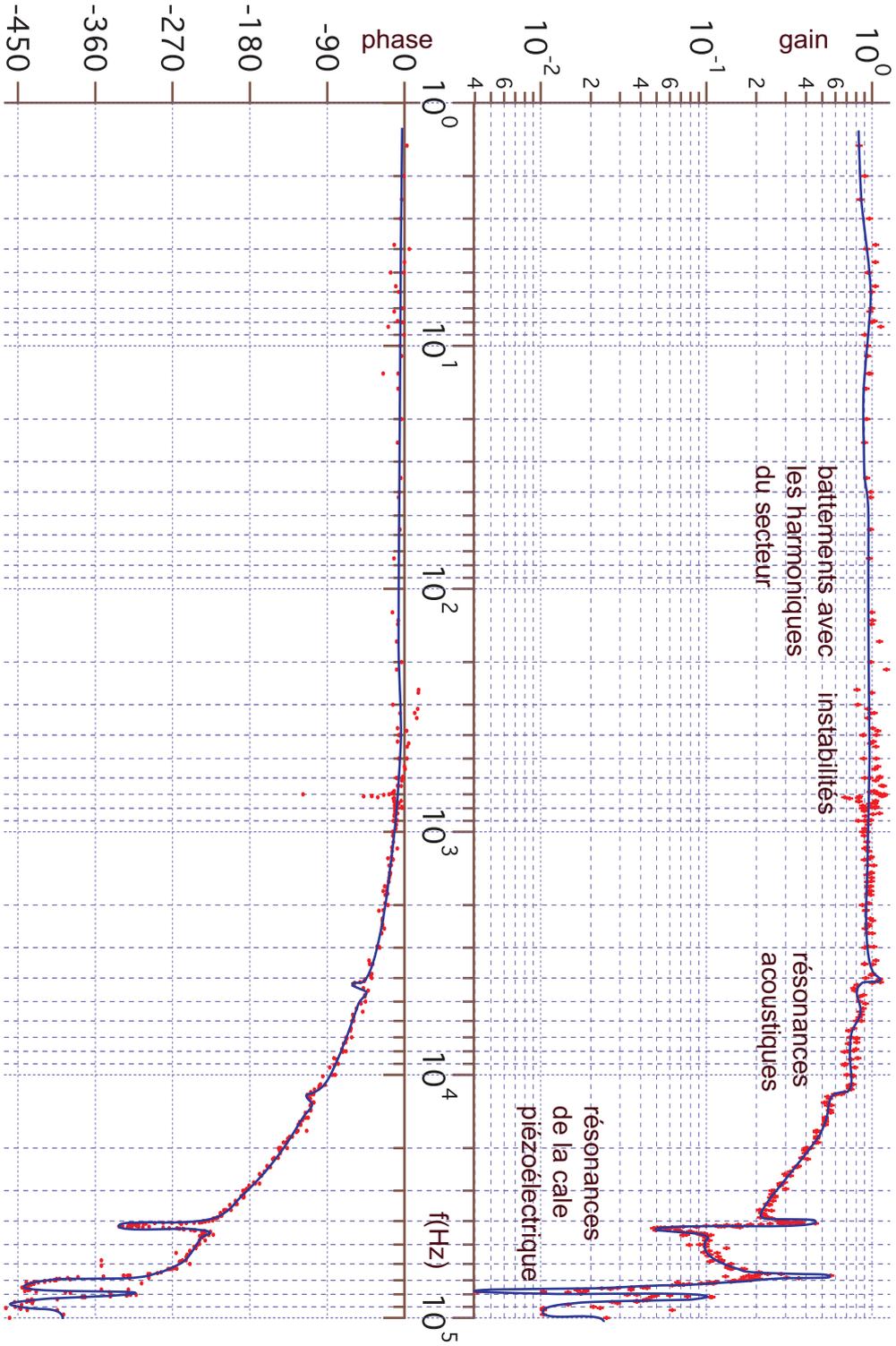


FIG. 3.19: Diagramme de Bode de la fonction de transfert en boucle ouverte du système d'asservissement du microscope électro-optique. La ligne continue est un ajustement aidant simplement à la lisibilité de la courbe. La méthode de prise de points et les commentaires sur les observations sont dans le texte.

grandeur	valeur d'ajustement	incertitude	unité
A	0,987	$\pm 0,007$	
Q	0,366	$\pm 0,022$	
ω_0	23590	± 1360	$rad.s^{-1}$

TAB. 3.3: Ajustement de la FTBO du microscope électro-optique par une fonction passe-bas d'ordre

2 de la forme $\underline{H}(\omega) = \frac{A}{1 + \frac{j}{Q} \frac{\omega}{\omega_0} - \frac{\omega^2}{\omega_0^2}}$

La phase s'ajuste par contre très mal avec ces valeurs. Pour ce faire, il faudrait prendre une fonction de transfert du 5^e. ordre au moins. Mais dans tous les cas de figure, un ajustement simultané de la phase et du gain sur la même fonction de transfert n'est pas possible en restant à des ordres suffisamment bas pour aboutir à un résultat pertinent et exploitable. Ceci vient essentiellement de la forme particulière de la fonction de transfert de l'amplificateur de la cale piézoélectrique.

A très basse fréquence, les mesures sont délicates car il faudrait que la détection synchrone intègre sur au moins une période de vibration de la cale piézoélectrique pour donner une valeur significative. Cependant, la fréquence devient si faible que des fluctuations de quadrature moyenne ne le permettent pas. Pour caractériser quand même la courbe à ces fréquences, j'ai utilisé le mode numérique de la détection synchrone qui permet de faire des acquisitions sur des portions de sinusoides. Les incertitudes restent toutefois assez grandes et sont de plus difficilement évaluables dans ce mode de fonctionnement.

De 35 à 360 Hz environ, les mesures sont régulièrement perturbées par les harmoniques du secteur. On observe des battements tels que ceux de la figure 3.20. Lorsque la cale piézoélectrique est excitée à une fréquence f_{PZ} , on remarque pour certaines gammes de fréquences des battements à une fréquence f_B . En assemblant les fréquences $f_{PZ} \pm f_B$, on obtient des séries de fréquences qui se regroupent autour des valeurs : $\{50,0 \pm 0,2; 100,1 \pm 0,2; 149,8 \pm 0,4; 199,9 \pm 0,2; 250,1 \pm 0,1\}$. Ces battements gênent les mesures sur des bandes de 12 Hz de large pour les harmoniques du secteur de 50 à 350 Hz. Lors de ces mesures la phase indiquée par la détection synchrone fluctue fortement et devient inexploitable. Une recherche systématique de l'origine de ces battements permet de montrer qu'il ne s'agit ni d'un artefact de la détection synchrone, ni d'un défaut de conception de l'amplificateur de la cale piézoélectrique. Le laser semble partiellement responsable de ces fluctuations. Une autre partie du bruit doit s'ajouter au niveau des préamplificateurs de photodiodes et des différentiateurs. On peut toutefois obtenir des points pour ces valeurs en moyennant un grand nombre de mesures.

Il faut par contre renoncer à une mesure précise de la phase⁴ dans ces domaines.

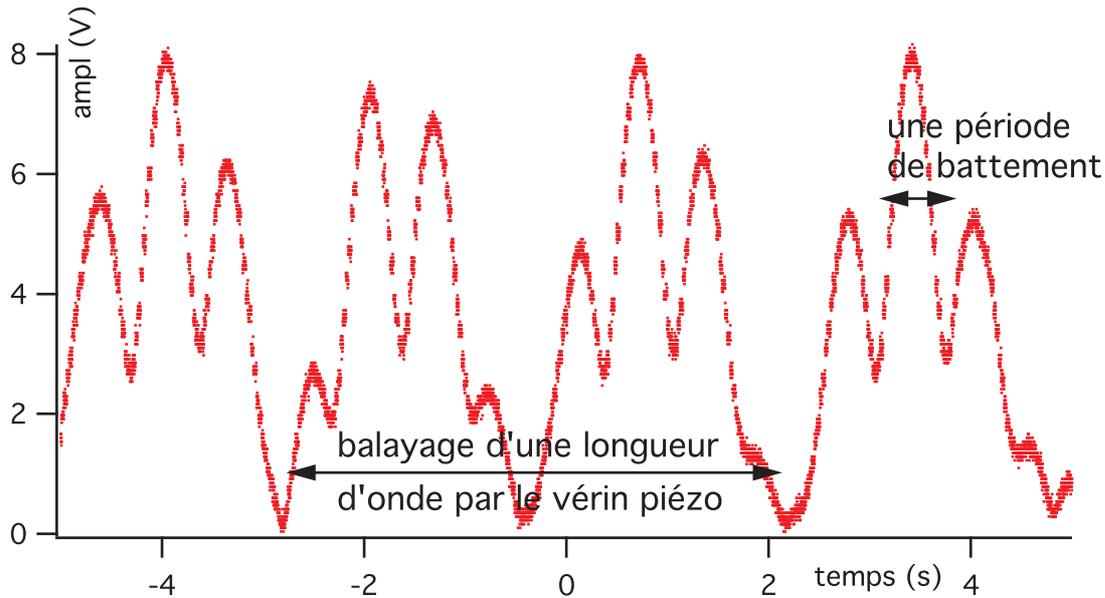


FIG. 3.20: Réponse (en amplitude) de la détection synchrone quand on s'approche trop des harmoniques du secteur. Ici, la cale est excitée à 151,5 Hz et les battements ont une fréquence de 1,7 Hz.

Des instabilités apparaissent autour de 700 Hz et modifient fortement la phase. Leur origine est encore inconnue. Il se pourrait qu'elles viennent du laser.

Une petite résonance apparaît vers 4 kHz. Un pointé précis la donne à 3850 Hz. Il s'agit d'une résonance acoustique (avec un noeud) dans la cavité formée par la cale piézoélectrique et la lame quart d'onde. La longueur d'onde correspondante est de 8,5 cm, ce qui correspond exactement à la distance entre la lame d'onde et la cale! On peut vérifier la nature de cette résonance en intercalant une lame de verre entre ces deux éléments : la résonance disparaît. On pourrait s'attendre à avoir une résonance à moitié de cette fréquence (mode sans noeud), mais elle n'a pas lieu, ou trop faiblement. Les résonances à environ 5,5 et 11,5 kHz sont d'autres modes de cette cavité qui disparaissent aussi lors de l'intercalation de la lame de verre.

⁴ Quand les salles d'expériences seront alimentées exclusivement en continu et que les blocs d'alimentation de l'instrumentation ne contiendront plus de transformateurs, ce genre de problème disparaîtra.

De 40 à 90 kHz, on assiste à une série de résonances et d'antirésonances dues à la cale piézoélectrique. Selon les données constructeur, elle doit résonner à vide à la fréquence de 144 kHz. Le miroir déplace cette résonance à $f_{\text{cale+miroir}} = \sqrt{\frac{m_{\text{cale}}}{3m_{\text{miroir}}+m_{\text{cale}}}} f_{\text{cale}}$. L'application numérique⁵ donne 118 kHz, c'est très au dessus de ce qu'on observe. On peut expliquer ce décalage, par la contribution de la plaque métallique de support de la cale, qui, n'étant pas parfaitement rigide et simplement maintenue sur son support par un ressort, ajoute une masse effective qu'il faut prendre en compte. Il manque une masse de 13 g pour déplacer la résonance à 60 kHz, ce qui correspond approximativement à la masse de la plaque sur laquelle est collée la cale piézoélectrique. Notons aussi, que l'impédance de l'amplificateur d'attaque de la cale piézoélectrique qui peut être différente de l'impédance de celui utilisé par le constructeur modifie cette résonance. Cependant, les modifications d'impédance d'attaque des cales piézoélectriques ont tendance à élargir les zones de résonance et d'antirésonance plutôt qu'à les déplacer.

Les variations de la courbe de phase sont beaucoup plus délicates à expliquer. Un fort comportement non linéaire, qui apparaît dans l'impossibilité d'ajuster la courbe avec des fonctions de transfert simples, ne permet pas d'expliquer, même qualitativement le comportement de la phase. On mentionnera simplement que le passage à $-\pi$ à lieu au delà de 25 kHz, ce qui permet d'asservir sans difficulté la phase relative entre les deux voies du microscope jusqu'à des fréquences de 20 kHz. Seule la singularité à 700 Hz sera susceptible de créer des instabilités dans l'asservissement.

Afin de vérifier que le comportement observé est fortement indépendant de l'amplificateur d'attaque de la cale piézoélectrique, j'ai enregistré la fonction de transfert de cet amplificateur *connecté à la cale*. Ce dernier point est particulièrement important, car, même si pour des raisons de sécurité, j'ai veillé à ce qu'il puisse fonctionner à vide, la forte capacité de la cale piézoélectrique (42 nF) influence sa réponse. L'amplificateur a été réalisé au LPQM autour d'un circuit *Apex PA98* que j'ai retenu parce qu'il assure une bonne linéarité de la réponse à des fréquences élevées pour des courants relativement importants. Il s'agit d'un composant qui se câble presque comme un amplificateur opérationnel.

La fonction de transfert est donnée en fig 3.21. Le régime linéaire de l'amplificateur est assuré jusqu'à 80 kHz. Au delà des harmoniques apparaissent, le diagramme de Bode n'est donc plus pertinent. On remarque à 70 kHz une antirésonance juste suivie d'une résonance dans le gain qui est liée à la forte modification d'impédance de la cale piézoélectrique, que l'on observe sous forme de résonance et d'antirésonance mécanique dans la FTBO du microscope. On vérifie l'origine de ce comportement en remplaçant la cale par un condensateur de même capacité ;

⁵ $\rho_{\text{PIC 151}} = 7,80$ et $\rho_{\text{BK7}} = 2,51$

dans ce cas, la résonance et l'antirésonance disparaissent.

La phase est quasi constante jusqu'à 80 kHz, ce qui était garanti par le constructeur de l'amplificateur opérationnel.

On voit donc que sur la zone d'intérêt, l'amplificateur de la cale piézoélectrique n'intervient pas significativement dans la FTBO précédemment mesurée.

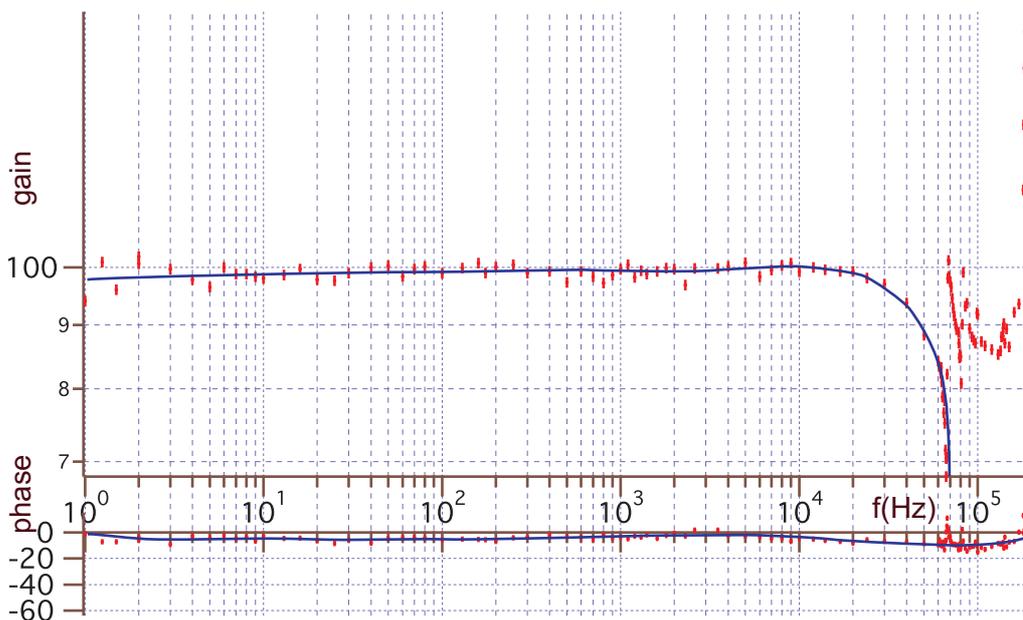


FIG. 3.21: Caractérisation de la fonction de transfert de l'amplificateur d'attaque de la cale piézoélectrique. La cale était montée lors de l'enregistrement pour avoir une réponse en conditions réelles.

La boucle de rétroaction qui sera refaite spécifiquement pour le microscope électro-optique sera certainement un passe bas avec des niveaux d'amplification adaptés. Une fréquence de coupure de 20 kHz, éventuellement variable, sera un bon compromis. Ceci nous permettra d'avoir une stabilité assurée sur la plage de fréquence la plus bruitée et d'éviter les singularités qui apparaissent au delà. Ces points seront précisés avec un ingénieur spécialisé dans la conception d'asservissements.

3.6.3 Synoptique de l'asservissement

Le schéma de principe de l'asservissement est donné en fig. 3.22.

Les tensions provenant des sorties basse fréquence sont préalablement amplifiées pour les amener aux niveaux de tension utilisés par les composants qui suivent. (Cette tension est

abusivement appelée *photocourant* pour des raisons de simplicité.) En réalité, il s'agit surtout d'isoler, en impédance, l'entrée du système. C'est une précaution qui limite les instabilités par oscillations.

On différencie ensuite les photocourants, ce qui nous donne une tension proportionnelle à $\arccos \phi$. Un asservissement à $\pm \frac{\pi}{2}$ demande une différence de photocourants nulle en valeur moyenne. Il peut être cependant utile dans certains cas d'asservir le déphasage relatif à d'autres valeurs (pour mesurer une éventuelle rotation de la polarisation dans l'échantillon ou pour tester la stabilité de l'asservissement). Dans ce cas, on compare la différence des photocourants à une valeur normalisée à la somme des photocourants. C'est le rôle du sommateur qui impose au potentiomètre de travailler entre les valeurs $-(A + B)$ et $A + B$, c'est à dire entre les différences des photocourants correspondant aux phases relatives 0 et π .

Le signal d'erreur qui en ressort indique le décalage entre la consigne et la mesure. Il est traité par un système d'amplification passe bas. C'est à cet amplificateur qu'il revient d'assurer la stabilité de la boucle d'asservissement. Dans le cas présent, on voit que la fonction de transfert en boucle ouverte nous permet de travailler avec une fréquence de coupure de 20 kHz. Il faudra se garder la possibilité de modifier cette valeur.

Le gain de l'asservissement doit être adapté manuellement. Le principe est relativement simple : une fois le système bien réglé, on augmente le gain. On voit la phase relative (donc le signal d'erreur tendre vers 0). Les perturbations sont de mieux en mieux compensées. Si on donne un coup sur le marbre, on voit que c'est la commande de la cale piézoélectrique qui la prend en charge et que la différence des photocourants est de moins en moins affectée. Vient alors un seuil au-delà duquel le système se met à osciller. On réduit alors légèrement le gain pour passer en dessous de ce seuil. On a le réglage optimal. Le système est correctement asservi : il est stable et la réponse à une fluctuation est la plus rapide possible avec cette boucle de retour.

Pour améliorer la qualité de l'asservissement, on peut remplacer cet amplificateur par un système plus élaboré du type PID, voire même non linéaire. Pour l'instant un filtre passe-bas suffit au microscope électro-optique.

L'erreur filtrée et amplifiée est envoyée, pour sa partie basse fréquence sur la table de translation piézo-électrique et la haute fréquence sur la cale. Le vérin ne travaille que jusqu'à 2 Hz. Au delà, c'est la cale qui prend le relais. Les amplificateurs sont ajustés de manière à ce que la réponse en déplacement à une tension ne dépende pas de l'élément de l'actuateur utilisé. La composante de fréquence inférieure à 2 Hz n'est pas envoyée sur la cale pour éviter qu'en compensant une partie des déplacements à basse fréquence (moitié si les amplificateurs ont été correctement équilibrés), elle n'aille en bout de course.

C'est d'ailleurs la table de translation qui va en bout de course si on active l'asservissement avant que le préchauffage ne soit terminé. Arrivé à cette position, le partage des composantes à asservir ne peut plus se faire et le système décroche intempestivement. Dans ce cas, il faut

mettre l'entrée des amplificateurs à la masse pendant quelques secondes pour que la table reprenne sa position centrale. En utilisation routinière, je mets l'entrée à la masse pendant une à deux secondes avant chaque mesure, de façon à éviter les petits désagréments qui pourraient s'en suivre.

On alimente quelques fois le vérin et la cale avec des tensions sinusoïdales ou triangulaires pour régler le microscope. Dans ce cas, les entrées sont reliées à des générateurs basses fréquences internes prévus à cet effet (non représentés sur la figure).

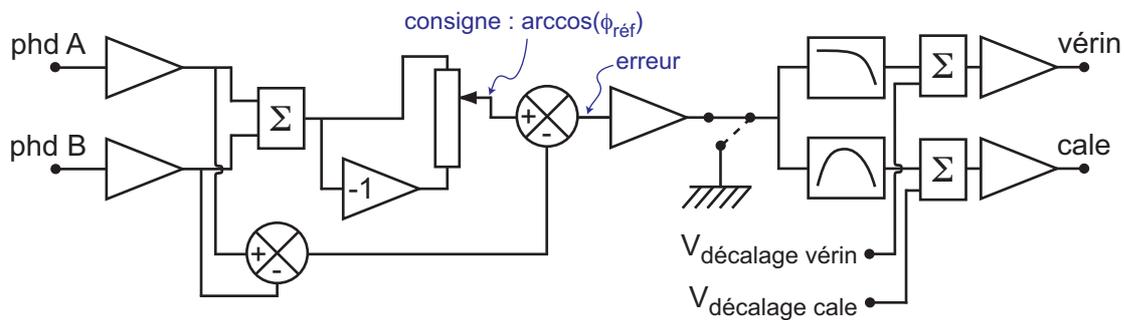


FIG. 3.22: Synoptique détaillé de l'asservissement du microscope électro-optique. La consigne peut être fixée à des valeurs différentes de 0 (donc à des phases différentes de $\pm \frac{\pi}{2}$) au moyen du potentiomètre dont les valeurs sont normalisées à la somme des photocourants (de $-(A+B)$ à $A+B$). Ce potentiomètre est dédoublé en une commande manuelle et une commande numérique (non représentée ici). Le signal d'erreur est amplifié puis séparé en deux composantes : 0 à 2 Hz pour le vérin piézoélectrique et 2 Hz à 20 kHz pour la cale. Ces signaux sont alors décalés pour permettre aux céramiques piézoélectriques de fonctionner symétriquement (décalage de 50 V pour le vérin dont la tension de commande peut varier de 0 à 100 V, et de 200 V pour la cale dont la commande va de 0 à 400 V). On peut bloquer temporairement l'asservissement pour revenir vers les positions milieux. Un filtre peut aussi être intercalé au niveau de l'interrupteur (connections non représentées).

La fig. 3.23 illustre le fonctionnement de l'asservissement. On voit sur cette capture d'écran de l'oscilloscope les tensions (monitoring) issues des photodiodes, le signal d'erreur (I_-) et une image ($/10$) de la composante alternative de la tension appliquée sur la cale piézo-électrique. Avant la coupure de l'asservissement, les photocourants sont égaux, ce qui indique que le système est équilibré. La tension appliquée sur la cale piézoélectrique varie, la différence des photocourants est faible. Le bruit sur cette différence correspond aux fluctuations à haute fréquence qui ne sont pas éliminées par l'asservissement.

On coupe l'asservissement (en plaçant l'entrée des amplificateurs des actuateurs piézoélectriques à la masse) à $t = -1,75$ s. On voit que les photocourants dérivent symétriquement. Le bruit aussi est symétrique, il ne peut simplement pas être résolu à cette vitesse de balayage de l'oscilloscope. La différence des photocourants est non nulle.

On rétablit ensuite l'asservissement à $t = 0,45$ s. En une seconde, les signaux sortant des photodiodes retrouvent leur position identique. La commande de la cale piézoélectrique fluctue, indiquant qu'on lui demande de compenser des variations de déphasage. La différence des photocourants tend vers 0, ne subsistent que les fluctuations hautes fréquences que l'asservissement ne doit pas éliminer. Le retour à l'équilibre s'effectue sur une petite seconde, ce qui correspond au passage de relais (non encore optimal), pour les variations lentes, de la cale à la translation.

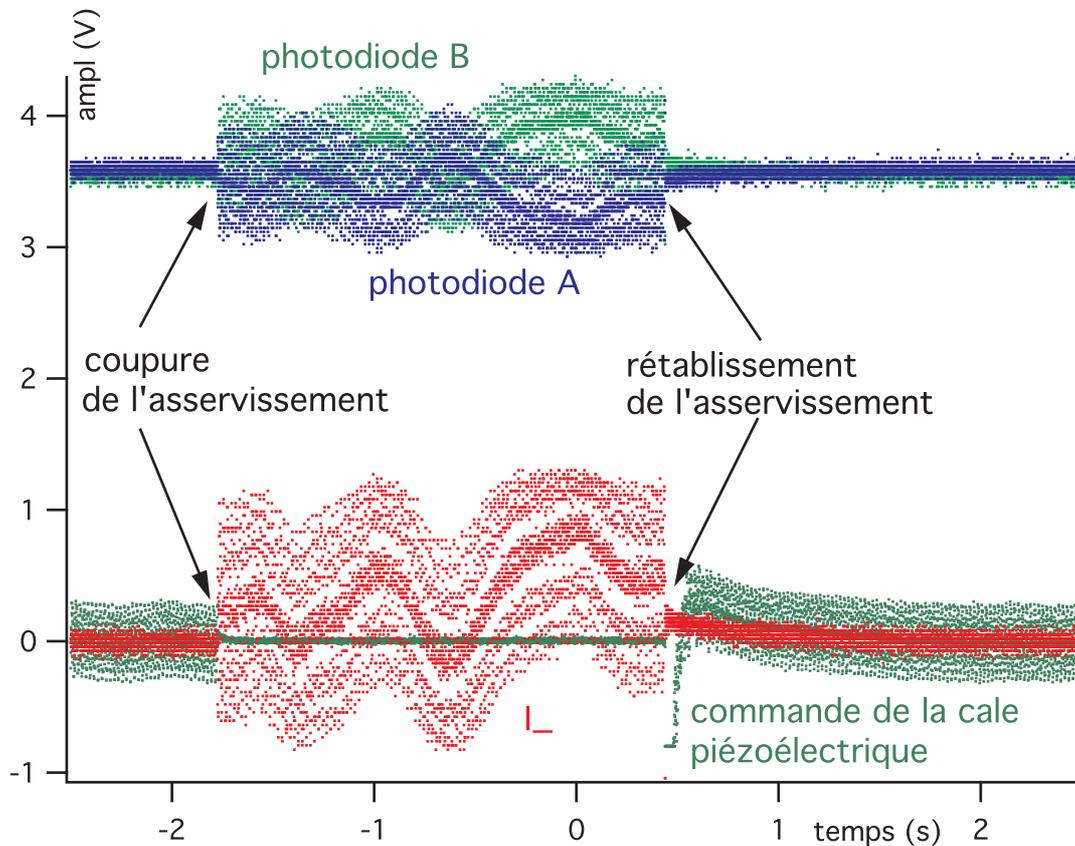


FIG. 3.23: Arrêt et remise en marche de l'asservissement. Le temps de réponse est très court : lorsque le microscope est bien équilibré, il est inférieur à 250 ms. Quand l'asservissement est en marche, les tensions de sortie des photodiodes sont identiques ; la différence des photocourants fluctue très légèrement autour de 0. A l'arrêt de l'asservissement, on voit une dérive lente, sur un temps caractéristique légèrement inférieur à la seconde, associée à un bruit à fréquence plus élevée, qui apparaît ici d'amplitude assez élevée car la dérive lente est très faible. Quand l'asservissement fonctionne, la commande de la cale piézoélectrique semble bruitée : c'est le signe qu'elle compense le bruit haute fréquence. Le lent retour vers une valeur moyenne nulle au rétablissement de l'asservissement correspond au « passage de relais » de la compensation des basses fréquences de la cale au vérin.

3.7 Le pilotage du microscope

Le pilote du microscope est programmé en *LabWindows*, interface de programmation en *C* est produite par *National Instruments*. A la différence de *Labview*, la programmation s'effectue en « lignes de codes » et le langage est compilé en standard (et non interprété). Bien que l'apprentissage soit plus long que pour *LabView* et nécessite une bonne maîtrise du *C*, il est beaucoup plus simple à utiliser pour les applications compliquées avec une gestion « par événements ». L'utilisation massive de routines fluidifie la programmation et la maintenance du programme. Les boucles de test, nombreuses dans le contrôle du fonctionnement du microscope sont beaucoup plus simples à programmer qu'avec un langage graphique.

Le fonctionnement du microscope électro-optique fait appel à divers protocoles de communications. Pour éviter tant que possible les conflits au sein de la bibliothèque de liens dynamiques (les fameuses DLL), j'ai regroupé toute la chaîne sur le protocole GPIB. Ce n'est pas forcément le plus performant pour toutes les applications et son usage est assez lourd, mais c'est le seul qui soit disponible pour (presque) tous les instruments.

Chaque fonction de base est contrôlée par une routine qui rend le protocole d'échange avec l'instrument transparent (par exemple : faire tourner un moteur pas-à-pas d'un angle donné, le faire atteindre la position 0, etc.). Certaines de ces fonctions sont composées dans d'autres routines pour donner des procédures plus élaborées (par exemple : demander au couple de moteurs d'amener le *signal* en polarisation horizontale, etc.). Il y a environ 150 routines de ce type. A partir de ces routines, quelques procédures d'enregistrement ont été programmées (par exemple : faire une carte de $n * m$ points selon chacune des polarisations, etc.). L'utilisation de fonctions plus ou moins évoluées mais simples d'emploi permet, une fois chaque instrument correctement interfacé, de programmer les procédures d'enregistrements presque comme s'il s'agissait de macros.

Un exemple d'interface utilisateur est donnée en fig. 3.24.

3.8 Acquisition des données

L'acquisition des données fait appel à presque toute la chaîne d'instrumentation. A part la vérification initiale du fonctionnement du microscope électro-optique, le système est presque totalement automatisé. Une fois l'échantillon placé sous le microscope, il suffit de régler les paramètres de mesure et la carte est disponible quelques secondes après.

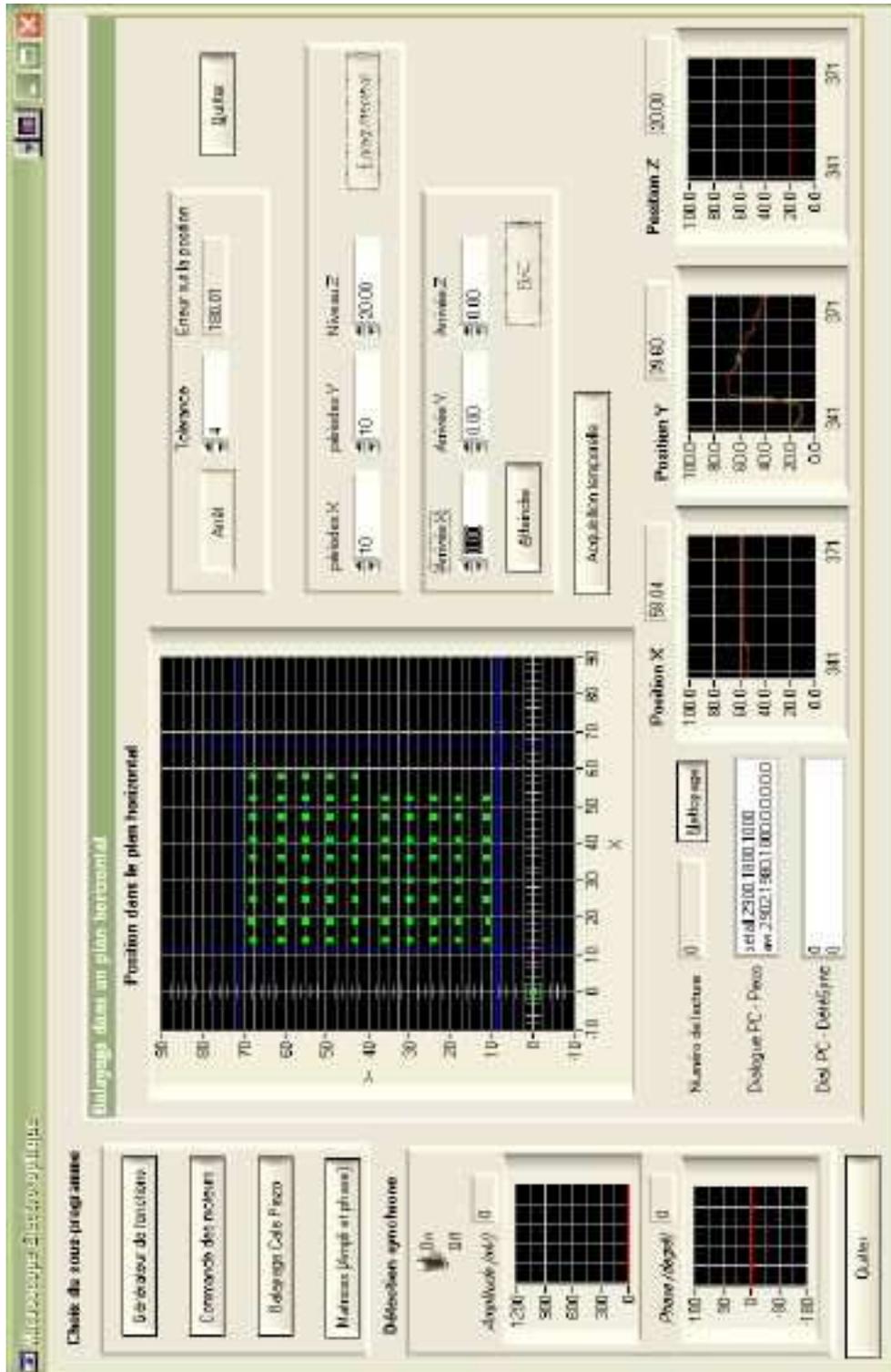


FIG. 3.24: Capture d'un écran du logiciel de pilotage du microscope électro-optique.

3.8.1 Mesure du taux de recouvrement des faisceaux

La mesure du taux de recouvrement ne fait pas partie à proprement parler de l'acquisition des données. C'est cependant une étape préalable qui permet de vérifier que le microscope fonctionne bien. On la place donc avant le principe d'une mesure qui va y faire appel.

La mesure du taux de recouvrement des faisceaux est assez simple. Voici une technique rapide.

On suit à l'oscilloscope les photocourants (fig. 3.25). Figurent aussi sur cette courbe la différence des photocourants ainsi que la commande d'asservissement.

Au préalable, on arrête l'asservissement. Pour assurer que la phase relative glisse (au cas, où, pour une fois, le microscope garderait une bonne stabilité), on peut poser la main près du cube séparateur 2 : par effet thermique, la différence de chemin optique va bouger d'une dizaine de micromètres sur une petite minute.

L'enregistrement des photodiodes donne la phase relative entre les deux voies, on voit le glissement de phase qui se traduit par les oscillations lentes, avec une période de l'ordre d'une seconde. A cela s'ajoutent des fluctuations plus faibles, mais beaucoup plus rapides dues essentiellement au bruit mécanique ; ce sont elles qui « élargissent » les courbes. Elles ne posent cependant pas de problème pour la mesure du taux de recouvrement.

Pour mesurer l'intensité dans chacune des voies, on cache le faisceau *signal* ($t \approx 0,1$ s) puis l'*oscillateur local* ($t \approx 1$ s).

Les mesures avec les curseurs de l'oscilloscope donnent ainsi I_{\max} , I_{\min} , I_{OL} et I_S . Il vaut mieux faire les mesures sur la même photodiode (ici, ce sont les valeurs de la photodiode B). Le taux de recouvrement est alors donné par :

$$\eta = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{4\sqrt{I_{OL}I_S}} \quad (3.1)$$

Dans le cas présent, l'application numérique donne $\eta = 73\%$. C'est le meilleur recouvrement obtenu, en général, on a plutôt un taux de l'ordre de 60%. L'erreur est de l'ordre de 1%.

3.8.2 Principe d'une mesure

La méthode de mesure (recette qui tient autant du principe de fonctionnement du microscope que de l'expérience...) retenue est la suivante :

1. On commence par préchauffer le microscope. Une heure peut suffire, trois sont idéales. Bien que le microscope soit monté sur un marbre, une pièce calme et assez silencieuse serait idéale.

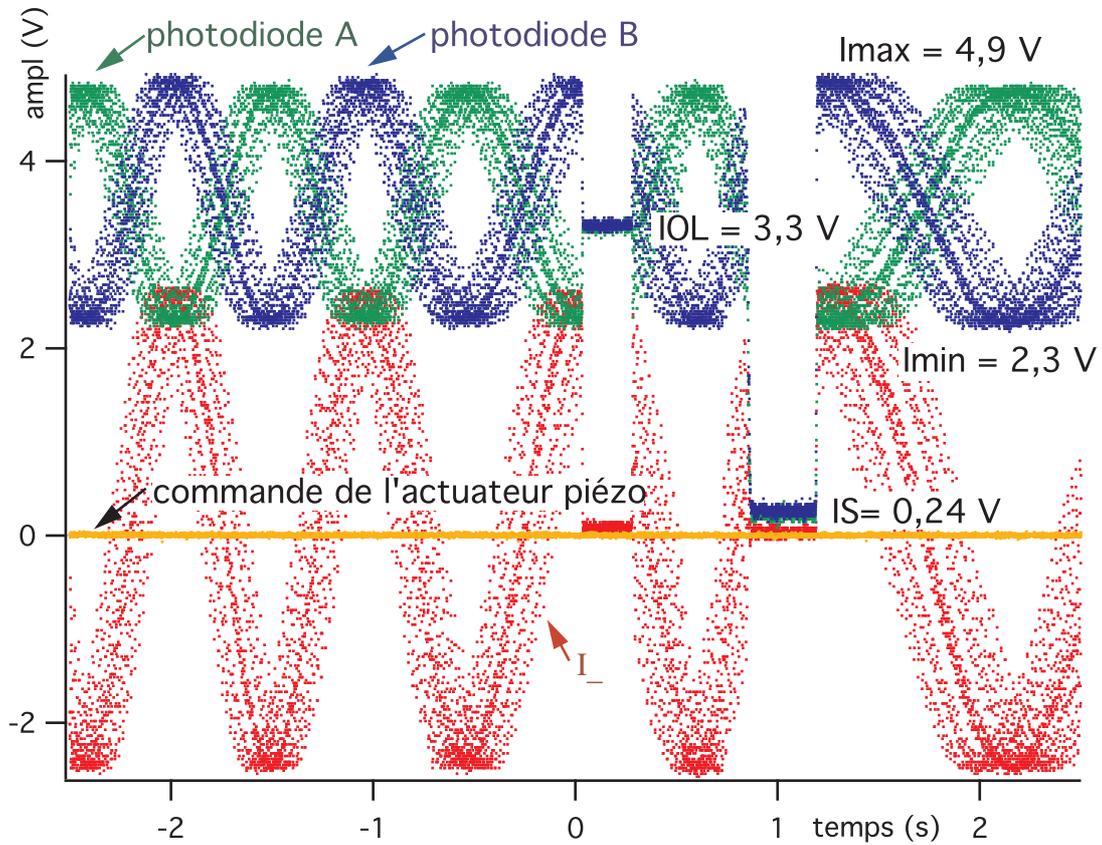


FIG. 3.25: Capture de l'écran de l'oscilloscope lors d'une mesure du taux de recouvrement. Dans ce cas, le taux de recouvrement vaut 73%. On voit une dérive thermique lente qui donne les oscillations dont la période est de l'ordre de la seconde, à laquelle s'ajoutent des fluctuations de fréquence plus élevée qui élargissent la quasi-sinusoïde.

2. Passé le préchauffage, on vérifie l'alignement des optiques (recouvrement des faisceaux à l'infini). En particulier, on règle la distance entre les objectifs de microscope si on change l'épaisseur de l'échantillon. On optimise la position du trou de confocalité.
3. On optimise le recouvrement des faisceaux. Pour cela, on applique une tension sinusoïdale sur la cale piézoélectrique pour lui faire balayer plus d'une longueur d'onde. On augmente l'amplitude des oscillations qui apparaissent sur I_- en translatant la lentille de sortie du dispositif confocal selon l'axe optique, et en réglant l'angle du miroir de renvoi du signal vers le prisme 2 (voir fig. 3.26).
4. On mesure le taux de recouvrement selon la méthode donnée en section 3.8.1. On doit parvenir à plus de 60%. Sinon, il faut réoptimiser le recouvrement des faisceaux. Si on ne parvient pas à cette valeur après plusieurs tentatives, c'est que tout le système est à

réaligner.

5. On commute l'asservissement. Il est généralement nécessaire d'attendre quelques minutes qu'il se stabilise (après avoir annulé plusieurs fois la tension de commande de l'actuateur piézoélectrique).
6. On place l'échantillon sur le plateau, on vérifie brièvement à l'oscilloscope qu'on a bien l'effet électro-optique là où on est susceptible de l'attendre. Si les étapes précédentes ont été longues, il faut parfois bouger l'échantillon qui a pu être blanchi en ce point (ou mieux : on a procédé à l'alignement avec un échantillon « boute-en-train⁶ »)
7. On optimise la sensibilité et le temps d'intégration de la détection synchrone (cette étape n'est pas encore automatisée).
8. On procède à l'enregistrement désiré au moyen du logiciel développé à cet effet.
9. On calibre les mesures en basculant la tension de lecture appliquée au composant à la cellule Pockels de référence. On a ainsi une référence connue de déphasage (cette étape n'est pas encore automatisée).
10. On passe aux enregistrements suivants et enfin... on dépouille !

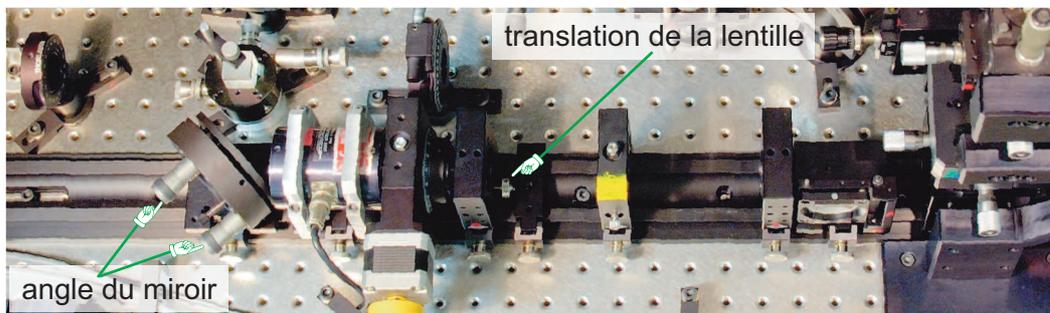


FIG. 3.26: Position des vis d'optimisation de la superposition des faisceaux signal et oscillateur local

La meilleure résolution obtenue en mode cartographie est 2.10^{-6} rad. En lecture en un point unique (avec la table piézoélectrique éteinte), elle est de 4.10^{-7} rad. Ces résultats ont été obtenus avec un temps d'intégration de 50 ms à une fréquence de 70 kHz. On est, dans ce cas, à moins de 8 dB du bruit quantique standard. Cette résolution est entendue comme une mesure de rapport signal à bruit valant 1.

⁶ Au sens propre, un « boute-en-train » n'est pas un clown de service ! C'est un terme technique, à la signification précise, qui s'étend très bien à ce cas. Je laisse le lecteur se renseigner à ce propos...

Chapitre 4

Structures de champs électriques dans des films polymères

Les premiers échantillons utilisés sur le microscope électro-optique sont des polymères rendu non linéaires quadratiques par orientation sous champ électrique. Ils permettent d'évaluer et de valider les caractéristiques du microscope sur des systèmes assez simples, bien étudiés et dont les résultats peuvent être comparés avec des mesures indépendantes de génération de seconde harmonique. On a mis en évidence dans ces composants des phénomènes qui n'avaient pas encore été observés à cette échelle et qui pourront être mis à profit pour mieux comprendre et optimiser le fonctionnement de certains composants ainsi que pour d'autres applications en optique non linéaire dans les polymères en général.

4.1 Description du composant

Le composant utilisé est représenté en fig. 4.1. Une lame de verre est recouverte d'une

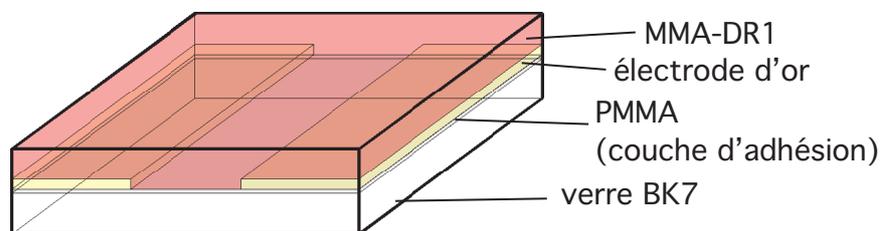


FIG. 4.1: Structure du composant étudié avec le microscope électro-optique.

couche de PMMA très mince (100 nm). Ce polymère, totalement neutre pour notre étude, est déposé pour assurer l'adhérence des couches suivantes. Des électrodes d'or d'environ 50 nm d'épaisseur et distantes de 10 μm permettent d'imposer un champ électrique dans la couche

de polymère greffé. Les électrodes ont une largeur de $50\ \mu\text{m}$ et une longueur de $1\ \text{cm}$. Elles sont organisées en quatre peignes interdigités deux à deux formant deux réseaux de cinq et dix « condensateurs » en parallèle. On dépose enfin un polymère greffé (MMA-DR1 70/30, synthétisé par la société SPECIFIC POLYMERS à Montpellier) dont la structure est donnée en fig. 4.2. La couche de polymère non linéaire mesure entre $0,5$ et $2\ \mu\text{m}$ d'épaisseur.

L'orientation initiale des chromophores dans le polymère est aléatoire. Pour rendre la struc-

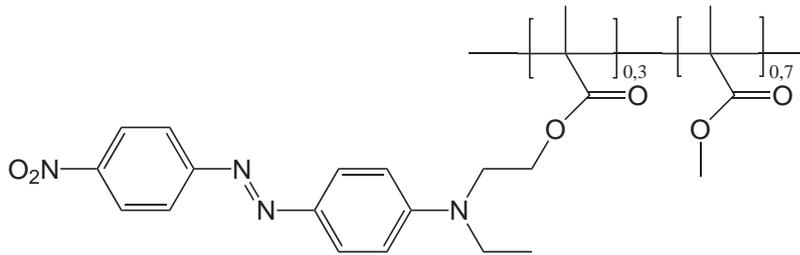


FIG. 4.2: Structure du polymère non linéaire quadratique de MMA-DR1 70/30.

ture non centrosymétrique, on oriente les chromophores avec un champ électrique tout en chauffant le polymère légèrement au dessus de sa température de transition vitreuse ($T_g \approx 120\ ^\circ\text{C}$) et en appliquant une tension d'environ $30\ \text{V}\cdot\mu\text{m}^{-1}$.

Les aspects théoriques et techniques sont décrits dans la partie qui suit.

4.2 Réalisation technique

La réalisation technique est adaptée des travaux développés en ref. [10] et [78].

L'échantillon est réalisé sur une lamelle de microscope (en verre BK7) de $170\ \mu\text{m}$ d'épaisseur. On peut choisir d'autres épaisseurs, celle-ci a été retenue dans un premier temps pour des raisons de disponibilité et de commodité lors de la réalisation des échantillons.

Préparation de la lamelle

On commence par nettoyer la lamelle à l'acétone, puis à l'éthanol et enfin à l'eau ultra-pure $18\ \text{M}\Omega$ en trois bains successifs de $10\ \text{min}$ chacun dans la cuve à ultrason. La lame est enfin séchée sous flux d'azote.

On dépose ensuite une couche de PMMA d'environ $300\ \text{nm}$ d'épaisseur pour assurer l'adhérence de l'or au substrat¹. On a essayé de remplacer le PMMA (qui n'assure pas des résultats

¹ Je ne donne pas les paramètres du dépôt par centrifugation car ils dépendent de la tournette et de la concentration de la solution utilisées. A chaque fois, on se référera aux données laissées par les utilisateurs

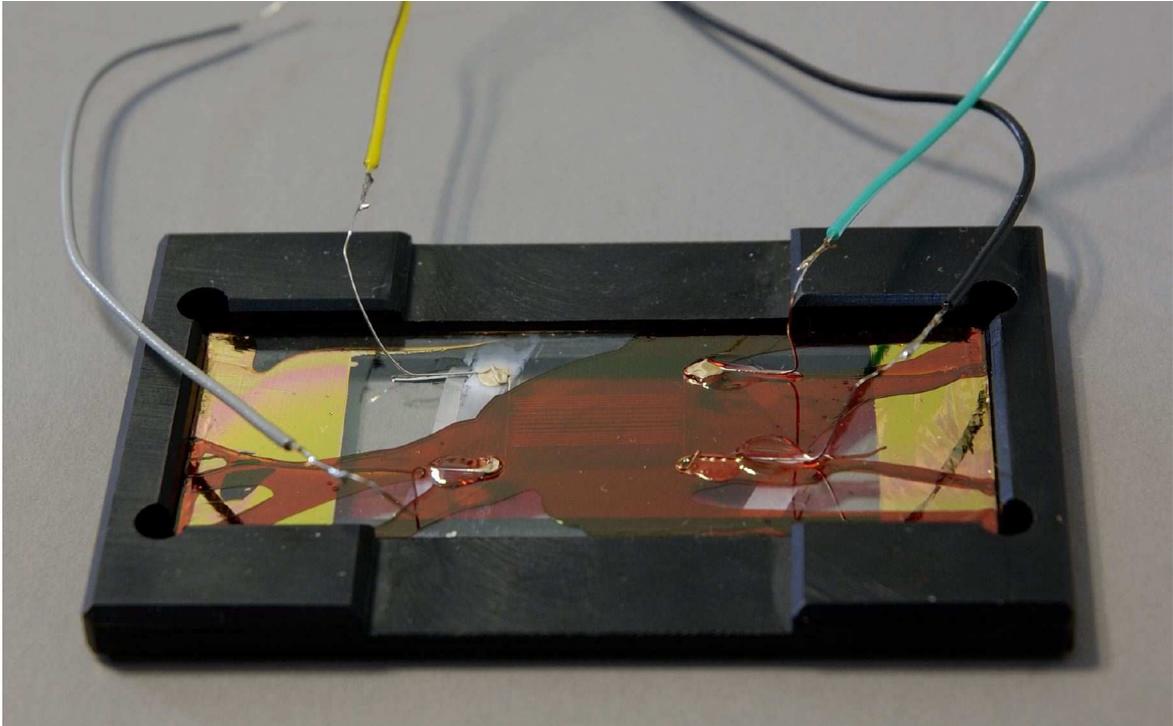


FIG. 4.3: Photographie d'un échantillon sur son support. On distingue au milieu les peignes d'électrodes interdigitées. Contrairement à ce que laisse penser la répartition du copolymère sur le verre, l'épaisseur de PMMA-DR1 est très uniforme sur le réseau d'électrodes. Il n'y a eu notamment aucune migration de polymère près des électrodes lors de l'orientation sous champ.

facilement reproductibles) par de la colle NOA. L'adhérence était meilleure, mais l'état de surface obtenu devenait incompatible avec les épaisseurs que nous souhaitions déposer par la suite avec une rugosité de plusieurs micromètres.

Le substrat est alors placé dans un bâti à pulvérisation où on le recouvre d'une couche d'or de 50 nm.

Etape de photolithographie

On utilise un masque de chrome déposé sur une plaque de verre dont on va transférer le motif à l'or déposé sur le substrat.

Préalablement, on dépose, sur l'or, par centrifugation, une couche de résine photosensible (Microposit S1813, Shipley UK). On la recuit ensuite pendant 3 min à 95 °C.

On insole alors la résine recouverte aux ultraviolets à travers le masque pendant 7 s au moyen

précédents que l'on ajustera au besoin.

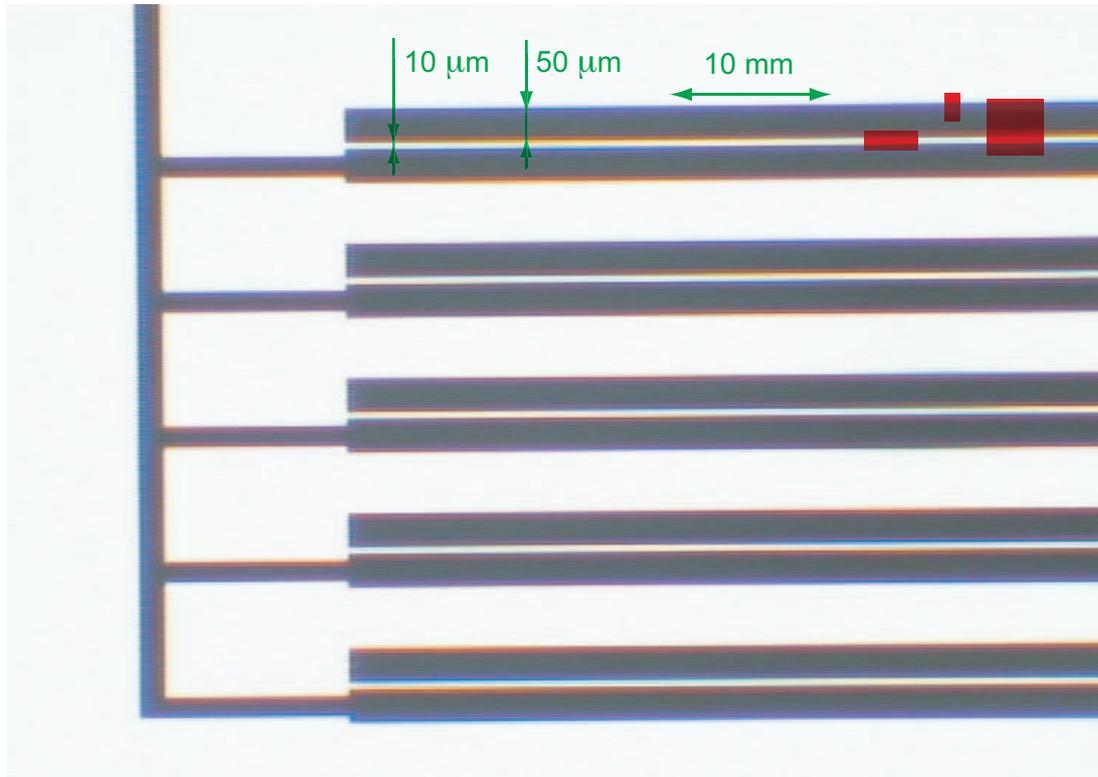


FIG. 4.4: Détail du masque ayant servi à la gravure par photolithographie des électrodes. L'ordre de grandeur de la taille des cartes réalisées avec le MEO est donné par les rectangles rouges.

d'un aligneur. Le motif du masque est reproduit sur la résine en plongeant l'échantillon dans un bain thermostaté de révélateur (Microposit 351) pendant une minute. L'échantillon est ensuite rincé à l'eau $18\text{ M}\Omega$ pour arrêter l'attaque de la résine par le révélateur. Au cours de cette étape, la résine qui a été insolée est éliminée par le révélateur, laissant l'or à nu là où on souhaite l'enlever.

On attaque l'or qui n'est plus protégé par une solution d'iode dans l'iodure de potassium pendant 30 s, on rince à l'eau $18\text{ M}\Omega$. On a alors reproduit la figure du masque en un réseau d'or.

On enlève la résine restée sur l'or qui n'a pas été attaqué. On illumine tout l'échantillon aux ultraviolets, sans masque cette fois-ci, puis on le trempe dans le bain révélateur. L'échantillon est enfin rincé à l'eau ultra-pure puis séché sous flux d'azote.

Dépôt du PMMA-DR1

On colle les fils qui assurent les contacts électriques à la laque d'argent avant qu'ils ne soient recouverts de PMMA. Notons qu'on ne peut pas retirer le PMMA qui se serait déposé sur les

contacts sans altérer la couche d'accrochage de l'or. Il faut donc procéder à cette étape dès maintenant.

On dépose alors le copolymère de PMMA-DR1 par centrifugation. Les paramètres sont adaptés en fonction de l'épaisseur désirée et de la concentration de la solution (dans l'anisole, généralement vers 11% en masse). Le PMMA est ensuite séché à l'étuve.

Finition

On procède à la finition de l'échantillon. Les fils qui assurent les contacts sont collés au substrat à la colle NOA. La laque d'argent n'assure pas une résistance mécanique suffisante au regard des contraintes que subira l'échantillon. Le séchage de la NOA est très lent, mais cette colle présente l'avantage de ne pas se contracter au séchage, ce qui déformerait le substrat. Des fils longs gainés sont ensuite soudés aux petits fils déjà présents. On prendra soin de protéger l'échantillon pour éviter les projections de résine chaude présente dans l'âme de la brasure d'étain.

On vérifie à cette étape que les électrodes sont bien isolées les unes des autres. En pratique, on doit avoir une résistance entre systèmes d'électrodes supérieure à 1 M Ω .

Orientation sous champ électrique

L'échantillon est placé sur une plaque chauffante. Il est amené à la température de transition vitreuse du copolymère PMMA-DR1 (ici 129 ° C pour le 70/30). On applique une différence de potentiel de 300 V (soit un champ de 30 V. μm^{-1}) sur le réseau d'électrodes qu'on souhaite orienter. Le claquage est attendu vers 600 V : une tension intermédiaire de 300 V assure un bon compromis entre le risque de destruction de l'échantillon et la qualité de l'orientation (en fait, le masque utilisé pour cet échantillon a tellement servi que la qualité du système d'électrodes laisse sérieusement craindre un claquage à partir de 400 V). Au bout de 15 min, on laisse refroidir l'échantillon. On coupe le champ électrique une fois la température ambiante atteinte (en pratique 40 ° C).

On vérifie en microscopie de génération de seconde harmonique qu'on a bien créé un ordre non centrosymétrique pour les chromophores.

L'échantillon est alors prêt : un exemple est présenté en fig.4.3. Cet échantillon, dont le PMMA-DR1 semble mal étalé, a fait preuve d'une robustesse impressionnante : 10 mois après sa fabrication, les mesures restaient parfaitement reproductibles et la couche de copolymère est très uniforme sur le réseau d'électrodes. Les autres échantillons, même s'ils présentaient un meilleur aspect, ont été écartés dès la fabrication. Ils présentaient des défauts de qualité des électrodes, ou avaient « claqué » à l'orientation sous champ électrique (ce qui est en général

le signe d'un défaut sur les électrodes qui n'a pas été vu au microscope).

4.3 Calcul du tenseur électro-optique dans un polymère dopé orienté sous champ électrique

4.3.1 Expression du tenseur de $\chi^{(2)}$ avec le modèle du gaz orienté

Dans les matériaux organiques, un ordre non centrosymétrique peut s'obtenir par ingénierie cristalline, en matrice polymère avec une orientation (par méthode électrostatique ou optique) ou encore en travaillant avec des couches monomoléculaires. Le cas des polymères orientés sous champ électrique a été le plus exploité pour la réalisation de composants opto-électroniques.

On réalise les films polymères par dépôt à la tournette. Le polymère est dopé ou greffé avec des chromophores non linéaires. Ces derniers sont orientés sous champ électrique tout en chauffant le polymère juste au dessus de sa température de transition vitreuse. Après refroidissement, les chromophores restent figés selon une orientation moyenne non centrosymétrique dirigée selon le champ électrique d'orientation. La statistique de cette orientation est donnée, selon le modèle du gaz orienté, par la loi de Boltzmann [67].

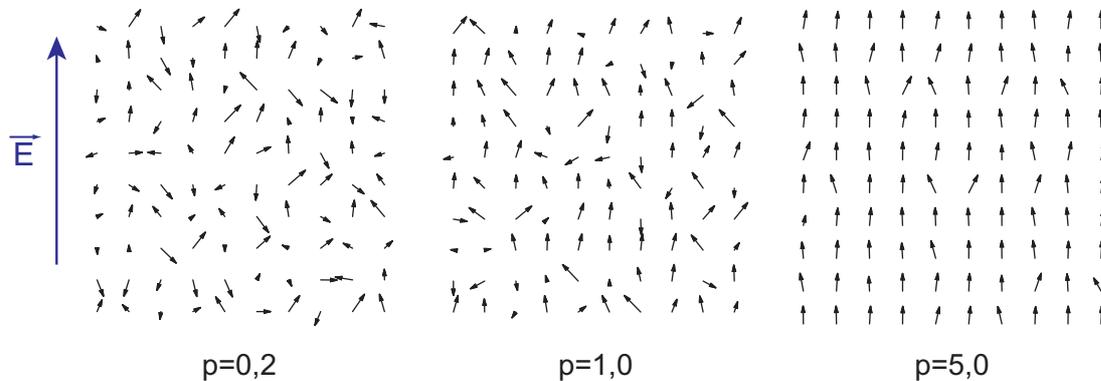


FIG. 4.5: Simulation de l'orientation de dipôles moléculaires en matrice. Ils sont orientés par un champ électrique et désorientés par effet thermique. Les dipôles ont des longueurs différentes car on ne représente que leur projection dans un plan contenant le champ électrique. Le modèle du gaz orienté prévoit une statistique de Boltzmann avec un paramètre d'ordre $p = \frac{\mu E}{kT}$. Un champ électrique très élevé ($p \approx 5$) donne une orientation très forte. En réalité, à cause du claquage, on ne peut atteindre de telles valeurs. Dans notre cas, on a $p \approx 0,2$: l'orientation des chromophore est à peine visible sur la figure.

Pour les échantillons considérés, on a utilisé des molécules linéaires (dipôle de transition dirigé suivant l'axe Z) pour lesquelles seul β_{ZZZ} est non nul. La somme sur (i, j, k) se restreint

donc à la seule composante ZZZ . En utilisant le système de coordonnées sphériques donné en fig 4.6, explicitons la probabilité d'orientation de dipôles, de moment $\vec{\mu}$ selon Z , orientés par un champ électrique \vec{E} de direction z . Elle est donnée par la statistique de Boltzmann² [41,81] suivant l'énergie $\mathcal{E}(\vec{\Omega}) = -\vec{\mu} \cdot \vec{E}$:

$$P(\vec{\Omega}) = \frac{e^{-\frac{\mathcal{E}(\vec{\Omega})}{kT}}}{\iint e^{-\frac{\mathcal{E}(\vec{\Omega})}{kT}} d\vec{\Omega}} = \frac{e^{\frac{\mu E \cos \theta}{kT}}}{\iint_{\theta, \varphi} e^{\frac{\mu E \cos \theta}{kT}} \sin \theta d\theta d\varphi} = \frac{e^{\frac{\mu E \cos \theta}{kT}}}{2\pi \int_{\pi}^0 e^{\frac{\mu E \cos \theta}{kT}} d(\cos \theta)} \quad (4.1)$$

On note $p = \frac{\mu E}{kT}$. Pour des chromophores de moments dipolaires de quelques Debyes, orientés

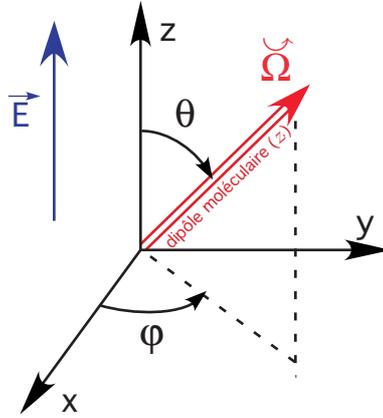


FIG. 4.6: Définition des coordonnées liées au dipôle moléculaire.

à 129°C environ, sous un champ électrique valant quelques dizaines de volts par micromètre, on a $p \approx 0,2$. Cette valeur et les approximations du modèle du gaz orienté nous permettront de travailler avec des développements limités d'ordre 1.

On a donc, avec cette notation :

$$P(\vec{\Omega}) = \frac{e^{p \cos \theta}}{2\pi \int_{\pi}^0 e^{p \cos \theta} d(\cos \theta)} \quad (4.2)$$

Cette statistique pour le paramètre $p = 0,2$ est représentée en fig. 4.7. La probabilité d'orientation n'y est pas représentée sur un système de coordonnées polaires. Avec ce système de coordonnées, la figure dépendrait du choix *arbitraire* de la direction $\theta = 0$. De plus, on aurait, pour l'axe $\theta = 0$ choisi dans la direction du champ d'orientation, une figure à deux lobes, qui

² L'intégrant est ici l'angle solide, ce qui correspond à l'« état physique ». Dans ce cas, avec uniquement les deux premiers angles d'Euler, il revient au même d'intégrer sur l'angle solide $\vec{\Omega}$ ou sur l'énergie associée à cet angle solide. Cela n'est plus vrai lorsqu'on doit travailler avec les trois angles d'Euler. Il faut alors bien prendre garde à intégrer sur les angles et non sur les énergies, conformément aux résultats obtenus sur l'ensemble canonique [79,80].

s'annulerait pour $\theta = 0$, c'est-à-dire pour l'angle solide où la probabilité d'orientation $P(\vec{\Omega})$ est la plus forte. Malheureusement, une représentation tridimensionnelle n'est pas facilement lisible pour de faibles valeurs du paramètre p (partie droite de la fig. 4.7). On présente donc une « coupe » de la représentation tridimensionnelle selon un plan contenant le champ électrique d'orientation, ce qui a l'avantage d'être très visuel et de ne pas dépendre des coordonnées choisies. Par contre, cette représentation n'a pas de signification mathématique rigoureuse, et on perd la normalisation.

On voit sur cette figure que le paramètre $p = 0,2$ est petit, l'orientation des chromophores

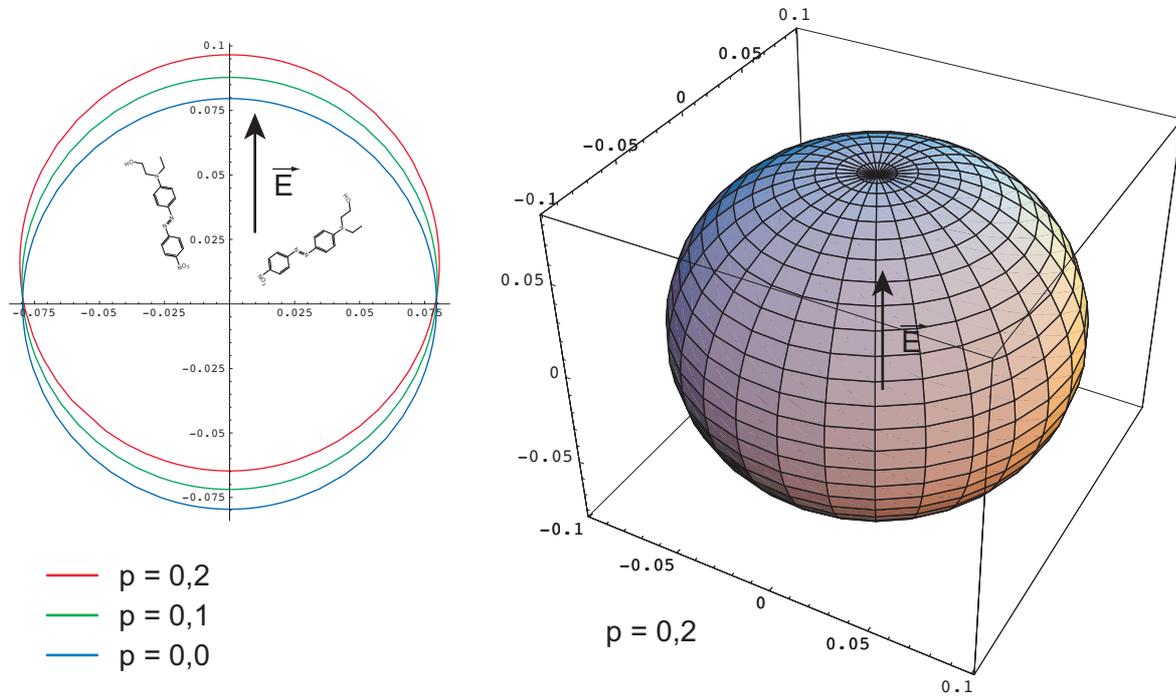


FIG. 4.7: Probabilité d'orientation d'un chromophore orienté par un champ électrique. La figure de gauche donne la probabilité d'orientation en coordonnées sphériques selon un plan contenant le champ électrique d'orientation, c'est une coupe de la figure de droite. La représentation tridimensionnelle n'est pas lisible pour de faibles valeurs de p . On ne choisit pas des coordonnées polaires, car la figure dépendrait alors de l'origine de l'angle. Bien que plus « physique » et plus lisible, la représentation choisie n'est pas normalisée à 1 dans une représentation plane.

étant faiblement modifiée : la composante « polée » reste faible face à la partie amorphe.

L'expression générale de $\chi^{(2)}$ 2.18 et la statistique de répartition explicite 4.2 donne :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\int_0^{2\pi} \int_0^\pi e^{p \cos \theta} (i, Z) \cdot (j, Z) \cdot (k, Z) d(\cos \theta) d\varphi}{2\pi \int_\pi^0 e^{p \cos \theta} d(\cos \theta)} \quad (4.3)$$

Etant donnée la symétrie cylindrique (d'axe z) de la distribution moléculaire, $\chi_{xxz}^{(2)}$, $\chi_{yyz}^{(2)}$, $\chi_{zzz}^{(2)}$,

$\chi_{yzy}^{(2)}$ ainsi que $\chi_{xzx}^{(2)}$ sont non nuls. Tous les autres termes sont nuls.

On a alors :

$$\chi_{zzz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\int_0^{2\pi} \int_0^\pi e^{p \cos \theta} \cos^3 \theta \sin \theta \, d\theta \, d\varphi}{2\pi \int_\pi^0 e^{p \cos \theta} d(\cos \theta)} \quad (4.4)$$

qui devient, via un changement de variable $x = \cos \theta$:

$$\chi_{zzz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\int_{-1}^1 x^3 e^{p x} \, dx}{\int_{-1}^1 e^{p x} \, dx} \quad (4.5)$$

qui vaut explicitement et au premier ordre en p :

$$\chi_{zzz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \left(\frac{p(6 + p^2) \text{Coth}(p) - 3(2 + p^2)}{p^3} \right) \quad (4.6)$$

$$\approx \frac{p}{5} N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \quad (4.7)$$

Et pour les autres composantes qui sont identiques ($\chi_{xxz}^{(2)} = \chi_{yyz}^{(2)} = \chi_{yzy}^{(2)} = \chi_{xzx}^{(2)}$) :

$$\chi_{xxz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\int_0^{2\pi} \int_0^\pi e^{p \cos \theta} (\cos \varphi \sin \theta)^2 \cos \theta \sin \theta \, d\theta \, d\varphi}{2\pi \int_\pi^0 e^{p \cos \theta} d(\cos \theta)} \quad (4.8)$$

qui devient, avec le changement de variable $x = \cos \theta$:

$$\chi_{xxz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{1}{2} \frac{\int_{-1}^1 (x - x^3) e^{p x} \, dx}{\int_{-1}^1 e^{p x} \, dx} \quad (4.9)$$

qui vaut explicitement et au premier ordre en p :

$$\chi_{xxz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \left(\frac{3 + p^2 - 3p \text{Coth}(p)}{p^3} \right) \quad (4.10)$$

$$\approx \frac{p}{15} N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \quad (4.11)$$

Le modèle du gaz orienté que nous avons utilisé ici, donne, pour des chromophores « batonnets » la relation suivante :

$$\frac{\chi_{xxz}^{(2)}}{\chi_{zzz}^{(2)}} = \frac{(3 + 2p^2 - 3p \text{Coth}(p)) \text{Sinh}(p)}{p(6 + p^2) \text{Cosh}(p) - 3(2 + p^2) \text{Sinh}(p)} \approx \frac{1}{3} - \frac{p^2}{63} \quad (4.12)$$

4.3.2 Relation entre $\chi_{ijk}^{(2)}$ et r_{ij}

On a la relation suivante entre le tenseur de perméabilité diélectrique et les polarisations non linéaires :

$$\varepsilon_{ij} = \delta_{ij} + \chi_{ij}^{(1)} + \sum_k \chi_{ijk}^{(2)} \cdot E_k + \dots \quad (4.13)$$

D'autre part, les coefficients diélectriques sont définis par la relation valable au premier ordre en champ électrique, en utilisant les indices *étendus* pour le tenseur r :

$$\Delta (\varepsilon_{ij})^{-1} = r_{ijk} \cdot E_k \quad (4.14)$$

On relie les deux expressions précédentes en utilisant le résultat suivant :

$$\Delta \varepsilon_{ij} = -\varepsilon_{ii} \Delta (\varepsilon_{ij})^{-1} \varepsilon_{jj} \quad (4.15)$$

ce qui nous amène, en n'oubliant pas que l'effet électro-optique est la somme des deux « fréquences complexes » $j\Omega$ et $-j\Omega$, à :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) + \chi_{ijk}^{(2)}(\omega - \Omega; \omega, -\Omega) = -\varepsilon_{ii} r_{ijk}(\omega) \varepsilon_{jj} \quad (4.16)$$

Comme on a $\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = \chi_{ijk}^{(2)}(\omega - \Omega; \omega, -\Omega)$ et que $\varepsilon_{ii} = n_{ii}^2$:

$$r_{ijk}(\omega) = -\frac{2\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega, \omega, \Omega)}{n_{ii}^2 n_{jj}^2} \quad (4.17)$$

On en déduit donc pour le film mince avec le modèle considéré :

$$r_{zzz} = -\frac{2pN f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{5n_3^4} \quad (4.18)$$

$$r_{xxz} = r_{yyz} = r_{yzy} = r_{zxx} = \frac{r_{zzz}}{3} \quad (4.19)$$

Ceci nous amène au tenseur électro-optique suivant :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & \frac{r_{33}}{3} \\ 0 & 0 & \frac{r_{33}}{3} \\ 0 & 0 & r_{33} \\ 0 & \frac{r_{33}}{3} & 0 \\ \frac{r_{33}}{3} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (4.20)$$

4.4 Calcul du champ électrique théorique dans le composant

4.4.1 Calcul analytique

Pour calculer le champ électrique attendu dans le composant, on utilise le modèle donné en fig. 4.8. On a deux plaques infiniment minces chargées $\pm\sigma$ de largeur L et distantes de A . Le condensateur est infini suivant l'axe z . La permittivité relative du milieu est ε_r .

Commençons par calculer le champ créé par une des plaques, chargée $+\sigma$ avec les notations données en fig. 4.9. Pour cela, on intègre sur la largeur de la plaque le champ électrique créé

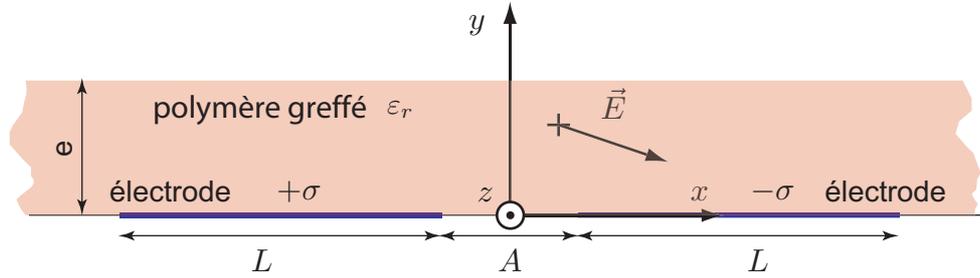


FIG. 4.8: Modèle simplifié de composant utilisé pour le calcul des champs électriques. Il est tout à fait raisonnable de considérer les électrodes d'or d'épaisseur nulle : elles ont une épaisseur de 50 nm à comparer à une largeur de 50 μm et une épaisseur de polymère de 0,8 μm pour le composant que nous utilisons.

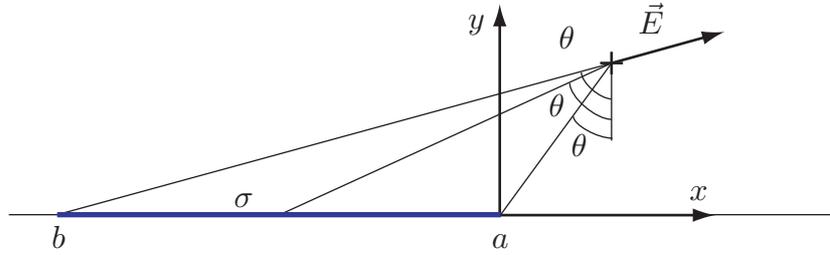


FIG. 4.9: Notations pour le calcul du champ électrique créé par une nappe uniformément chargée.

par un fil infini de charge linéique λ , qui vaut, dans un système évident de coordonnées cylindriques :

$$\vec{E} = \frac{\lambda}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r r} \vec{e}_r \quad (4.21)$$

Ceci nous donne pour la composante E_x du champ :

$$E_x = \int_a^b dE_x = \int_a^b \frac{-\sigma y d\theta \cos \theta \sin \theta}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r y \cos^2 \theta} \quad (4.22)$$

$$= -\frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \int_a^b \tan \theta d\theta \quad (4.23)$$

Ce qui donne :

$$E_x = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \ln \left(\frac{\cos \theta_a}{\cos \theta_b} \right) \quad (4.24)$$

Et pour la composante E_y du champ électrique :

$$E_y = \int_a^b dE_y = \int_a^b \frac{-\sigma y d\theta \cos^2 \theta}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r y \cos^2 \theta} \quad (4.25)$$

$$= -\frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \int_a^b d\theta \quad (4.26)$$

On obtient donc finalement :

$$E_y = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} (\theta_a - \theta_b) \quad (4.27)$$

Notons que ces calculs sont valables à la fois pour les champs d'orientation (ou de « poling ») et pour les champs statiques modulés à Ω nécessaires à l'observation de l'effet Pockels (aux corrections de champ local près, différentes pour un champ statique et dynamique).

Reprenons le modèle choisi avec les notations données en fig. 4.10. Les champs calculés

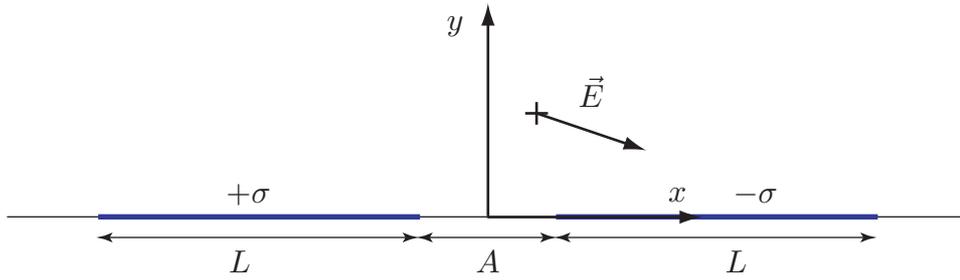


FIG. 4.10: Notations pour le calcul du champ électrique créé par le composant modélisé.

précédemment, pour chacune des plaques + et - s'écrivent alors comme suit :

$$E_{x+} = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \ln \left(\frac{\sqrt{(x + \frac{A}{2} + L)^2 + y^2}}{\sqrt{(x + \frac{A}{2})^2 + y^2}} \right) \quad (4.28)$$

$$E_{x-} = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \ln \left(\frac{\sqrt{(\frac{A}{2} - x + L)^2 + y^2}}{\sqrt{(\frac{A}{2} - x)^2 + y^2}} \right) \quad (4.29)$$

$$E_{y+} = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \left[\arctan \left(\frac{x + \frac{A}{2} + L}{y} \right) - \arctan \left(\frac{x + \frac{A}{2}}{y} \right) \right] \quad (4.30)$$

$$E_{y-} = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \left[\arctan \left(\frac{\frac{A}{2} - x}{y} \right) - \arctan \left(\frac{\frac{A}{2} - x + L}{y} \right) \right] \quad (4.31)$$

D'où la structure du champ électrique dans l'échantillon :

$$E_x = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \frac{1}{2} \ln \left(\frac{[(x + \frac{A}{2} + L)^2 + y^2] [(\frac{A}{2} - x + L)^2 + y^2]}{[(x + \frac{A}{2})^2 + y^2] [(\frac{A}{2} - x)^2 + y^2]} \right) \quad (4.32)$$

$$E_y = -\frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} \left[\arctan \left(\frac{2xy}{\frac{A^2}{4} + y^2 - x^2} \right) + \arctan \left(\frac{2xy}{(\frac{A}{2} + L)^2 + y^2 - x^2} \right) \right] \quad (4.33)$$

Les formes précédentes peuvent être réécrites différemment, mais cela n'améliore pas vraiment la lisibilité des expressions.

On peut en déduire la structure du champ en quelques points particuliers. Il vaut par exemple, au centre du composant :

$$E_x(0,0) = \frac{\sigma}{\pi\epsilon_0\epsilon_r} \ln\left(1 + \frac{2L}{A}\right) \quad (4.34)$$

$$E_y(0,0) = 0 \quad (4.35)$$

4.4.2 Structure du champ dans le composant

La structure du champ électrique précédemment calculée est donnée en figs. 4.11 et 4.12. On observe bien la symétrie du champ, ainsi que des singularités aux points $(\pm\frac{A}{2}, 0)$. La courbe montre que le champ électrique n'est pas nul dans les électrodes. Ceci peut paraître étonnant, car elles sont conductrices (cela a été implicitement posé dans l'uniformité de la charge surfacique) : il s'agit d'un artefact qui vient de l'épaisseur nulle retenue, la répartition asymétrique de charges qui apparaît en surface d'un solide conducteur placé dans un champ prend ici la forme d'un champ non nul. Ce point n'est cependant pas un paradoxe : le champ électrique est habituellement considéré comme nul dans les conducteurs, car, à l'équilibre, ils ne sont soumis à aucun courant. Or, dans ce modèle d'électrode infiniment fine, la résistivité est infinie selon l'axe y (à cause de l'épaisseur nulle). Le champ électrique peut alors prendre des valeurs finies sans qu'il y ait de remise en cause du principe de courant nul dans les conducteurs en électrostatique.

La figure 4.12 montre une structure de champ assez uniforme.

4.4.3 Déphasage engendré

On va maintenant calculer le déphasage engendré lorsque le faisceau traverse le composant. Comme l'ouverture numérique des objectifs de microscope est assez faible, on considérera que le faisceau est une onde plane polarisée dans un plan parallèle au substrat. Les corrections nécessaires pour tenir compte de l'ouverture numérique du faisceau sont données en annexe de la référence [78]. On considère ici que le champ orientateur et le champ électrique statique nécessaire à l'effet Pockels sont créés de la même manière par le même système d'électrodes et on admettra qu'ils sont identiques à un facteur près. On ne s'intéressera qu'aux variations de phase pour la polarisation incidente. Les phénomènes de biréfringence induite ne seront pas considérés car ils sont très faibles et l'asservissement à $\pm\frac{\pi}{2}$ du microscope nous garantit que l'on ne mesure que les variations de phase sans prendre en compte les variations d'amplitude. Ainsi seuls les coefficients de la forme r_{ij} nous intéressent. On utilise les notations données en fig. 4.13.

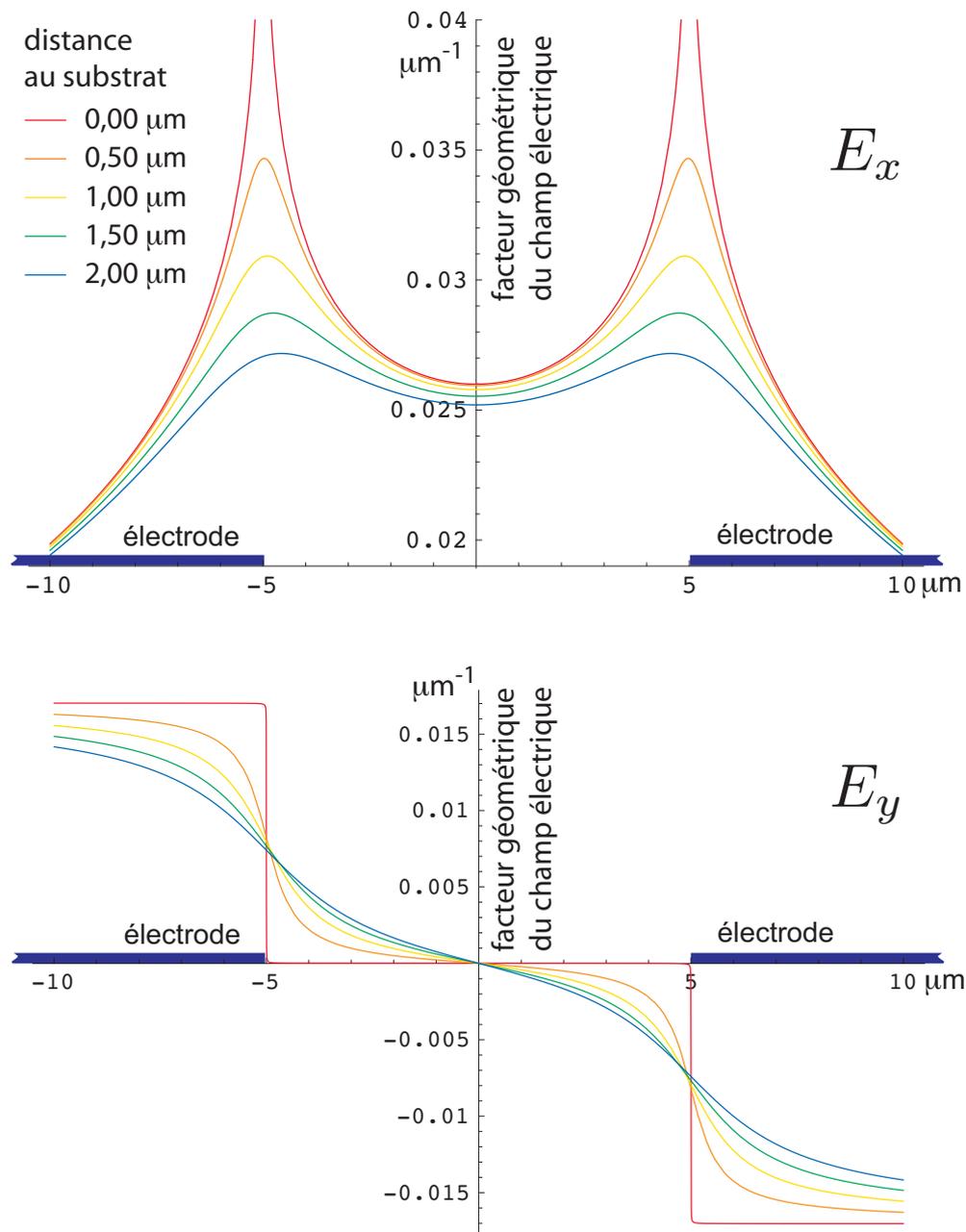


FIG. 4.11: Profil du champ électrique en fonction de la distance au substrat de verre. Les unités de champ sont normalisées à la différence de potentiel entre les électrodes. Les échelles de ces figures (μm^{-1}) donnent le champ en $\text{V} \cdot \mu\text{m}^{-1}$ pour une ddp de 1 V. La distance inter-électrodes vaut $10 \mu\text{m}$ et les électrodes mesurent $50 \mu\text{m}$ de large. Les champs électriques ne sont pas nuls dans les électrodes parce qu'elles ont été choisies d'épaisseur nulle. Le potentiel sur les électrodes n'est donc pas constant. Le potentiel est considéré appliqué au centre.

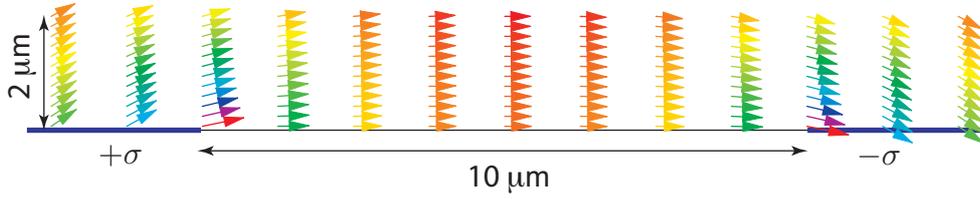


FIG. 4.12: Structure du champ électrique dans le polymère. On voit, que dans cette configuration, le champ est uniforme à 10% près.

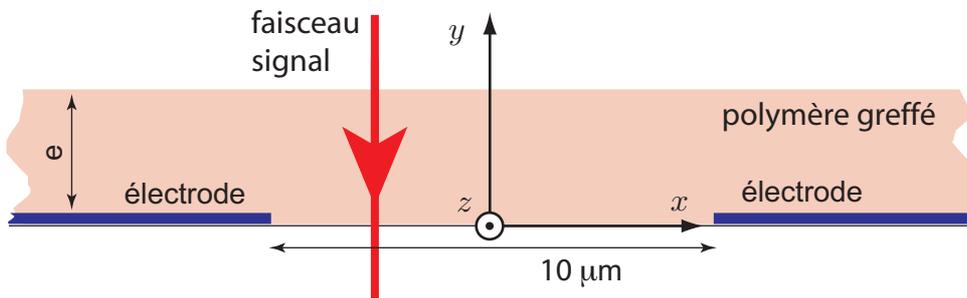


FIG. 4.13: Notations utilisées pour le calcul du déphasage du faisceau signal traversant l'échantillon.

Le tenseur 4.20 montre que pour un champ orientateur dirigé selon j , on a

$$r_{iij} = -\frac{2\mu N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{15 kT n_i^4} E_j \quad \text{pour } i \neq j \quad (4.36)$$

$$r_{jjj} = -\frac{2\mu N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{5 kT n_j^4} E_j \quad (4.37)$$

Le taux d'orientation étant faible, on considère $n_i = n_j$. On a donc :

$$r_{iij} = \frac{\Xi}{3} E_j \quad (4.38)$$

$$r_{jjj} = \Xi E_j \quad (4.39)$$

$$\text{avec } \Xi = -\frac{2\mu N f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{5 kT n^4} \quad (4.40)$$

Dans le composant utilisé, le champ électrique a des composantes non nulles selon x et y . La dépendance du tenseur électro-optique au champ électrique d'orientation étant linéaire dans le cas du modèle retenu, on procède à la somme des contributions aux coefficients électro-optiques selon chaque composante du champ électrique. On aurait aussi pu utiliser une rotation du tenseur électro-optique. Cependant, la structure du champ électrique ne se prête pas particulièrement bien à cette méthode : il faudrait utiliser un jeu de coordonnées composites (cartésienne pour la position du point courant et angles d'Euler pour l'orientation du champ) qui ne se réduirait pas simplement étant données les symétries du composant.

La composante x du champ électrique d'orientation E^o donne les valeurs suivantes aux éléments du tenseur électro-optique :

$$r_{xxx} = \Xi E_x^o \quad (4.41)$$

$$r_{yyx} = \frac{\Xi}{3} E_x^o \quad (4.42)$$

$$r_{zzx} = \frac{\Xi}{3} E_x^o \quad (4.43)$$

On a de même pour la composante y du champ électrique :

$$r_{xxy} = \frac{\Xi}{3} E_y^o \quad (4.44)$$

$$r_{yyy} = \Xi E_y^o \quad (4.45)$$

$$r_{zzy} = \frac{\Xi}{3} E_y^o \quad (4.46)$$

On calcule les déphasages engendrés selon les polarisations x et z par les champs de « lecture » E^l .

On a pour ces deux polarisations les variations d'indices suivantes :

$$\left(\frac{1}{n^2}\right)_x = r_{xxx}E_x^l + r_{xxy}E_y^l \quad (4.47)$$

$$\left(\frac{1}{n^2}\right)_z = r_{zzx}E_x^l + r_{zzy}E_y^l \quad (4.48)$$

Etant données les hypothèses précédentes sur l'origine des champs électriques, on a, pour une même différence de potentiel appliquée $E^o = E^l = E$. On note donc tous les champs sans exposants relatifs à leur rôle. Les relations 4.41 à 4.46 donnent alors :

$$\left(\frac{1}{n^2}\right)_x = \Xi \left(E_x^2 + \frac{E_y^2}{3} \right) \quad (4.49)$$

$$\left(\frac{1}{n^2}\right)_z = \Xi \left(\frac{E_x^2}{3} + \frac{E_y^2}{3} \right) \quad (4.50)$$

Dans le cas de champs d'orientation et de lecture différents, il suffit simplement de multiplier par des amplitudes différentes et non de les élever au carré³. Les variations de phase induites

³ Un champ électrostatique est un facteur géométrique de répartition d'un potentiel électrique. La structure de ce facteur étant donnée par l'équation de Maxwell-Gauss. En effet, en divisant le champ par le potentiel appliqué, on obtient une structure géométrique indépendante du potentiel qui en est à l'origine. Les unités des grandeurs électromagnétiques disparaissent d'ailleurs du résultat. On a retrouvé indirectement cette propriété dans la représentation de la fig. 4.11 et elle apparaît ici aussi sous la forme d'amplitudes éventuellement différentes en produit d'un même « facteur géométrique de champ électrique ».

par un champ électrique pour un champ optique polarisé suivant la direction i traversant l'échantillon d'épaisseur e valent :

$$\Delta\varphi_i(x, z) = \varphi_i(E_x, E_y) - \varphi_i(0, 0) \quad (4.51)$$

$$= \frac{2\pi}{\lambda} \left[\int_e^0 n_i(E_x, E_y) (-dy) - \int_e^0 n_i(0, 0) (-dy) \right] \quad (4.52)$$

Avec les expressions 4.41 à 4.46 et la relation de dérivation suivante :

$$\Delta \left(\frac{1}{n^2} \right) = -\frac{\Delta n}{2n^3} \quad (4.53)$$

on obtient :

$$\Delta\varphi_x(x, z) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^e -2\Xi n^3 \left(E_x^2 + \frac{E_y^2}{3} \right) dy \quad (4.54)$$

$$\Delta\varphi_z(x, z) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^e -2\Xi n^3 \left(\frac{E_x^2}{3} + \frac{E_y^2}{3} \right) dy \quad (4.55)$$

On retiendra finalement le résultat :

$$\Delta\varphi_x(x, z) = \Gamma \int_0^e \left(E_x^2 + \frac{E_y^2}{3} \right) dy \quad (4.56)$$

$$\Delta\varphi_z(x, z) = \Gamma \int_0^e \left(\frac{E_x^2}{3} + \frac{E_y^2}{3} \right) dy \quad (4.57)$$

$$\text{avec } \Gamma = -\frac{4\pi n^3 \Xi}{\lambda} = \frac{8\pi\mu N f^2(\omega) f(\Omega)\beta_{ZZZ}}{5n \lambda kT} \quad (4.58)$$

Une mesure précise de la variation de phase selon chacune des polarisations permet de remonter à la valeur quadratique moyenne des composantes du champ électrique sur l'épaisseur de l'échantillon. Notons de plus que le montage reste sensible au signe du champ électrique (ou de la composante du tenseur, c'est au choix). Ceci n'apparaît pas dans les calculs précédents car le champ « de lecture » était choisi, arbitrairement, de même signe que le champ d'orientation. C'est un choix arbitraire : le champ de lecture aurait tout à fait pu être pris de signe opposé. Le profil de déphasage est donné en fig. 4.14.

Le microscope ne peut pas mesurer la phase à travers les électrodes à cause de leur opacité. La réduction de la valeur moyenne de l'intensité du *signal* est vue comme une chute de l'amplitude de modulation de la phase par le composant (équation 2.66). D'autre part, la précision du profil est limitée par la résolution des objectifs de microscope. Pour le montage actuel, on a un col de 600 nm. Pour modéliser plus précisément ce qui va être obtenu, les courbes théoriques présentées en fig. 4.14 sont annulées sur les électrodes puis convoluées par une gaussienne de 600 nm de largeur qui modélise la fonction d'appareil. On obtient le profil donné en fig. 4.15.

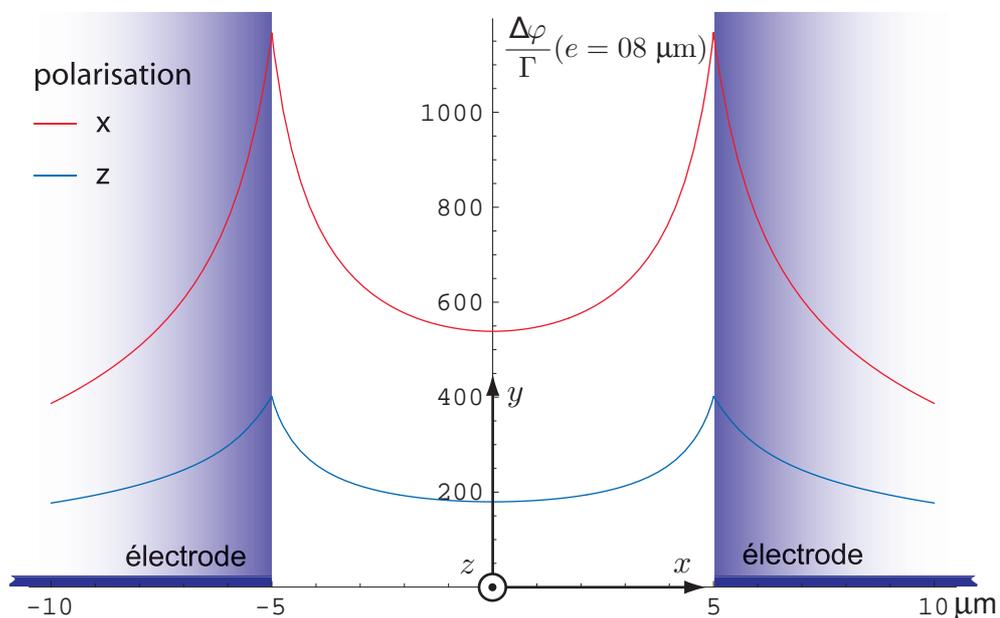


FIG. 4.14: Déphasage du faisceau signal traversant l'échantillon pour les deux polarisations x et z . Les bandes ombrées au dessus des électrodes indiquent les zones où la mesure est impossible à cause de la trop forte absorption des électrodes. Il est donné en unités $\frac{\Delta\varphi}{\Gamma}$ pour des différences de potentiel de lecture et d'orientation de 1 V. La dépendance est linéaire en chacune de ces tensions.

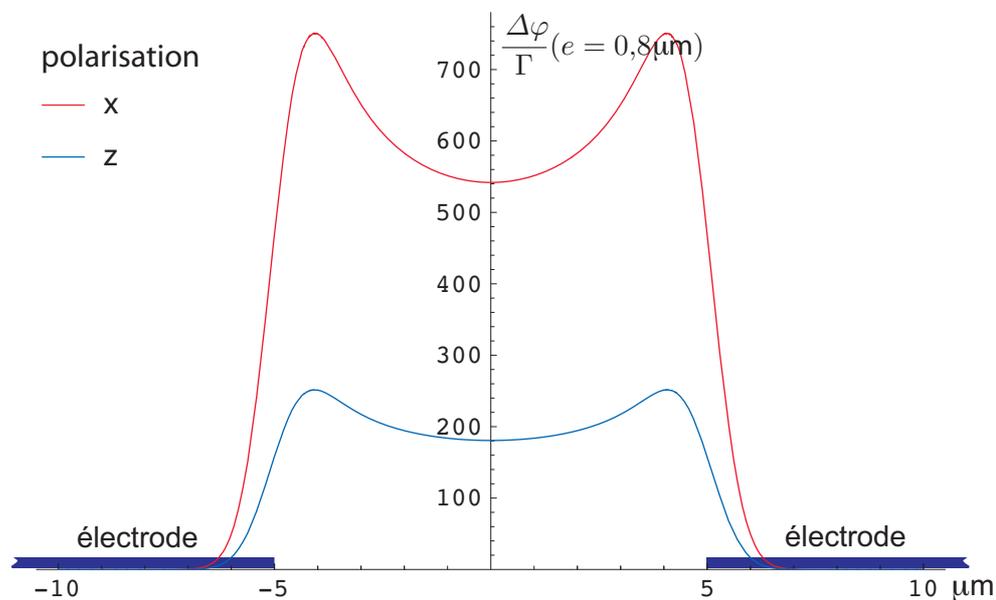


FIG. 4.15: Déphasage du faisceau signal traversant l'échantillon pour les deux polarisations x et z . La résolution du microscope (600 nm) et l'opacité des électrodes ont été prises en compte.

4.4.4 Ordres de grandeur

Le composant a été réalisé avec les caractéristiques suivantes [82, 83] :

- $N \approx 1,4 \cdot 10^{27} \text{ m}^{-3}$
- $n(633 \text{ nm}) \approx 1,5$
- $f^2(\omega) f(\Omega) \approx 4,0$
- $\mu \approx 13 \text{ D} \approx 4,3 \cdot 10^{-29} \text{ C.m}$
- $\lambda = 632,8 \text{ nm}$
- $\beta_{ZZZ}^{\text{éo}}(632,8 \text{ nm}) = 2,6 \cdot 10^{-37} \text{ SI}^4$
- $kT = 5,5 \cdot 10^{-21} \text{ J}$

Certaines de ces valeurs sont données approximativement. Elles sont issues de mesures dont les résultats doivent être utilisés avec prudence. Le moment dipolaire du DR1 dépend par exemple du solvant dans lequel la mesure a été faite, il doit être sensiblement plus faible dans le PMMA copolymérisé. Toutes ces valeurs devraient pouvoir être obtenues avec une très bonne précision dans les conditions de fabrication de cet échantillon. Toutefois, il ne s'agit ici que de comparer en ordre de grandeur un calcul théorique et une mesure. Il n'est donc pas nécessaire, au moins dans un premier temps, de consacrer trop de temps à une détermination précise de ces valeurs.

Ceci donne $\Gamma \approx 6,1 \cdot 10^{-11}$, cette valeur étant certainement légèrement surévaluée. De plus, lors du processus d'orientation, lorsque le champ électrique est enlevé, il se produit aussi une désorientation pour une partie des chromophores qui n'ont pas été suffisamment enserrés dans la matrice polymère lors du refroidissement [85–87]. Une lente désorientation a aussi lieu dans le temps, une fois la fabrication finie, certaines mesures ont été faites sur des échantillons

⁴ On a la relation suivante entre $\beta(0)$ et $\beta^{\text{éo}}(\omega)$, valable pour une molécule décrite par un système à deux niveaux, de pulsation de résonance ω_0 , excité à ω [84] :

$$\beta^{\text{éo}}(\omega) = \beta(0) \frac{\omega_0^2 (3\omega_0^2 - \omega^2)}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2} \quad (4.59)$$

Ce modèle est généralement valable pour les molécules unidimensionnelles, comme le DR1, tant qu'on reste hors de la bande d'absorption.

orientés près de 10 mois auparavant.

Pour donner un ordre de grandeur, avec un champ d'orientation de $30\text{V}\cdot\mu\text{m}^{-1}$ la valeur de Γ obtenue donne $r_{xxx} \approx 17\text{pm}\cdot\text{V}^{-1}$.

4.5 Mesures et validation

4.5.1 Première cartographie de déphasage

La première carte quantitative de déphasage dû à l'effet électro-optique est donnée en fig. 4.16. Elle est aussi donnée sous une autre forme en fig. 4.18. On a enregistré le déphasage entre les deux électrodes du composant décrit dans ce chapitre. Les chromophores ont été orientés par une tension de 300 V (soit un champ moyen de $30\text{V}\cdot\mu\text{m}^{-1}$). Le déphasage est modulé par une tension d'amplitude 1 V et de fréquence 100 kHz appliquée entre les électrodes. La carte mesure $22\mu\text{m}$ de large et $47\mu\text{m}$ de long. La polarisation du faisceau *signal* est perpendiculaire aux électrodes (notation précédente : polarisation x). Ces cartes sont issues de mesures de 40 points par 40 points.

On retrouve l'invariance par translation qui était attendue le long des électrodes. Le déphasage est aussi de l'ordre de grandeur de ce qui était attendu (son étude est détaillée dans ce qui suit). On a par contre une très forte asymétrie qui n'était pas prévue par le modèle utilisé. Il doit s'agir d'un phénomène d'injection de charges par les électrodes dans le polymère. Si des charges des deux signes sont injectées dans le polymère, l'injection est beaucoup plus efficace pour les charges positives. On voit un petit décrochement de la crête de gauche : cela correspond à un léger photoblanchiment dû à l'illumination par le laser pulsé lors d'une observation de l'échantillon par microscopie en génération de seconde harmonique. L'orientation des chromophores sous champ électrique a été validée par cette méthode ; ici, on a retrouvé par hasard une zone de lecture précédente.

Le bruit qui apparaît sur la fig. 4.16 est essentiellement dû à l'algorithme de construction de la matrice spécialement requise pour la figure en relief. Un autre mode de représentation ne faisant pas apparaître ce bruit est donné en fig. 4.18. Il est cependant apparu que les figures représentées en relief deviennent rapidement plus facilement lisibles que celles en courbes de niveau. C'est pour cette raison que nous les avons privilégiées. Cependant, les calculs effectués sur les mesures reprennent systématiquement les données brutes directement issues du microscope électro-optique.

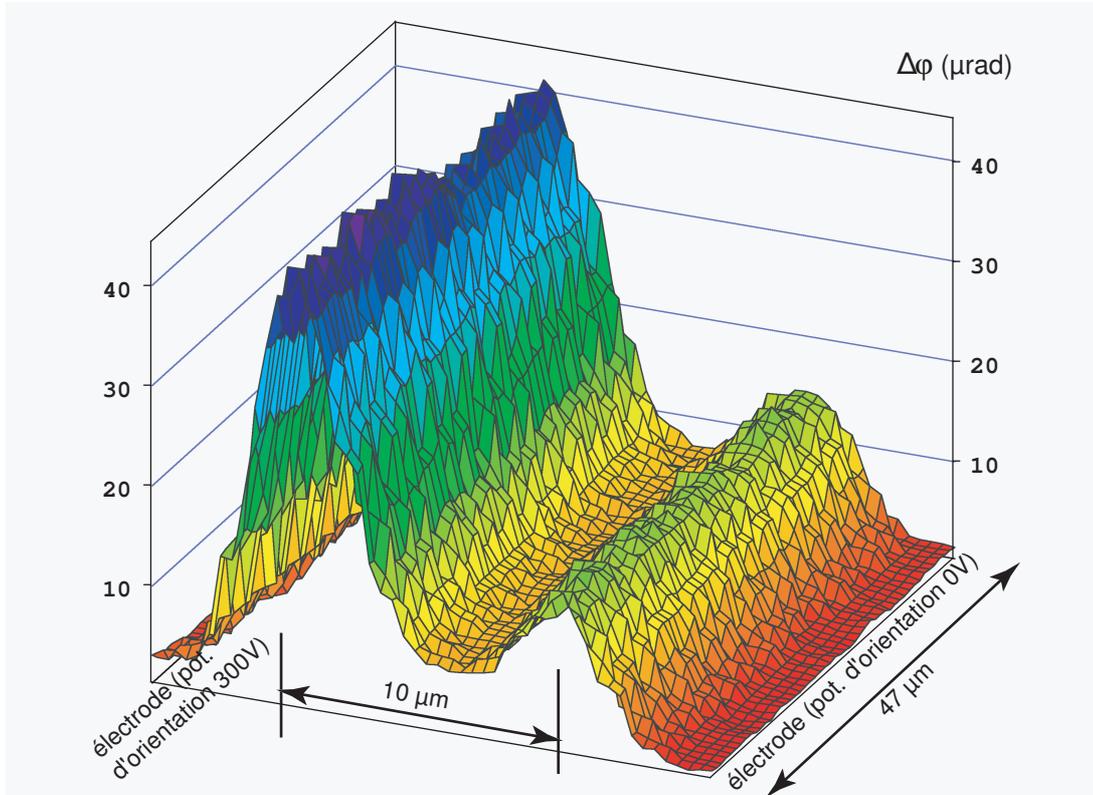


FIG. 4.16: Première image obtenue avec le microscope électro-optique : déphasage mesuré sur un échantillon (du type décrit dans ce chapitre) orienté sous une tension de 300V et sur lequel est appliqué une tension « de lecture » de 1 V. La carte mesure 22 μm de large et 47 μm de long. La polarisation est perpendiculaire au sens des électrodes (x). Le déphasage mesuré est de l'ordre de 10^{-5} rad. On voit un fort déphasage à proximité des électrodes, et tout particulièrement de l'électrode sur laquelle était appliqué le potentiel d'orientation positif. Les calculs ne laissaient pas prévoir un tel déphasage à ces endroits et encore moins cette asymétrie. Le bruit (les petites ondulations de quelques micromètres de période) est essentiellement dû au logiciel de traitement de données qui n'est pas adapté à ce type de mesures (voir la présentation en fig. 4.18 qui traite mieux les données, mais dont la structure est moins facilement lisible). Le léger décrochement observé sur la crête de gauche correspond à du photoblanchiment dû au balayage du laser du microscope de génération de seconde harmonique utilisé pour valider l'orientation sous champ électrique de l'échantillon.

4.5.2 Etudes en polarisation, rapport r_{33}/r_{13}

Les mesures de la fig. 4.16 ont été reprises dans les mêmes conditions selon les deux polarisations. Les résultats sont présentés côte à côte avec les mêmes échelles en fig. 4.19, aboutissant aux effets attendus. Les coefficients du tenseur électro-optique mis en jeu dans la lecture en polarisation z , parallèle aux électrodes, sont plus faibles (d'un facteur 3 environ)

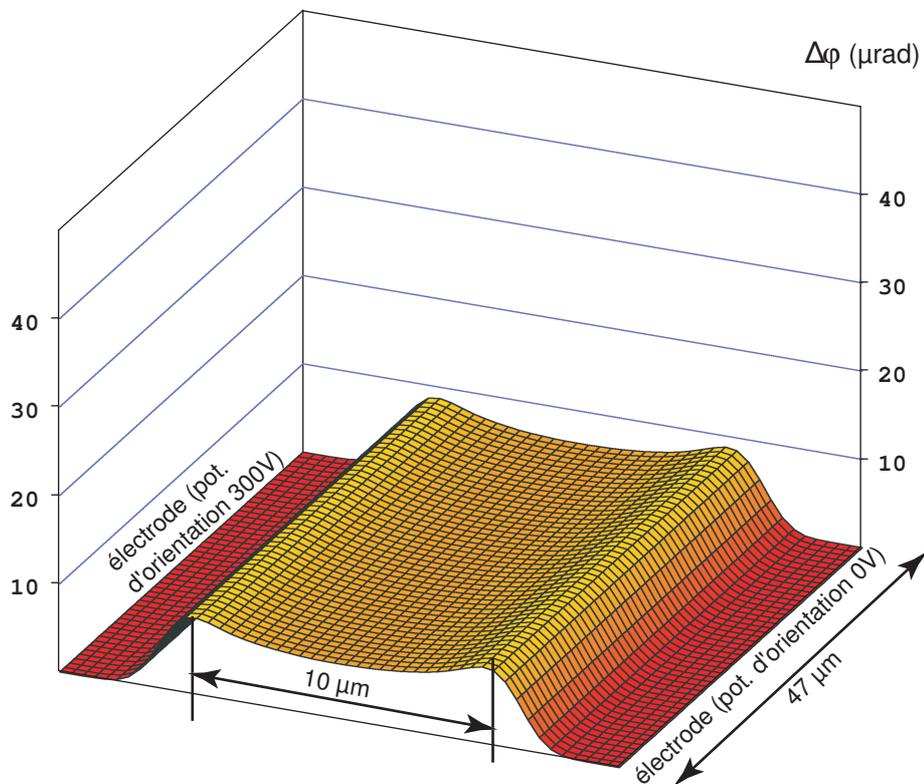


FIG. 4.17: Simulation de l'enregistrement donné en fig. 4.16 dans les mêmes conditions. Il s'agit en réalité d'une représentation de la courbe rouge de la fig. 4.14 selon le mode de présentation retenu pour les cartes de déphasage. Les différences qualitatives entre le déphasage prévu et le déphasage mesuré apparaissent clairement.

que ceux mis en jeu pour la polarisation x , perpendiculaire aux électrodes.

Les mesures précédentes sont refaites avec un nombre plus faible de points et comparées aux valeurs obtenues précédemment avec le modèle du gaz parfait. Elles sont présentées en fig. 4.20. Le nombre de points a été choisi assez faible (16) pour éviter que la lecture du déphasage en un point ne modifie, par effet thermique, l'orientation des chromophores au point de lecture suivant. En échange, on perd en résolution, mais on a là un bon compromis qui permet d'aborder les phénomènes physiques mis en jeu. Les comparaisons avec les valeurs théoriques sont faites uniquement sur les points de mesures. Les interpolations linéaires par les segments en pointillés ne servent qu'à faciliter la lecture des courbes.

Au centre, les valeurs sont légèrement inférieures à ce qui est prévu, mais très proches en ordre de grandeur. Les raisons peuvent en être multiples (désorientation des chromophores, moment dipolaire surévalué, limitations du modèle, etc.). Sur les bords, on a un effet bien supérieur à

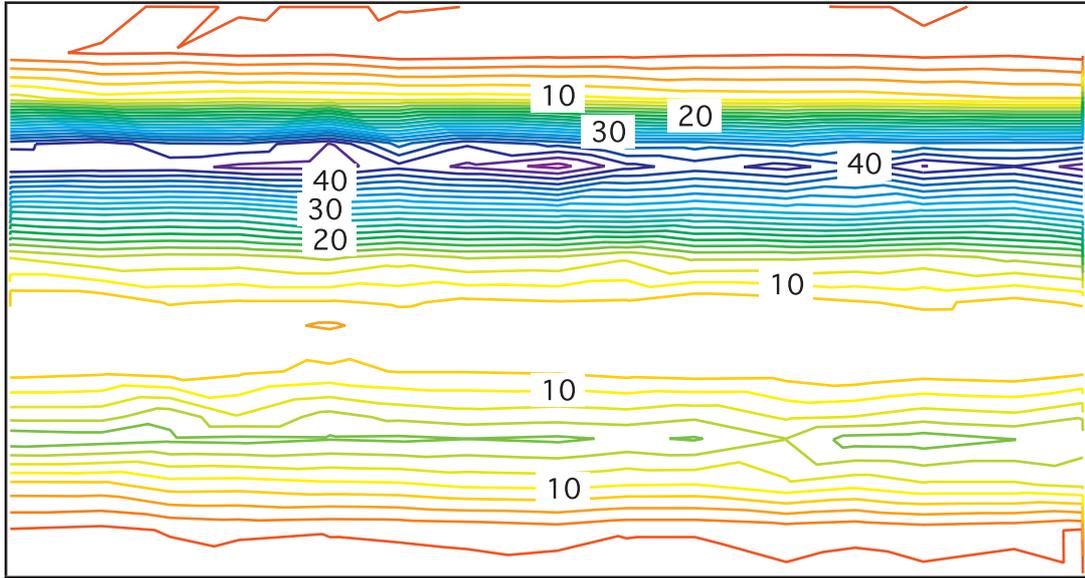


FIG. 4.18: Présentation du résultat de la fig 4.16 selon des lignes de niveaux. Cette représentation est plus compréhensible au premier abord et présente l'avantage de ne pas ajouter de bruit d'interpolation. La précédente devient, cependant, rapidement plus lisible.

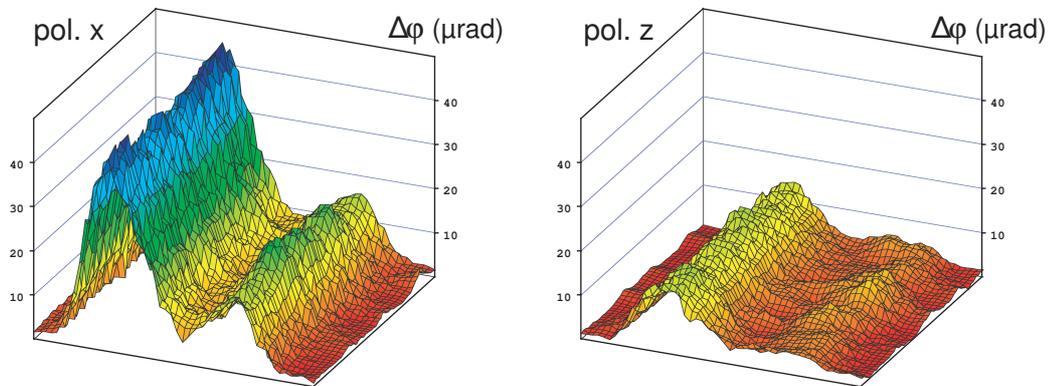


FIG. 4.19: Déphasage mesuré sur l'échantillon de la fig. 4.16 selon les deux polarisations x et z . La mesure a été effectuée dans les mêmes conditions.

ce qui est prévu. On peut l'interpréter par un phénomène d'injection de charges, plus efficace du côté de l'électrode positive. Cette hypothèse sera vérifiée ultérieurement en changeant le métal des électrodes et en modélisant numériquement le phénomène en tenant compte, cette fois-ci, d'une densité de charge non nulle et de courants dans le polymère. Il faudra utiliser pour cela un logiciel de résolution d'équations aux dérivées partielles couplées sur maillage avec conditions aux limites (du type FEMLAB). Bien compris, ce phénomène pourrait être

mis à profit pour augmenter l'efficacité d'orientation de chromophores dans les composants polymères. Ces phénomènes sont observables sur les deux polarisations.

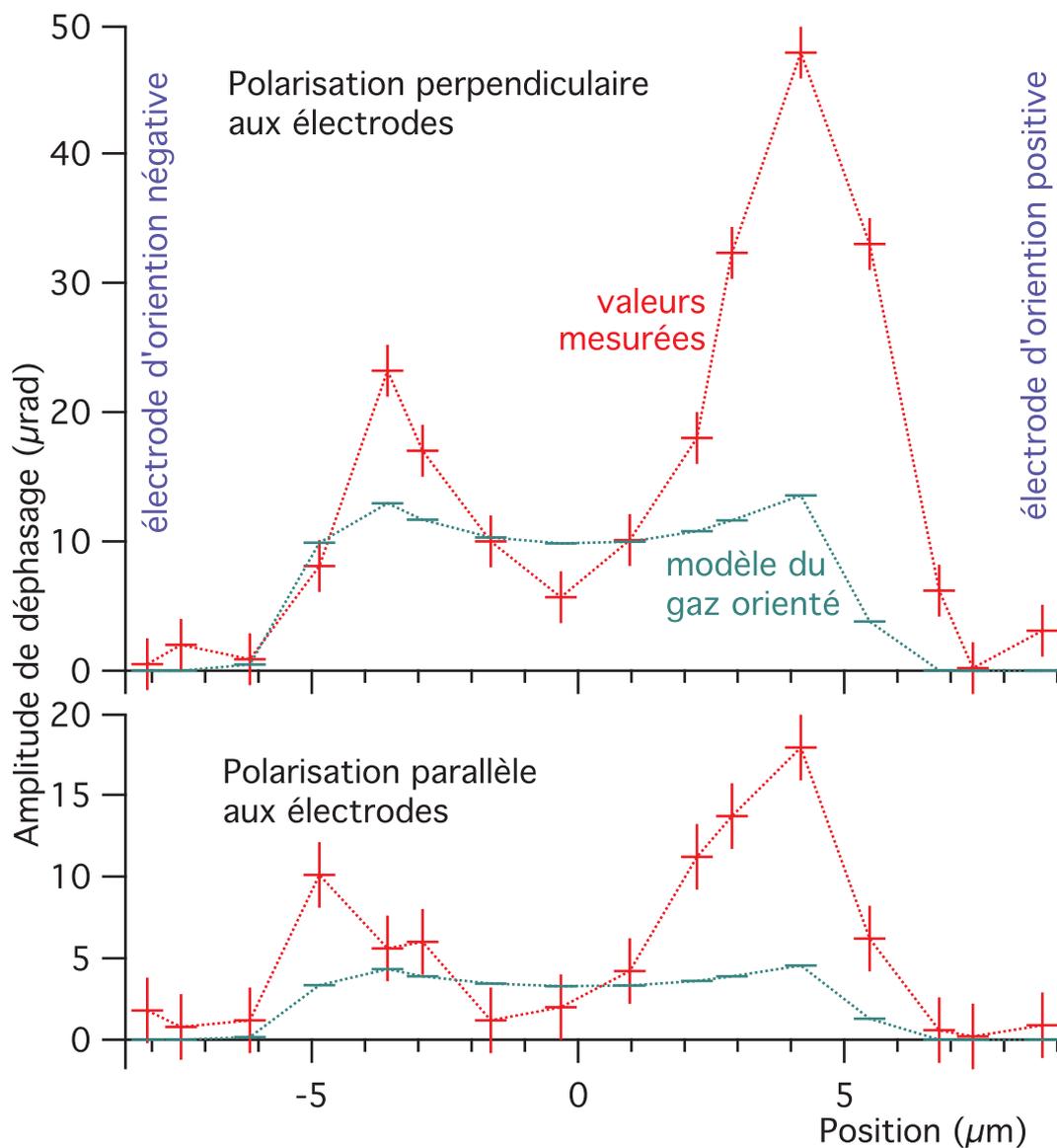


FIG. 4.20: Comparaison des mesures de déphasage et des valeurs prédites par le modèle du gaz orienté sans injection de charges, pour les polarisations perpendiculaire et parallèle aux électrodes. Ces mesures ont été faites sur un nombre assez faible de points pour éviter que la lecture de la phase en un point ne modifie pas, par effet thermique, le tenseur électro-optique au point suivant. Les branches des croix sont les barres d'erreur. L'erreur sur les abscisses a été choisie égale à la largeur du faisceau sonde au niveau de l'échantillon. Les lignes pointillées aident simplement à la lecture des courbes.

On peut utiliser ces résultats pour évaluer la pertinence du modèle du gaz parfait en vérifiant que le rapport 3 entre r_{33} et r_{13} apparaît dans les mesures. Une méthode indirecte consiste à ajuster la courbe de polarisation perpendiculaire sur la courbe de polarisation (z) parallèle de la fig. 4.19. En tout état de cause, on ne mesure pas le rapport $\frac{r_{33}}{r_{13}}$, mais une valeur moyenne de ce rapport sur l'épaisseur de l'échantillon si on néglige E_y par rapport à E_x . Cette approximation est pertinente, on peut la vérifier sur les calculs menés au début de ce chapitre et tout particulièrement sur le graphique en champ de vecteurs qui montre la structure du champ électrique dans le polymère (fig. 4.12). D'autre part, on peut évaluer ce rapport en procédant à un *ajustement des valeurs théoriques* de déphasage : on trouve $2,992 \pm 0,003$. L'ajustement sur les valeurs mesurées donne $2,828 \pm 0,306$. Le modèle du gaz parfait est donc en accord avec la valeur obtenue expérimentalement.

4.5.3 Comparaison avec la génération de seconde harmonique

Afin de valider plus avant les résultats obtenus, il est intéressant de faire une comparaison avec un résultat de microscopie de génération de seconde harmonique. Elle donne accès au carré de certaines composantes du $\chi^{(2)}$. Une carte a été faite avec le microscope monté à cet effet au laboratoire [78]. La carte d'intensité de GSH est donnée en fig. 4.21., une coupe est donnée en fig. 4.22.

On retrouve des traits caractéristiques du composant déjà observés en microscopie électro-optique. Cependant, les bosses sont plus piquées et plus asymétriques. Pour des raisons expérimentales, les mesures n'ont pas été faites dans les mêmes conditions : c'en est peut-être la cause. La polarisation est parallèle à l'axe qui fait front et l'ouverture numérique de l'objectif est de 1,4. Cette dernière permet des enregistrements mieux résolus qu'avec le microscope électro-optique : on ne mesure peut-être donc que le $\chi^{(2)}$ dans des tranches de polymère. Par contre une telle ouverture numérique donne des structures de champ en polarisation très complexes à proximité du point focal. On ne doit donc pas tenter de comparaison numérique. D'autre part, le très fort photoblanchiment (qui se voit par la formation de dents de scie sur la crête) diminue notablement l'amplitude observée.

Cette mesure sera reprise dans des conditions les plus proches possibles de la microscopie électro-optique. On pourra ainsi obtenir un grand nombre d'informations quantitatives sur l'échantillon. Par exemple, on peut, en combinant l'utilisation des deux microscopies, différencier les champs d'orientation et de lecture. Ce qui n'est pas possible avec le microscope électro-optique seul qui fournit *de facto* un produit des deux, ni avec le microscope à génération de seconde harmonique seul qui ne donne accès qu'au $\chi^{(2)}$, c'est-à-dire aux conséquences du champ d'orientation sur la statistique de la répartition des chromophores.

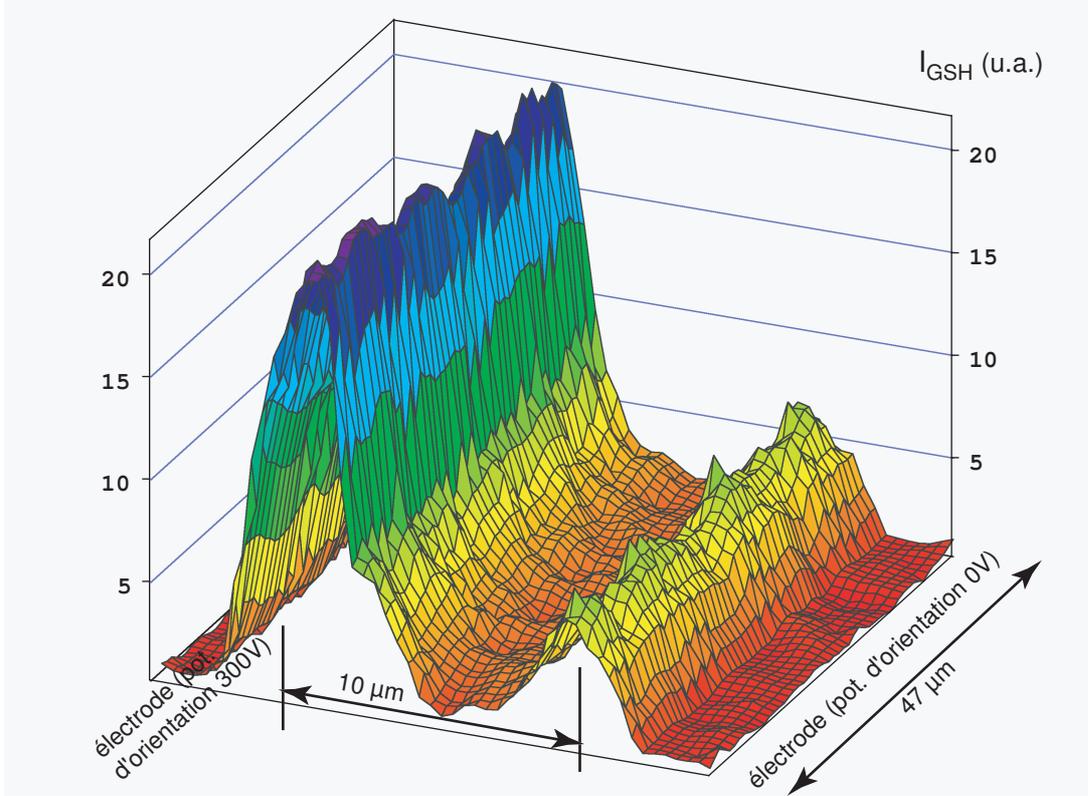


FIG. 4.21: Carte d'intensité de génération de seconde harmonique réalisée sur le même échantillon que toutes les mesures de ce chapitre. On retrouve la forme en double bosse asymétrique. Les deux crêtes sont plus fines et plus asymétriques que pour l'enregistrement réalisé en microscopie électro-optique.

4.5.4 Informations sur la structure des champs électriques

Les déphasages mesurés s'apparentent à des valeurs moyennes spatiales des carrés des amplitudes des champs électriques selon les axes x et y . Les carrés apparaissent car on a considéré que les structures du champ d'orientation et du champ de lecture étaient identiques. On obtient ainsi un déphasage modulé d'amplitude proportionnel à une fonction simple du carré de l'amplitude des champs. Ce sont les résultats 4.56 et 4.57, on peut les noter :

$$\Delta\varphi_x = \Gamma \left(\langle E_x^2 \rangle + \frac{\langle E_y^2 \rangle}{3} \right) \quad \text{et} \quad \Delta\varphi_z = \Gamma \left(\frac{\langle E_x^2 \rangle}{3} + \frac{\langle E_y^2 \rangle}{3} \right) \quad (4.60)$$

On a ainsi accès aux valeurs moyennes des carrés des amplitudes des champs, à un facteur $\frac{1}{\Gamma}$ près :

$$\langle E_x^2 \rangle = \frac{3}{2\Gamma} (\Delta\varphi_x - \Delta\varphi_z) \quad \text{et} \quad \langle E_y^2 \rangle = \frac{3}{2\Gamma} (3\Delta\varphi_z - \Delta\varphi_x) \quad (4.61)$$

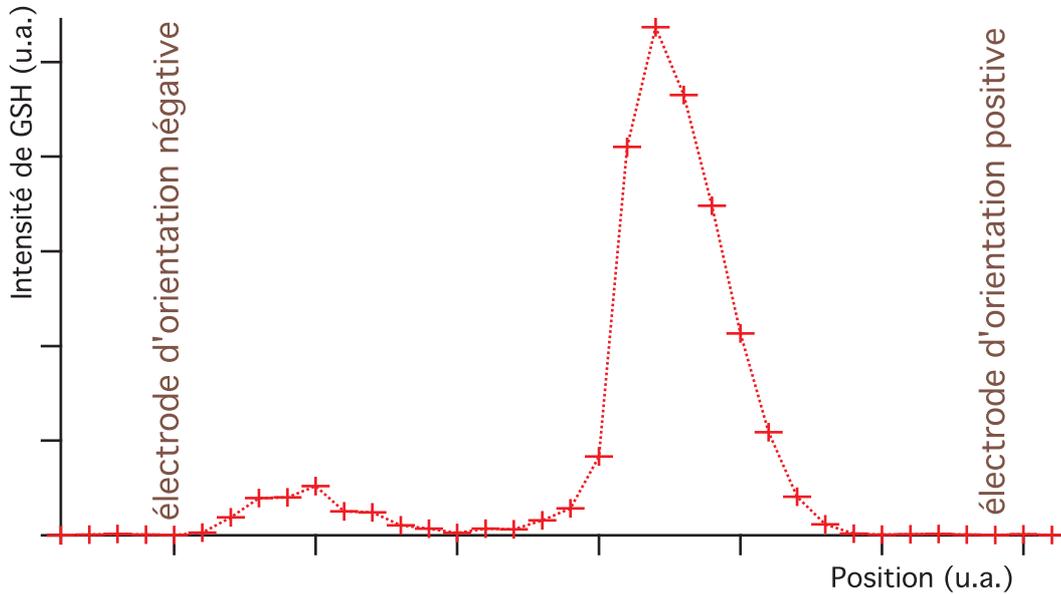


FIG. 4.22: Coupe de la carte 4.21. Les barres d'erreur ne tiennent pas compte du photoblanchiment.

En fig.4.23, on voit que l'accord entre les valeurs moyennes des carrés des champs électriques mesurés et calculés n'est pas bon du tout.

Pour $\langle E_x^2 \rangle$, on retrouve bien la dissymétrie observée pour les déphasages. La valeur du champ électrique suivant x au centre de la zone mesurée est légèrement inférieure à ce qui est calculé. Ceci est dû à une moindre orientation des chromophores par rapport à ce qui est prévu. L'efficacité de conversion des champs donnée par le facteur Γ est, on l'a vu, légèrement surévaluée. Il ne faut donc pas s'étonner d'une petite différence comme celle-ci : ce sont surtout les formes des courbes qu'il faut comparer.

Le cas de $\langle E_y^2 \rangle$ est très intéressant. Du côté de l'électrode positive, on voit que $\langle E_y^2 \rangle$ passe par une valeur négative. Ce résultat est vérifiable sur toutes les mesures effectuées en différents endroits de l'échantillon. On a le même phénomène, mais moins visible du côté de l'électrode négative (la comparaison d'un grand nombre de courbes montre qu'il existe bien). Quelle que soit la forme du champ électrique, en accord ou non avec le modèle du gaz parfait, on ne peut pas avoir de valeurs négatives pour $\langle E^2 \rangle$ si les champs d'orientation et de lecture sont identiques à un facteur près. La valeur négative de $\langle E_y^2 \rangle$ sur une bande le long de l'électrode montre qu'il y a, spatialement, deux changements de signe d'un seul des champs électriques utilisés (soit orientation, soit lecture). Les mesures faites jusqu'ici ne permettent pas d'aller plus loin. Il est cependant très vraisemblable que ce phénomène soit relié à une injection de charges. On peut aussi raisonnablement supposer que la structure la plus complexe revient au champ statique utilisé pour l'orientation : en augmentant la fréquence du champ, les déplacements de charges ont tout lieu de diminuer dans un tel composant, laissant alors

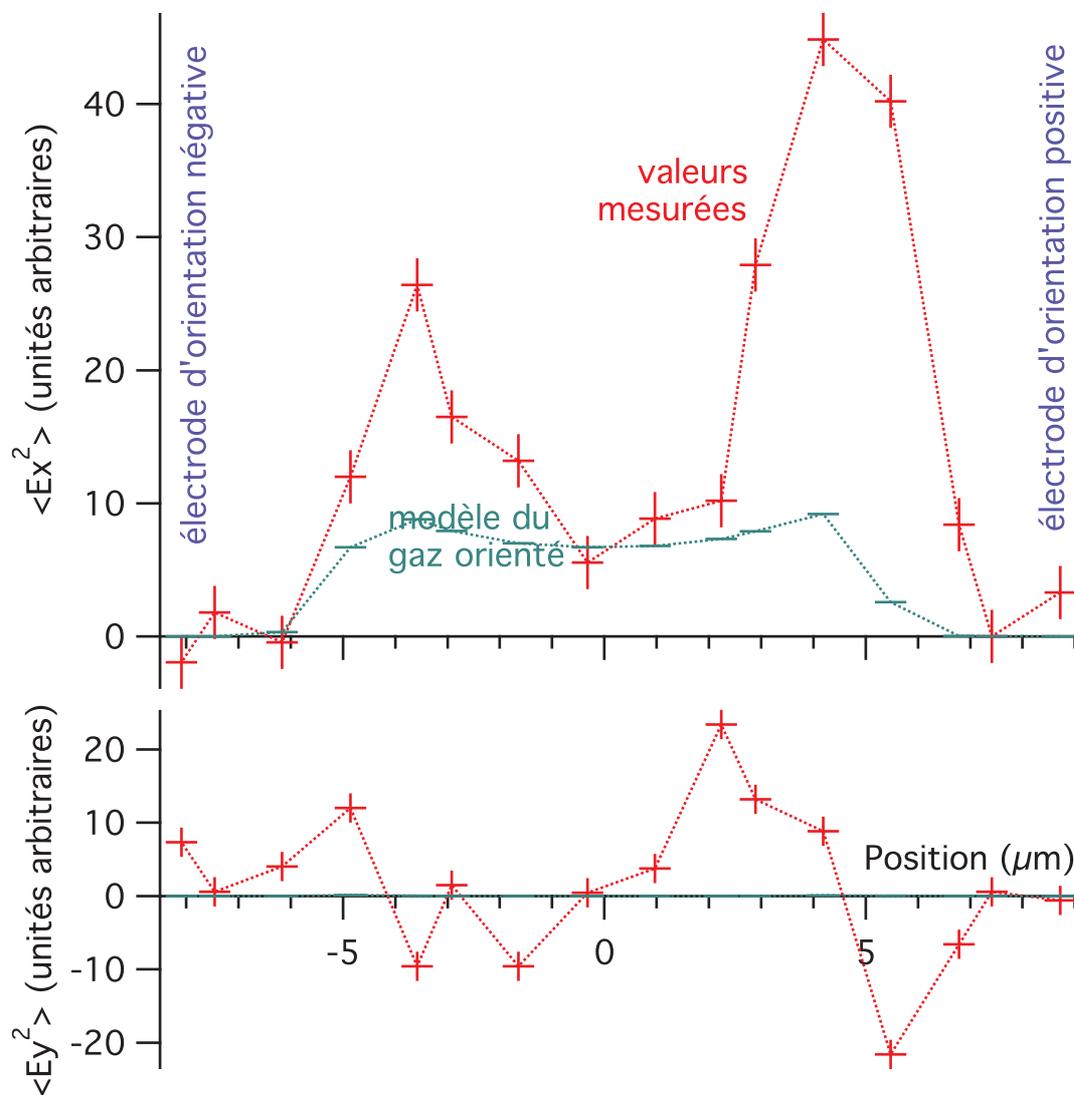


FIG. 4.23: Valeurs moyennes des carrés des amplitudes des champs électriques obtenues à partir de l'expression 4.61 appliquée à des coupes de mesures du type de celles de la fig. 4.19. Les commentaires sur ces courbes sont donnés dans le texte. Les croix sont des barres d'erreur. L'erreur latérale est choisie égale à la résolution transversale du microscope. Les segments pointillés servent simplement à faciliter la lecture des courbes.

uniquement place à la structure électrostatique du champ électrique donnée par l'équation de Maxwell-Gauss appliquée au condensateur formé par les deux électrodes entourant le diélectrique. Cette hypothèse pourra être approfondie en retraçant la courbe 4.23 à des fréquences différentes (ici, elle a été obtenue à 100 kHz).

4.5.5 Champ sans contre-électrode

Les résultats de la structure des champs 4.32 et 4.33 montrent qu'il existe un champ non nul sur le bord de l'électrode qui n'est pas en vis-à-vis de l'électrode de charge opposée. Ce champ existe à la fois à l'orientation et à la lecture. On en donne une carte en fig. 4.24. On voit que le signal est quasi nul sous l'électrode. Apparaît ensuite la crête de déphasage, supérieure à ce qui est prévu par le calcul (tout comme pour le champ entre les deux électrodes), on retrouve le phénomène supposé d'injection de charges. Ensuite, on a une zone de déphasage très variable. Elle s'estompe quand on s'éloigne de l'électrode (non représenté). L'origine de ces signaux à l'apparence aléatoire, mais dont la cartographie est parfaitement reproductible, n'est pas comprise.

On peut aussi cartographier ce phénomène suivant l'autre polarisation et sur le bord de l'électrode négative. On retrouve alors la même forme de carte de déphasage, les amplitudes sont toutefois plus faibles, conformément à ce que laissent prévoir les calculs. On a ainsi un phénomène d'orientation, mais hors du condensateur que les électrodes forment en vis-à-vis.

4.5.6 Système microstructuré : première démonstration

Le microscope électro-optique peut être utilisé pour valider ou étudier la microstructuration du $\chi^{(2)}$ d'un milieu transparent. Un premier exemple très simple est donné en fig. 4.25. Le faisceau laser de sonde a été pointé pendant une vingtaine de secondes sur le même point de l'échantillon. Les chromophores ont été désorientés par l'élévation locale de température. On résout tout à fait ce point.

Toutes les structures de $\chi^{(2)}$ dont la taille caractéristique des détails va du micromètre à quelques dizaines de micromètres et qui peuvent être placées dans un champ électrique pourront être étudiées par microscopie électro-optique. L'étude ne se limite pas à la désorientation comme ce qui est présenté en fig. 4.25, on peut aussi étudier indépendamment les différentes composantes du tenseur (leur signe compris) en jouant sur les polarisations du *signal*. Il est par exemple possible de cartographier la structure d'un composant dont les composantes du $\chi^{(2)}$ varieraient, mais où $|\chi^{(2)}|$ serait constant.

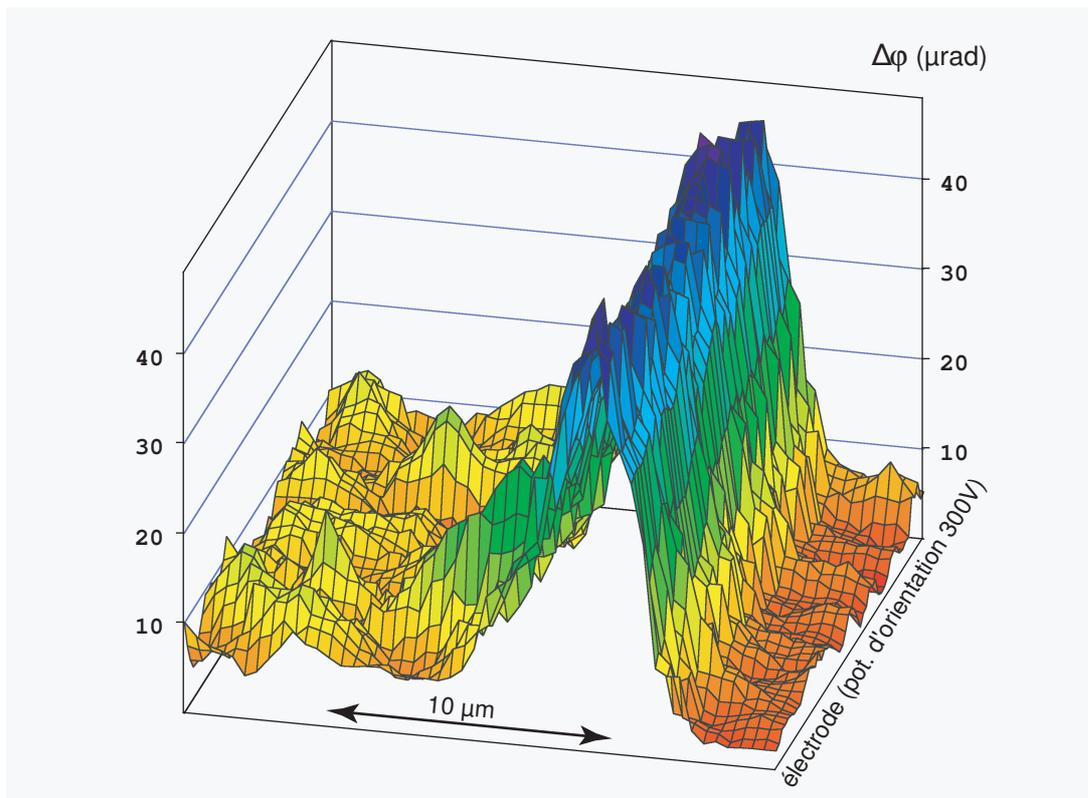


FIG. 4.24: Déphasage mesuré sur le bord extérieur de l'échantillon, du côté de l'électrode positive en polarisation perpendiculaire à l'électrode. Il est plus important que ce que prévoit le calcul : on retrouve là un possible phénomène d'injection de charges. Il est aussi visible suivant l'autre polarisation et sur l'électrode négative où il est moins intense. Les « vagues » sur la gauche ne sont pas du bruit de lecture, mais bien le déphasage sur cette zone de l'échantillon. En effet, sur la droite, sous l'électrode, le niveau de signal est plus faible, le « bruit » aussi.

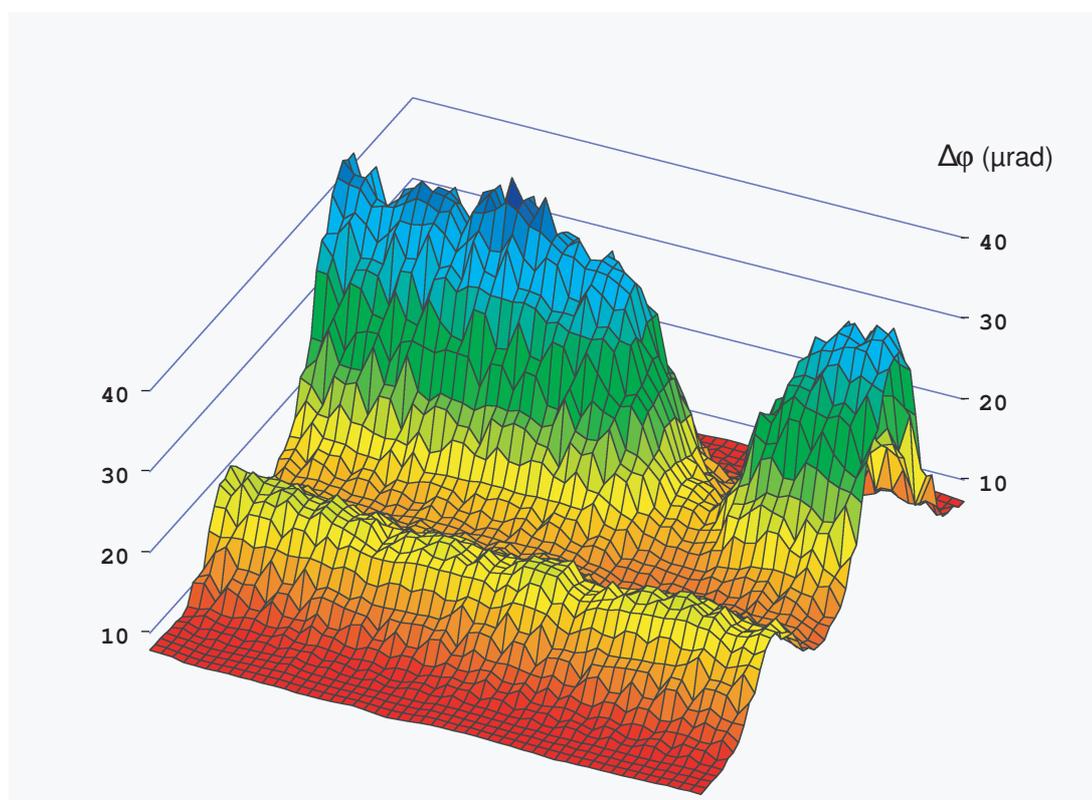


FIG. 4.25: Déphasage mesuré sur l'échantillon de la fig. 4.16 où la structure du tenseur électro-optique a été localement modifiée. Les chromophores ont été simplement désorientés par effet thermique en illuminant continûment, en un point fixe, l'échantillon pendant environ 20 secondes avec une puissance laser de 500 μW . On montre ainsi la possibilité, pour le microscope électro-optique, de cartographier des microstructurations de $\chi^{(2)}$.

Chapitre 5

Effet électro-optique dans les couches de Langmuir-Blodgett

Les couches de Langmuir-Blodgett constituent une étape naturelle avant de passer au système biologique. Montrer que le microscope permet de mesurer des déphasages dus à l'effet électro-optique dans des membranes phospholipidiques dopées est une étape nécessaire avant d'envisager d'aller plus loin.

Le résultat présenté ici a été obtenu à la toute fin de ce travail de thèse et ne sera donc pas détaillé. D'autre part, les échantillons sont délicats à réaliser, ce qui explique le caractère très préliminaire des résultats. Il a été obtenu en collaboration avec un groupe de physique des membranes phospholipidiques de l'Institut Charles Sadron à Strasbourg (Sigolène Lecuyer et Thierry Charitat).

5.1 Description des couches

5.2 Structure de l'échantillon

La membrane étudiée peut être considérée comme biomimétique. Il s'agit d'une bicouche de phospholipides DSPC (1,2-Distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine). C'est le système le plus proche des membranes biologiques auquel nous avons pu avoir accès. La couche a été dopée asymétriquement avec les colorants tensio-actifs non ioniques S107474, synthétisés par *Imperial Chemical Industries*, qui lui confèrent un caractère électro-optique [41, 88]. La structure du DSPC et du colorant est donnée en fig.5.1.

Le colorant S107474 a été retenu car il est non ionique (il forme seulement un zwitterion) et possède les propriétés tensio-actives nécessaires (taille des chaînes hydrophobes notamment) lui permettant de s'insérer dans une membrane de DSPC sans trop la perturber. Les iso-

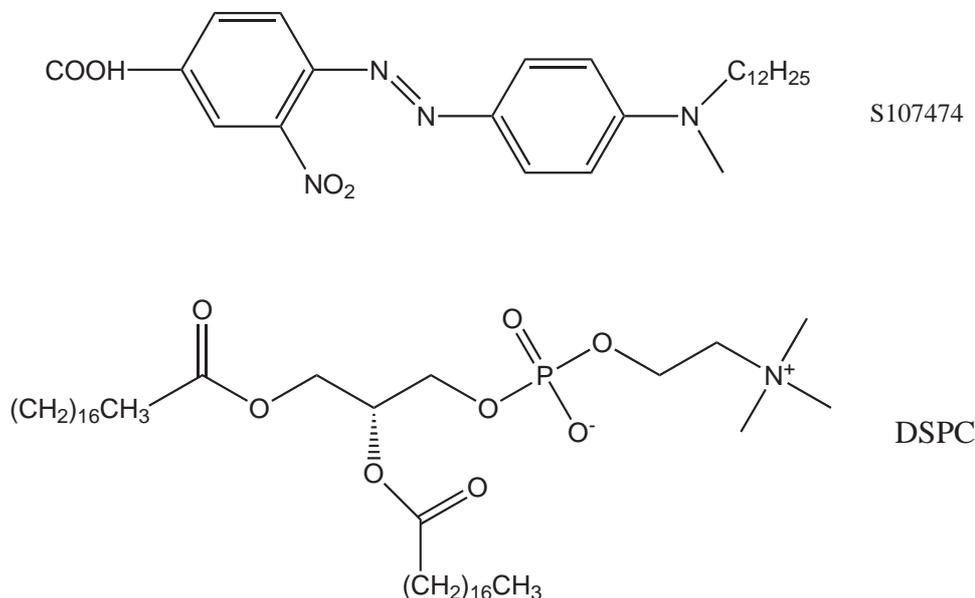


FIG. 5.1: Structures du phospholipide DSPC et du colorant S107474. La première structure est disponible commercialement. On a retenu un phospholipide qui forme assez facilement des membranes proches des systèmes biologiques. Le colorant a été synthétisé par ICI dans le cadre d'une collaboration avec le CNET de Bagnex. Il est amphiphile, ce qui permet de l'insérer dans une membrane de phospholipides sans contraintes. Il a été choisi non ionique pour éviter la migration du contre-ion à travers la membrane lorsqu'une différence de potentiel est appliquée.

thermes des couches monomoléculaires de DSPC ne sont pas modifiées par le dopage à 1% en colorant. Le caractère non ionique du colorant était préférable pour éviter une éventuelle migration du contre-ion à travers la membrane, ce qui aurait pu endommager la bicouche. On pourrait alors craindre que sous l'effet des champs appliqués (de l'ordre de 10^7 V.m^{-1}), les courants transmembranaires ne viennent détruire localement la membrane créant alors une chute de potentiel [89]. Nous avons recouvert la membrane d'une solution saline de chlorure de calcium pour assurer le contact avec l'électrode par un électrolyte.

Pour être utilisable dans le microscope électro-optique nous avons retenu un échantillon dont la structure est donnée en fig. 5.2. La membrane de phospholipides dopée est déposée sur une lame ITO. Une solution saline, donc conductrice, adapte la forme de la membrane à celle d'une contre-électrode en ITO. Le tout est maintenu par un espaceur en élastomère d'environ 1 mm d'épaisseur. Des petites pinces de cuivre assurent les contacts électriques.

On a pu observer la destruction de l'échantillon sous le potentiel de lecture appliqué. Il est très certainement relié à des fuites de courant à travers la membrane. On a également observé

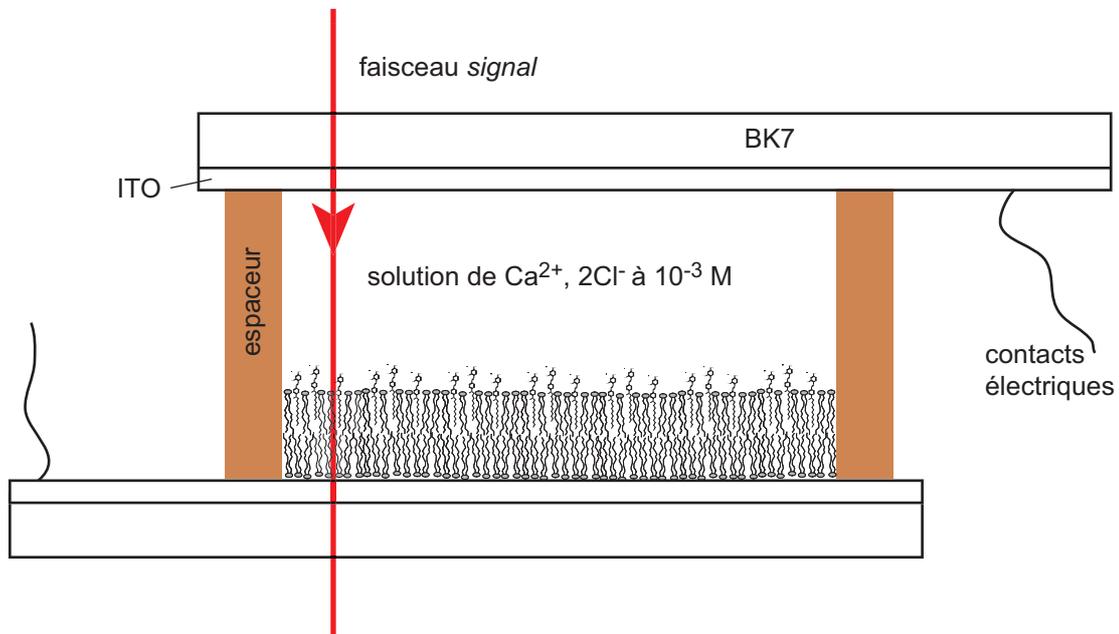


FIG. 5.2: Schéma de l'échantillon ; les échelles ne sont pas respectées. La membrane est déposée sur une lame de verre recouverte d'ITO. Seule une couche est dopée. Que ce soit la couche supérieure ou la couche inférieure importe peu. La contre électrode est formée d'une lame ITO et d'une solution saline conductrice. On ne peut en effet pas mettre deux lames ITO de part et d'autre de la membrane sans la détruire. On utilise donc un électrolyte liquide qui adopte les formes de l'ITO et de la membrane tout en étant conducteur. Le chlorure de calcium ne perturbe pas la membrane de DSPC à ces concentrations. La bicouche mesure 5 nm d'épaisseur et l'espaceur, un peu moins de 1 mm. Les lames de verres, de 1 mm d'épaisseur sont recouvertes de 100 nm d'ITO. La fenêtre est d'environ 1 cm.

la formation de domaines oranges et bruns, visibles à l'oeil nu, d'une taille caractéristique de 1 mm, sous une couche laiteuse. La membrane a été utilisable pendant un peu moins d'une heure.

5.3 Technique de fabrication

L'échantillon a été réalisé par le groupe de l'Institut Charles Sadron. Les lames d'ITO ainsi que l'espaceur en élastomère ont été nettoyés dans la cuve à ultrason pendant 10 min successivement au chloroforme, à l'acétone, à l'éthanol, puis à l'eau 18 M Ω . La cuve de dépôt de films (*Nima*) préalablement nettoyée et remplie d'eau salée au chlorure de calcium à la concentration de 10^{-3} mol.L $^{-1}$, un film de phospholipide est déposé en surface et la tension est asservie à 40 mN.m. On dépose la première couche de DSPC en sortant une lame ITO de la cuve. On retire alors le tensio-actif que l'on remplace par le même phospholipide

dopé à 1% en colorant (concentration moléculaire). On plonge la lame d'ITO : la membrane dopée est déposée (illustrations en fig. 5.3). On met alors en place, sans sortir l'échantillon, l'espaceur et la lame supérieure aussi délicatement que possible. Cette technique peut paraître un peu lourde, mais elle permet de réaliser des couches asymétriques [90, 91].

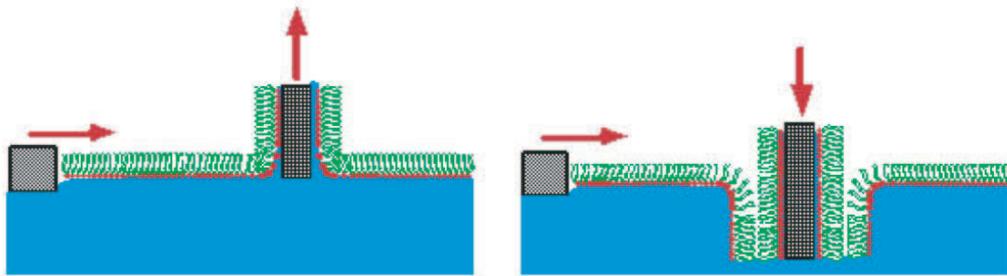


FIG. 5.3: Illustration de la méthode de fabrication de la membrane. En sortant le support de l'eau, on dépose une couche de phospholipides sur la lame. La partie hydrophile se dépose sur l'ITO. Ensuite, en la plongeant, les tensio-actifs se déposent faces hydrophobes en vis-à-vis. Schéma T. Charitat, ICS, Strasbourg.

On peut enfin sortir l'échantillon qui est prêt pour les mesures, mais reste extrêmement fragile. On place les pinces de part et d'autre et on le fixe dans le porte-échantillon d'où on évitera de le retirer. La fragilité de l'échantillon vient essentiellement du traitement que l'on fait subir à l'élastomère : pour qu'il ne pollue pas les membranes, on lui fait subir le même traitement qu'aux lames. Sa surface n'adhère alors plus très bien à l'ITO.

5.4 Résultat de la mesure

Le résultat de la première mesure est donné en fig. 5.5. On y a tracé le déphasage mesuré en fonction de l'amplitude de la tension d'entrée. Les points de mesure correspondent à des amplitudes crête-crête. Les mesures ont été faites à 150 kHz. On retrouve la linéarité attendue. Ces mesures étaient très bruitées. Les raisons ne sont pas connues, il est possible que ce soit lié au comportement de la membrane sous ce champ électrique. La détection synchrone a dû être réglée sur un temps d'intégration de 200 ms.

Un calcul d'ordre de grandeur, en utilisant les données de la littérature, nous indique que, sans considérer le problème de report de champ, nous devrions atteindre des amplitudes de déphasage de 10^{-3} rad à 4.10^{-3} pour une amplitude de tension de modulation de 20 V. Etant

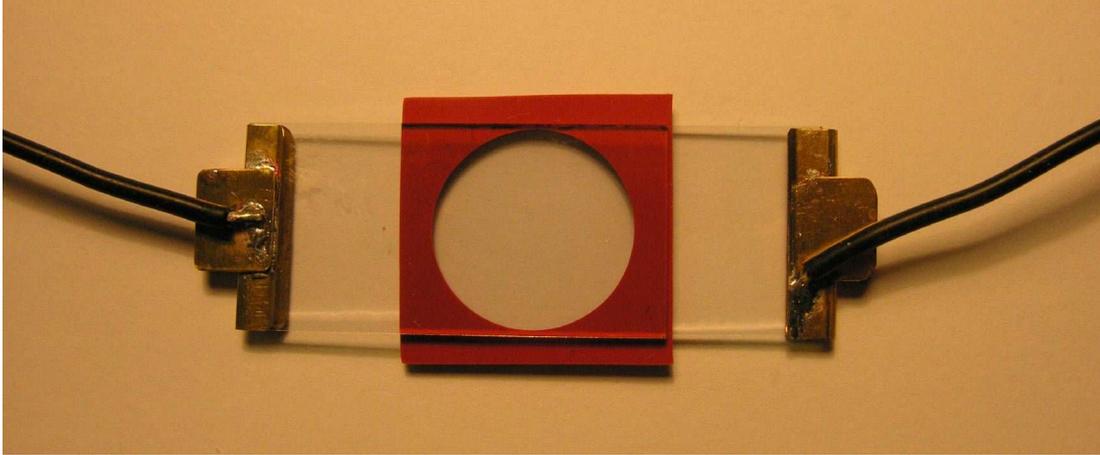


FIG. 5.4: Photographie de l'échantillon décrit en fig. 5.2. Les lames sont décalées pour pouvoir y poser les pincés en cuivre. Le séparateur en élastomère est vermillon. La faible concentration de colorant dans la membrane ne permet pas de la voir (elle se trouve sur la lame du dessous).

donné que la membrane forme un système RC, le facteur de report de champ est ici un problème de filtre passe bas du premier ordre. La géométrie de l'échantillon et la conductivité de l'électrolyte donne, pour la fréquence utilisée un facteur de report de champ d'au moins 1/30. On retrouve le bon ordre de grandeur, même si la mesure obtenue est supérieure à ce qui est attendu.

Des cartes n'ont pas pu être faites dans la mesure où l'amplitude de la réponse (à tension d'excitation constante) varie sur des distance caractéristiques de quelques centaines de micromètres. Un autre enregistrement fait à un point différent est donné en fig. 5.6.

La question de l'élimination des artefacts se pose. Comment peut-on s'assurer que le signal enregistré n'est pas le rayonnement des fils d'alimentation de l'échantillon qui serait capté par les photodiodes ?

Le microscope électro-optique offre une réponse simple à cette question : il suffit d'obturer la voie *signal* pendant la mesure. Toutes les informations sur les modifications de phase sont portées par le faisceau signal et uniquement par lui. D'autre part, le *signal* ne transporte aucune information relative à d'autres facteurs que les variations d'amplitude et de phase (intégrées sur cette voie). A chaque série de mesure, pour vérifier qu'on n'a pas affaire à un artefact, il suffit donc d'obturer le *signal* et de vérifier que la sortie de la détection synchrone s'annule.

Ajoutons que le graphe 5.7 y répond indirectement : quand une tension statique est ajoutée, on observe une modification de l'intensité de la réponse. Or, un champ statique n'est pas rayonné : au moins une partie du phénomène est donc propre à l'échantillon.

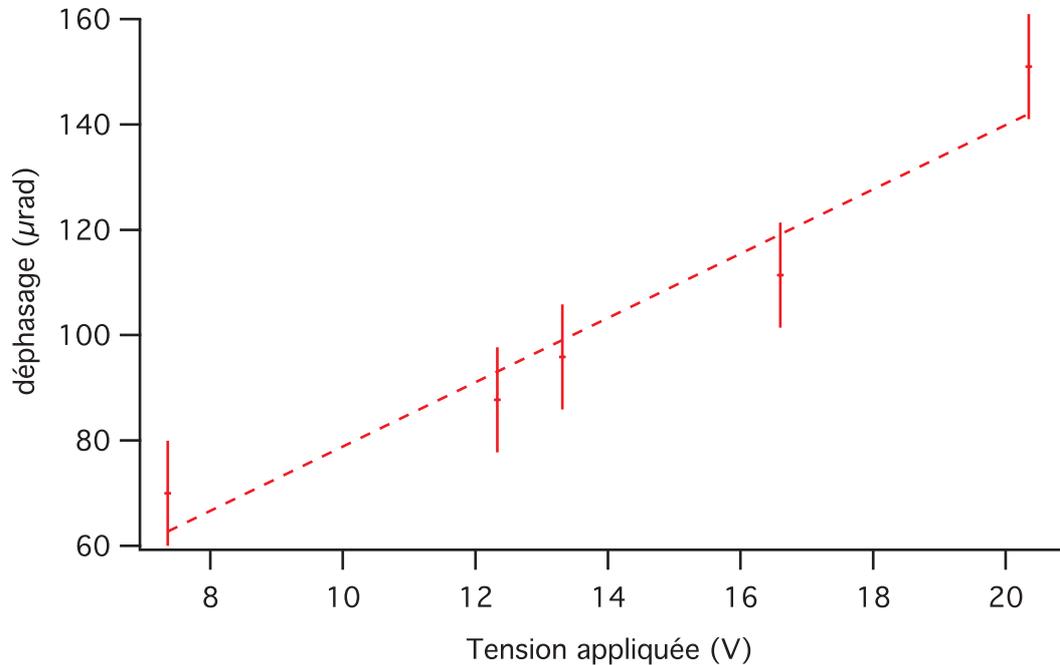


FIG. 5.5: Déphasage mesuré à travers la membrane phospholipidique dopée. Les grandeurs correspondent à des amplitudes crête-crête. La tension est modulée à 150 kHz. On intègre sur 200 ms.

La vie de l'échantillon ayant été très brève, le nombre de mesures a été très limité : mon principal souci était de vérifier qu'il ne s'agissait pas d'artefacts.

Il a cependant été possible de faire quelques autres enregistrements : examiner la variation de l'intensité de la réponse lorsqu'une composante continue est ajoutée à la tension alternative utilisée pour moduler le déphasage. Le résultat est donné en fig. 5.7. On voit une légère diminution de l'intensité de la réponse quand on augmente la composante continue. Il s'agit en tout état de cause d'une réorientation des phospholipides ou des chromophores dans la membrane. Un effet Kerr électrique pourrait être envisagé, cependant, il s'accompagnerait d'un déphasage à la fréquence double de la tension d'excitation. Il n'a pas été observé (la différence entre l'effet Kerr électrique, et la réorientation supposée pourrait tenir dans la vitesse de la réponse). On ne dispose pas encore d'assez de données pour tenter une interprétation quantitative sur cette mesure.

La brève durée de vie de la membrane a permis de vérifier que l'on enregistrerait bien de l'effet électro-optique dans la membrane. Au bout de 45 min environ, la détection synchrone indiquait l'absence de signal. En observant l'échantillon, on pouvait voir que celui-ci avait pris une texture laiteuse orangée : la bicouche phospholipidique était détruite.

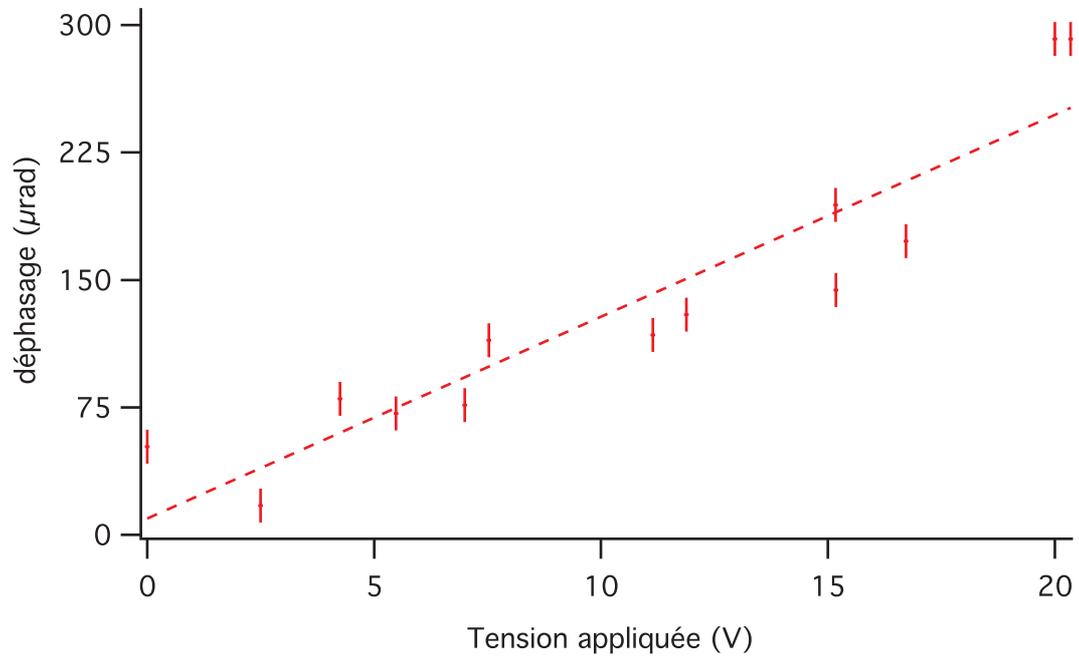


FIG. 5.6: Même enregistrement qu'en fig. 5.5. Les mesures ont été prises à quelques centaines de micromètres de l'enregistrement de la fig. 5.5. La pente est différente, ce qui peut s'expliquer de deux façons (non exclusives) : soit l'effet électro-optique y est plus important, soit le report de champ sur la membrane est meilleur.

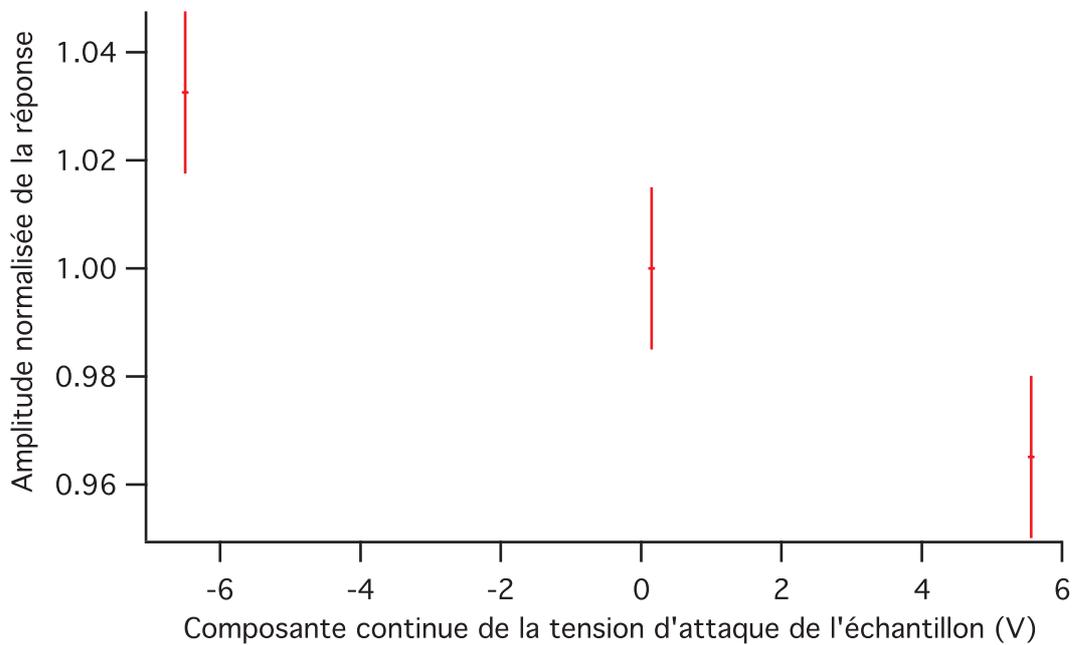


FIG. 5.7: *Intensité normalisée de la réponse en déphasage à une tension alternative en fonction de la composante continue de la tension de modulation. Il est encore trop tôt pour tenter une interprétation quantitative sérieuse. Il y a cependant tout lieu de penser qu'il s'agit d'une modification de la statistique d'orientation sous l'effet orientateur du champ électrique statique.*

Chapitre 6

Perspectives et méthodes pour des applications à la biologie

L'application du microscope électro-optique à l'électro-physiologie est très prometteuse : une lecture sans contact avec une résolution micrométrique des potentiels d'action permettrait d'accéder à des différences de potentiels transmembranaires dans des zones pour l'instant inaccessibles aux méthodes de patch-clamp. La microscopie électro-optique constituerait alors une alternative, ou tout le moins un complément utile, à la microscopie par génération de seconde harmonique. Un certain nombre de difficultés devront toutefois être surmontées. Elles proviennent indirectement de la faible valeur du $\chi^{(2)}$ des membranes dopées et de la forme *a priori* non périodique du potentiel. L'intérêt du microscope en biologie est détaillé dans ce chapitre. Les verrous technologiques sont identifiés, des voies de solution sont proposées.

6.1 Principe d'application à l'électrophysiologie

6.1.1 L'idée générale

Le déphasage par effet électro-optique présente l'avantage, dans certaines configurations, d'être indépendant de l'épaisseur du matériau utilisé. Ainsi, une différence de potentiel aux bornes d'une membrane de quelques nanomètres d'épaisseur peut induire le même déphasage qu'un cristal centimétrique à $\chi^{(2)}$ équivalents.

L'utilisation de l'effet électro-optique comme sonde de potentiel transmembranaire est alors envisageable si la membrane a un $\chi^{(2)}$ suffisant. Un minimum de 1 pm.V^{-1} est nécessaire pour que l'effet soit mesurable. Avec un tel $\chi^{(2)}$, les techniques développées ici ne permettront pas d'aller en deçà d'une différence de potentiel transmembranaire de 1 mV.

La question suivante se pose alors : les membranes biologiques ont-elles un effet électro-optique

endogène suffisant ou doivent-elle être dopées ? En l'absence de travaux sur ce point, la question est débattue. D'une part, la non centrosymétrie des membranes biologiques, que celle-ci résulte de la différence de potentiel transmembranaire moyenne, des phospholipides qui ne sont pas en concentrations et en espèces identiques de chaque côté, ou des nombreuses molécules insérées asymétriques dans la membrane, laisse penser qu'un effet électro-optique intrinsèque est envisageable avant tout dopage.

D'autre part, si un effet électro-optique existait dans les membranes, on aurait toutes les chances d'y observer de la génération de seconde harmonique. Les non linéarités nécessaires pour chacun des phénomènes dans les conditions actuelles d'observation (microscopie électro-optique envisagée d'une part et génération de seconde harmonique obtenue grâce à un laser femtoseconde dans le proche infrarouge d'autre part) sont du même ordre de grandeur. Or on n'a jamais observé de génération de seconde harmonique dans une membrane biologique isolée non dopée. Tout semble donc indiquer que l'observation d'effet électro-optique requerra donc de doper les membranes. De tels colorants existent et ont été mis à profit pour des études de génération de seconde harmonique [34–37] mais leur marge de progrès (robustesse, efficacité, solubilité, non toxicité, photostabilité, etc.) reste considérable. Le $\chi^{(2)}$ d'une membrane biologique est de toute façon inférieur à 1 pm.V^{-1} .

6.1.2 Effet électro-optique dans une membrane dopée

Considérons un modèle *très simple* de membrane dopée dans lequel les chromophores sont inclinés d'un angle constant θ_0 par rapport à la normale de la membrane (fig. 6.1). Les colorants sont donc répartis sur un cône de demi angle au sommet θ_0 . Ce modèle rudimentaire, qui est cependant assez couramment utilisé pour modéliser des distributions moléculaires dans des couches monomoléculaires, donne des résultats physiques suffisants pour estimer le potentiel du microscope électro-optique pour application à la biologie.

L'expression 2.18 devient dans le cas d'une membrane d'épaisseur e dopée par une densité surfacique N_s de chromophores.

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = \frac{N_s}{e} f^2(\omega) f(\Omega) \sum_{I,J,K} \iint \beta_{IJK} \cdot P(\check{\Omega}) (I, i) \cdot (J, j) \cdot (K, k) d\check{\Omega} \quad (6.1)$$

Dans le modèle retenu, la probabilité d'orientation vaut :

$$P(\check{\Omega}) = \frac{P(\theta)}{2\pi} = \frac{\delta(\theta - \theta_0)}{2\pi \sin \theta_0} \quad (6.2)$$

Le dénominateur est simplement un facteur de normalisation. L'expression 6.1 devient, avec la probabilité d'orientation retenue, pour des chromophores « batonnets » :

$$\chi_{ijk}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = \frac{N_s}{e} f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\iint \delta(\theta - \theta_0) (I, i) \cdot (J, j) \cdot (K, k) d\theta d\varphi}{2\pi} \quad (6.3)$$

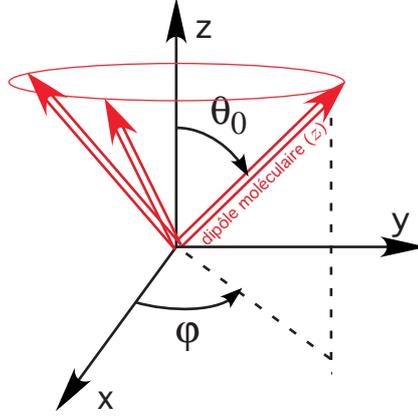


FIG. 6.1: Angles relatifs à un modèle d'orientation conique des colorants dans la membrane. Le chromophore présente un angle θ_0 constant avec la normale de la membrane.

Dans cette dernière expression, $\sin \theta_0$ a été simplifié car il compense le jacobien pour la seule valeur non nulle de l'intégrand ($\theta = \theta_0$).

La symétrie macroscopique ($C_{\infty v}$ suivant z) est identique à celle du polymère orienté sous champ électrique présenté dans le Chapitre 4. On a donc deux valeurs de $\chi^{(2)}$ indépendantes : $\chi_{zzz}^{(2)}$ et $\chi_{xxz}^{(2)} = \chi_{yyz}^{(2)} = \chi_{yzy}^{(2)} = \chi_{xzx}^{(2)}$.

$$\chi_{zzz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = \frac{N_s}{e} f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\iint \delta(\theta - \theta_0) \cos^3 \theta d\theta d\varphi}{2\pi} \quad (6.4)$$

$$= \frac{N_s}{e} f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \cos^3 \theta_0 \quad (6.5)$$

et

$$\chi_{xxz}^{(2)}(\omega + \Omega; \omega, \Omega) = \frac{N_s}{e} f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\iint \delta(\theta - \theta_0) (\cos \varphi \sin \theta)^2 \cos \theta d\theta d\varphi}{2\pi} \quad (6.6)$$

$$= \frac{N_s}{e} f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ} \frac{\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0}{2} \quad (6.7)$$

On en déduit, au moyen de la relation 4.17, le tenseur électro-optique :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & r_{13} \\ 0 & 0 & r_{13} \\ 0 & 0 & r_{33} \\ 0 & r_{13} & 0 \\ r_{13} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (6.8)$$

avec :

$$r_{13} = -\frac{N_s f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{e n^4} \sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \quad (6.9)$$

$$r_{33} = -\frac{N_s f^2(\omega) f(\Omega) \beta_{ZZZ}}{e n^4} 2 \cos^3 \theta_0 \quad (6.10)$$

On retrouve la même forme de tenseur que pour un polymère orienté, mais avec un rapport $\frac{r_{13}}{r_{33}}$ qui dépend de θ_0 .

On a $\frac{r_{13}}{r_{33}} = \frac{2}{\tan \theta_0}$. On obtient le rapport donné par une orientation électrostatique $\frac{r_{13}}{r_{33}} = \frac{1}{3}$ pour l'angle $\theta_0 = 39,2^\circ$.

6.1.3 Déphasage en traversant une membrane

Calculons le déphasage subi par un faisceau traversant la membrane éventuellement inclinée sur le plan. Les notations utilisées sont données en fig. 6.2.

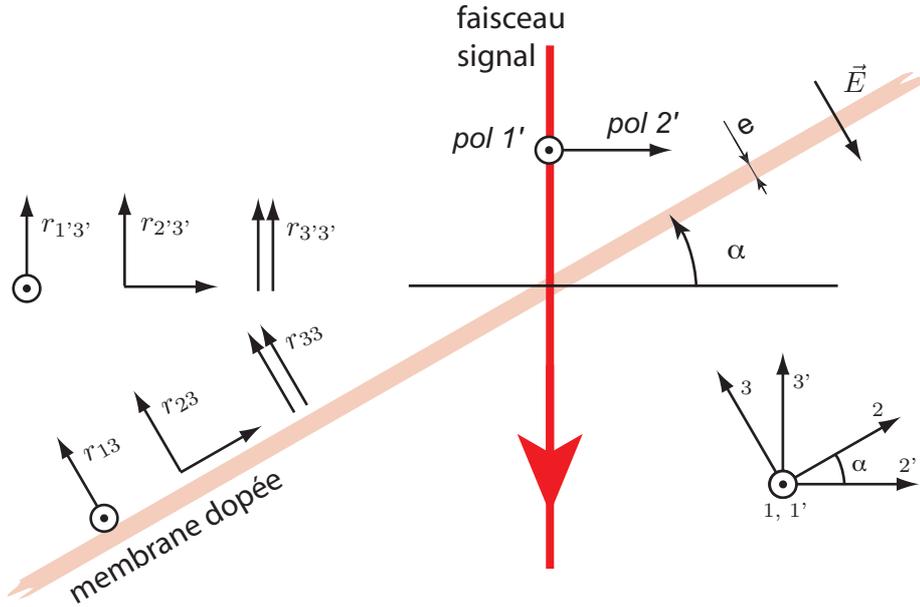


FIG. 6.2: Notations utilisées dans le calcul du déphasage subi par un faisceau traversant une membrane dopée.

Pour la polarisation i , le déphasage est donné par :

$$\Delta\varphi_i = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^{\frac{e}{\cos \alpha}} (n_i(E) - n_i(0)) dl \quad (6.11)$$

On considère l'indice et le champ uniformes sur l'épaisseur de la membrane, l'expression

précédente devient alors¹ :

$$\Delta\varphi_i = \frac{2\pi}{\lambda} \frac{e}{|\cos \alpha|} \Delta n_i(E) \quad (6.12)$$

$$= -\frac{2\pi}{\lambda} \frac{e}{|\cos \alpha|} 2n_i^3 \Delta \left(\frac{1}{n_i^2} \right) (E) \quad (6.13)$$

$$(6.14)$$

Les calculs de changement de repère sont détaillés en Annexe B.
Pour la polarisation 1', on a :

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{1'}^2} \right) (E) = -r_{13} E \quad (6.15)$$

Ce qui donne le déphasage :

$$\Delta\varphi_{1'} = \frac{4\pi}{\lambda} \frac{e}{|\cos \alpha|} n^3 r_{13} E \quad (6.16)$$

$$= -\frac{4\pi}{\lambda} \frac{N_s}{e} \frac{f^2(\omega)f(\Omega)}{n} \beta_{ZZZ} \frac{\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0}{|\cos \alpha|} V \quad (6.17)$$

Et pour la polarisation 2' :

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{2'}^2} \right) (E) = -(\cos^2 \alpha r_{23} + \sin^2 \alpha r_{33}) E \quad (6.18)$$

D'où le déphasage :

$$\Delta\varphi_{2'} = \frac{4\pi}{\lambda} V n^3 \frac{\cos^2 \alpha r_{23} + \sin^2 \alpha r_{33}}{|\cos \alpha|} \quad (6.19)$$

$$= -\frac{4\pi}{\lambda} \frac{N_s}{e} \frac{f^2(\omega)f(\Omega)}{n} \beta_{ZZZ} \frac{\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \cos^2 \alpha + 2 \cos^3 \theta_0 \sin^2 \alpha}{|\cos \alpha|} V \quad (6.20)$$

On peut résumer ces résultats comme ceci :

$$\Delta\varphi_{1'} = \Upsilon \frac{\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0}{|\cos \alpha|} V \quad (6.21)$$

$$\Delta\varphi_{2'} = \Upsilon \frac{\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \cos^2 \alpha + 2 \cos^3 \theta_0 \sin^2 \alpha}{|\cos \alpha|} V \quad (6.22)$$

$$\text{avec } \Upsilon = -\frac{4\pi}{\lambda} \frac{N_s}{e} \frac{f^2(\omega)f(\Omega)}{n} \beta_{ZZZ} \quad (6.23)$$

¹ L'apparition de la valeur absolue peut sembler étonnante : une fonction non analytique apparaît dans un modèle très simple. En fait, comme le \cos est au dénominateur, cela ne la rend pas moins analytique. D'autre part, si on améliore le modèle, on se rend compte que les divergences apparaissant à $\alpha = \pm \frac{\pi}{2}$ ne sont pas raisonnables, le déphasage doit varier continûment en ces points, ce qui est bien plus proche du résultat obtenu avec la valeur absolue.

On obtient les déphasages donnés en fig 6.3. On voit qu'il existe un angle d'insertion des chromophores pour lequel le déphasage engendré est maximum. Cette propriété est indépendante du modèle utilisé (d'une manière générale l'orientation des chromophores la plus efficace pour l'optique non linéaire n'est pas intuitive : elle requiert des angles non triviaux). Il est de $54,7^\circ$ pour la polarisation 1' quelque soit l'angle d'incidence du faisceau et pour la polarisation 2' aux incidences presque normales. En « lumière rasante » le déphasage est plus important.

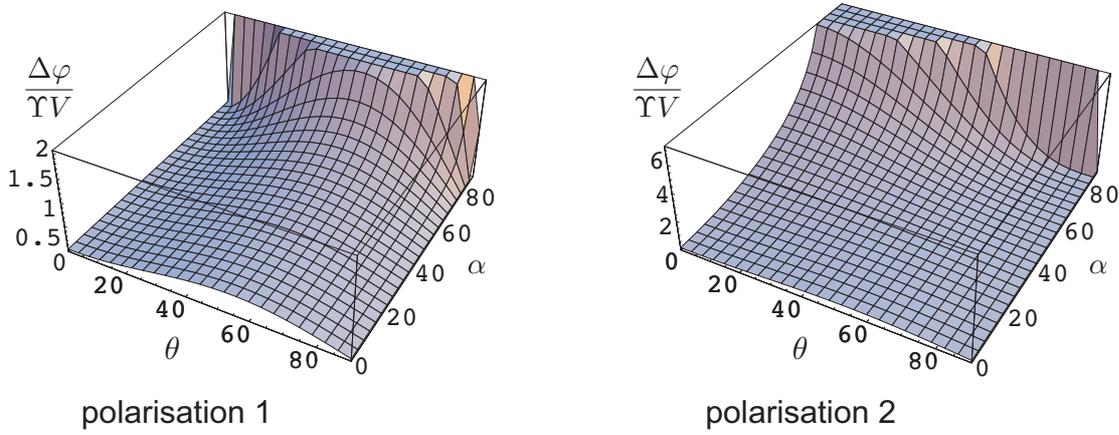


FIG. 6.3: Déphasage du faisceau laser (en valeur absolue) selon chacune des polarisations données en fig. 6.2 en fonction de l'angle d'incidence du faisceau sur la membrane et de l'angle d'insertion des chromophores.

6.1.4 Déphasage en traversant un tube modélisant un axone

Considérons un modèle de cellule très simple. Le faisceau traverse deux membranes successives sous des angles α et $\pi - \alpha$. On considère maintenant que $\alpha \in [-\frac{\pi}{2}; \frac{\pi}{2}]$.

Dans ce cas, le déphasage total vu par la polarisation 1 est donné par :

$$\Delta\varphi_{1' \text{ cellule}} = \Upsilon \sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \left(\frac{1}{|\cos \alpha|} + \frac{1}{|\cos(\pi - \alpha)|} \right) V \quad (6.24)$$

D'où :

$$\Delta\varphi_{1' \text{ cellule}} = 4\Upsilon \frac{\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0}{\cos \alpha} V \quad (6.25)$$

Et pour la polarisation 2 :

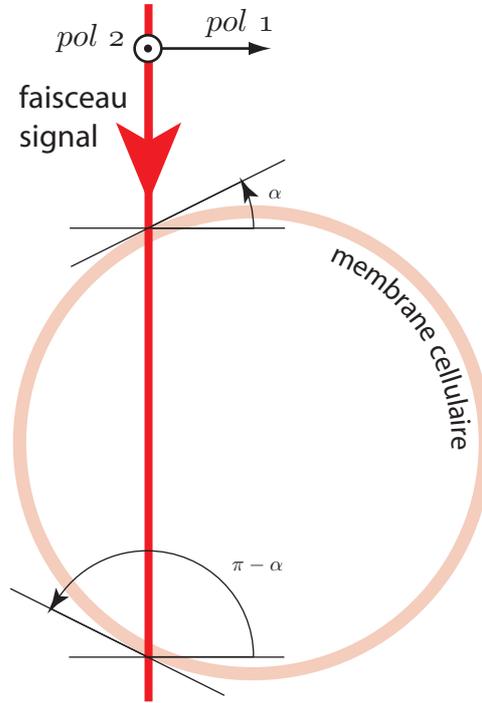


FIG. 6.4: Notations utilisées pour le calcul du déphasage subi par un faisceau traversant une cellule considérée cylindrique, donc deux membranes aux angles α et $\pi - \alpha$.

$$\Delta\varphi_{2'} \text{ cellule} = \Upsilon V \left[\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \left(\frac{\cos^2 \alpha}{|\cos \alpha|} + \frac{\cos^2(\pi - \alpha)}{|\cos(\pi - \alpha)|} \right) + 2 \cos^3 \theta_0 \left(\frac{\sin^2 \alpha}{|\cos \alpha|} + \frac{\sin^2(\pi - \alpha)}{|\cos(\pi - \alpha)|} \right) \right] \quad (6.26)$$

D'où :

$$\Delta\varphi_{2'} \text{ cellule} = 4\Upsilon (\sin^2 \theta_0 \cos \theta_0 \cos \alpha + 2 \cos^3 \theta_0 \sin \alpha \tan \alpha) V \quad (6.27)$$

L'effet en traversant deux membranes est simplement le double de l'effet pour une seule membrane. C'est une force de l'effet électro-optique pour ce problème : le microscope ne sera pas aveugle « au milieu » de la cellule. Contrairement à la génération de seconde harmonique où les contributions des membranes interfèrent destructivement, l'effet électro-optique se traduit par une simple variation de phase. Les deux membranes sont symétriques pour l'orientation des chromophores, mais aussi pour l'orientation du champ électrique, le déphasage est donc le même à chaque fois : on n'a pas le problème de la génération de seconde harmonique qui voit les deux membranes symétriques. Bien entendu, en « lumière rasante », l'effet est plus important puisque le parcours du faisceau dans la membrane est plus long. Notons que le modèle est particulièrement simpliste. Le diamètre d'un axone est de quelques

micromètres. L'ouverture numérique du faisceau étant 0,6, sur la traversée d'un axone, le faisceau « s'ouvre » de quelques microns aussi. On doit donc reprendre le modèle précédent avec une ouverture numérique non nulle. Dans ce cas, le problème n'est plus analytique, il faut alors procéder à des calculs numériques. D'une manière générale, on retiendra que les divergences disparaissent pour un faisceau tangentiel à la membrane. A cela s'ajoute la structure exacte de l'axone. Les deux membranes se faisant face ne sont pas forcément symétriques en inclinaison.

Une simulation de la répartition de l'amplitude modulée est donnée en fig. 6.5. La polarisation du faisceau est identique sur toute la surface de l'échantillon constitué d'un « coude » cylindrique. La sensibilité à la polarisation n'empêchera pas la lecture du potentiel, même si elle la perturbera. Des solutions telles que l'utilisation de polarisations circulaires permettront d'améliorer l'uniformité de l'image.

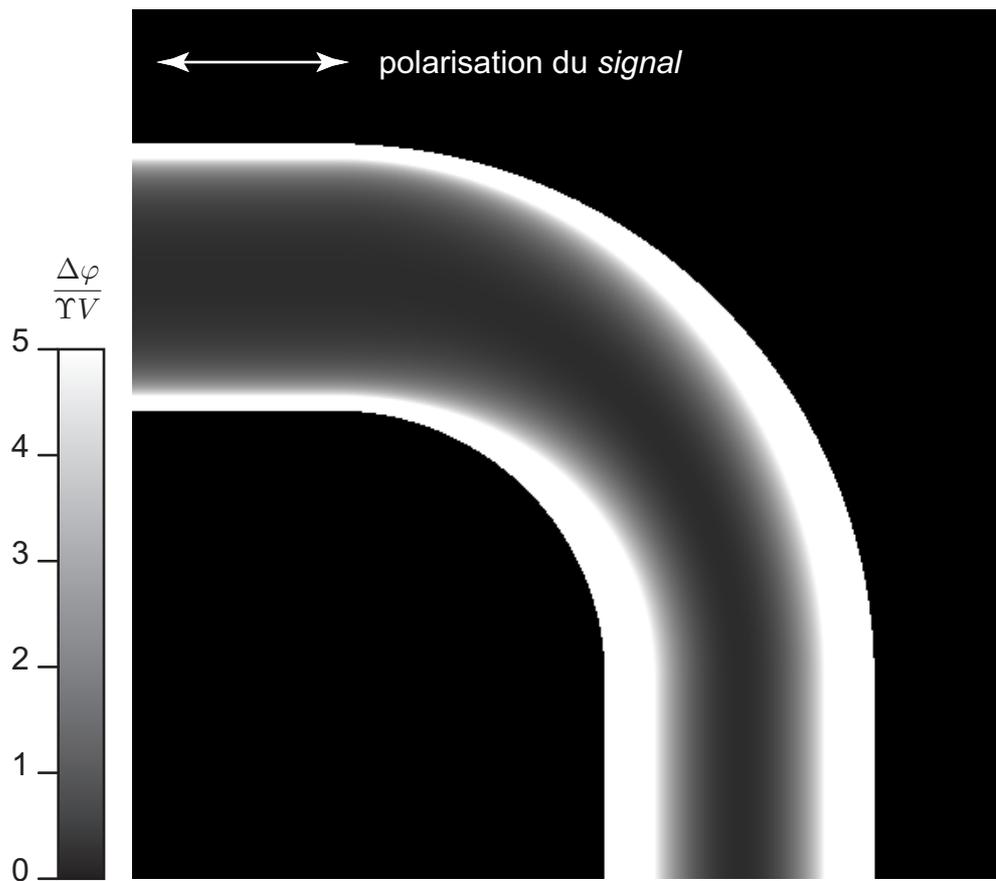


FIG. 6.5: Simulation de l'amplitude du déphasage sur un coude de neurone pour un potentiel transmembranaire indépendant de la position ($\theta_0 = 35^\circ$).

Nous avons considéré ici que le champ électrique n'avait pas d'incidence sur l'orientation des chromophores dans la membrane. Ce n'est bien entendu pas le cas [33]. Au terme linéaire en V qui apparaît dans cette partie, il doit donc s'ajouter un terme en V^2 qui pourrait être observable dans la mesure où il modifie les composantes du tenseur électro-optique d'environ 10% pour les valeurs de champs électriques qui nous concernent. Une étude préliminaire de l'influence de ce terme supplémentaire peut être effectuée en imposant une variation de potentiel alternative à la pulsation Ω à une cellule « clampée » et en mesurant la réponse à 2Ω . Le microscope électro-optique peut faire ce type de mesures sans modification, il suffit de demander à la détection synchrone de se « caler » sur la fréquence double de la référence.

6.1.5 Ordre de grandeur du déphasage

Un calcul d'ordre de grandeur est nécessaire pour voir si le phénomène est abordable avec le microscope électro-optique. Pour cela, on reprend les conditions décrites pour l'observation de génération de seconde harmonique dans les membranes de la réf. [42] (concentration de colorants de $1,5 \cdot 10^{16} \text{ m}^{-2}$, épaisseur de membrane 3,7 nm, indice 1,45) en tenant compte des corrections de longueur d'onde avec un modèle à deux niveaux (simple mais suffisant) données en réf. [92].

Les conditions de la réf. [42] ne sont pas optimales pour des applications réelles à la biologie : la concentration en colorant (Di-6-ASPBS) est très élevée (de l'ordre d'une molécule sur 100 dans la membrane extérieure) et les solvants du colorant sont des mélanges éthanol / DMSO. La résistivité des membranes neuronales est gravement modifiée pour une concentration en DMSO [19] approchant 0,1% ou une concentration en éthanol approchant 1%².

Des molécules tensio-actives solubles dans de l'eau salée à 33 g.L^{-1} avec une hyperpolarisabilité plus forte, absorbant vers 550 nm, sont en cours de développement en collaboration avec le laboratoire de chimie de l'École normale supérieure de Lyon (Olivier Maury). Elles permettront d'obtenir la même efficacité non linéaire pour la membrane avec des concentrations moindres et des solvants à propriétés physiologiques.

Le Di-6-ASPBS a un β de $1,1 \cdot 10^{-36} \text{ SI}$ à 880 nm et absorbe à 485 nm. L'expression de l'hyperpolarisabilité valable pour une molécule linéaire s'accordant... mot malheureux... avec un modèle à deux niveaux sans absorption [92] est :

$$\beta_{ZZZ}(\omega_3, \omega_1, \omega_2) = \frac{e^3 |\mu_{01}|^2 (\mu_{11} - \mu_{00})}{\hbar^2} \frac{\omega_0^2 (3\omega_0^2 + \omega_1\omega_2 - \omega_3^2)}{(\omega_0^2 - \omega_1^2) (\omega_0^2 - \omega_2^2) (\omega_0^2 - \omega_3^2)} \quad (6.28)$$

..... définir omega 0, tous les mu,00, 01, 11 On a donc la relation suivante entre une hyperpolarisabilité électro-optique à la pulsation ω_{ϵ_0} et une hyperpolarisabilité de génération

² Ce qui correspond à 8 g.L^{-1} de sang environ, avec les conséquences que l'on sait...

de seconde harmonique aux fréquences ω_{GSH} et $2\omega_{\text{GSH}}$:

$$\frac{\beta_{ZZZ}^{\text{éo}}}{\beta_{ZZZ}^{\text{GSH}}} = \frac{(3\omega_0^2 - \omega_{\text{éo}}^2)(\omega_0^2 - \omega_{\text{GSH}}^2)(\omega_0^2 - 4\omega_{\text{GSH}}^2)}{3\omega_0^2(\omega_0^2 - \omega_{\text{éo}}^2)^2} \quad (6.29)$$

L'application numérique donne $\beta^{\text{éo}}(632, 8\text{nm}) = -0,71 \beta^{\text{GSH}}(880\text{nm})$ (le signe $-$ n'a pas d'importance, il indique juste que ω_{GSH} et $2\omega_{\text{GSH}}$ sont de part et d'autre de la fréquence de résonance). D'où un $\beta^{\text{éo}}(632, 8\text{nm}) = 0,78.10^{-36}$ SI pour cette molécule.

Avec l'hypothèse de mêmes molécules faisant un angle de 35° par rapport à la normale de la membrane, l'expression 6.25 donne :

$$\Delta\varphi_{1,2}(\alpha = 0) = 5,0.10^{-5}V \quad (6.30)$$

Ainsi, une différence de potentiel de 1 mV donne un déphasage de 5.10^{-8} rad dans la zone la moins sensible de la cellule. Le microscope électro-optique présentera un intérêt pour des applications à la biologie quand une sensibilité de 5.10^{-7} rad, soit 10 mV, sera atteinte dans les conditions d'échantillons biologiques. Avant cette résolution, on pourra toutefois voir des effets sur les bords des neurones.

6.2 Contraintes propres à l'électrophysiologie

Contrairement aux échantillons optoélectroniques, dont les signaux sont parfaitement reproductibles, les systèmes biologiques ne le sont que rarement. D'autre part, on peut exciter les composants optoélectroniques à des fréquences au delà de la coupure de la boucle de verrouillage de la phase optique. Par contre, la réponse des systèmes biologiques a lieu à des fréquences caractéristiques bien inférieures (de quelque Hz à quelques kHz) et n'est pas sinusoïdale [17–19]. Sur la structure du signal, il faudra alors travailler sans détection synchrone telle qu'elle est montée jusqu'à présent, mais une modulation de la réponse électrophysiologique est nécessaire pour décaler le signal au delà de la fréquence de coupure de l'asservissement. La solution proposée est détaillée en partie 6.3.

Pour les ordres de grandeur géométriques, les contraintes naturelles sont moins exigeantes. La taille du soma d'un neurone « habituel » de vertébré est de l'ordre de 8 à 10 μm et les prolongements les plus fins ont une taille d'environ 1 μm . On pourra donc accéder à des zones d'intérêt sur plusieurs neurones simultanément sans modification particulière du microscope électro-optique.

Notons au passage que dans les conditions d'exploitation des échantillons sous le microscope, la durée de vie d'un prélèvement histologique ou d'une culture est d'au moins deux heures. Une série de mesures électrophysiologiques demande (hors pose du patch-clamp) de quelques

minutes à 1h30 pour les plus longues. Sur ce point, l'environnement de l'échantillon sera semblable à celui d'un patch-clamp, à ceci près, qu'on gagne le temps, non négligeable, d'installation des électrodes.

6.3 La détection synchrone multiplexante

6.3.1 Principe théorique

Les signaux à visualiser ont une fréquence caractéristique qui s'étale de quelques Hz à quelques kHz tout au plus. L'amplitude des variations de phase étant inférieure à quelques 10^{-6} rad, le signal à mesurer risque d'être noyé sous le bruit. Ce problème courant en physique peut être résolu par différentes méthodes. Ici, je propose une technique proche du principe de la détection synchrone.

Les schémas de la fig. 6.6 en illustrent l'idée générale. Sur le premier schéma est représenté le spectre de bruit du microscope électro-optique non asservi. D'une part, le signal est noyé sous le bruit (cadre 1). D'autre part, l'asservissement de la longueur relative des bras du microscope élimine toutes les variations de phase de fréquences inférieures à sa fréquence de coupure (cadre 2). Pour garantir un fonctionnement correct, la fréquence de coupure f_c de la boucle à verrouillage de phase optique est fixée à environ 20 kHz. Toutes les variations de phase venant des modifications du potentiel transmembranaire sont donc éliminées par l'asservissement comme cela est indiqué sur le cadre 2. Une solution consiste à déplacer la fréquence du signal à mesurer au delà du bruit et de la fréquence de coupure de l'asservissement. Pour cela, on doit moduler le signal (cadre 3). Le rapport signal à bruit devient alors suffisant pour permettre une mesure et l'asservissement n'élimine plus les variations de phase qui nous intéressent (cadre 4).

La modulation du signal demande soit de moduler la grandeur à mesurer, soit de multiplier cette valeur par une « porteuse ». La première possibilité, employée dans les parties précédentes de cette thèse, n'est pas applicable dans ce cas car le signal à mesurer est déterminé par l'échantillon biologique et on ne peut en aucun cas agir dessus sans perturber l'échantillon. On doit donc utiliser la seconde solution. Notons que sonder l'échantillon avec un signal modulé (en phase ou en amplitude) ne fonctionne pas car, dans ce cas, on ajouterait simplement des composantes de fréquence supérieure au spectre de bruit, mais on ne modulerait pas le signal. La solution proposée pour moduler le signal permet de combiner la modulation à une cartographie de l'échantillon en temps réel. Le principe a été breveté sous le nom de *Détection synchrone multiplexante* [93] en complément du brevet *Mesure électro-optique de champs électriques* [94].

Au moyen d'un défecteur acousto-optique, on déplace le point de mesure du déphasage en

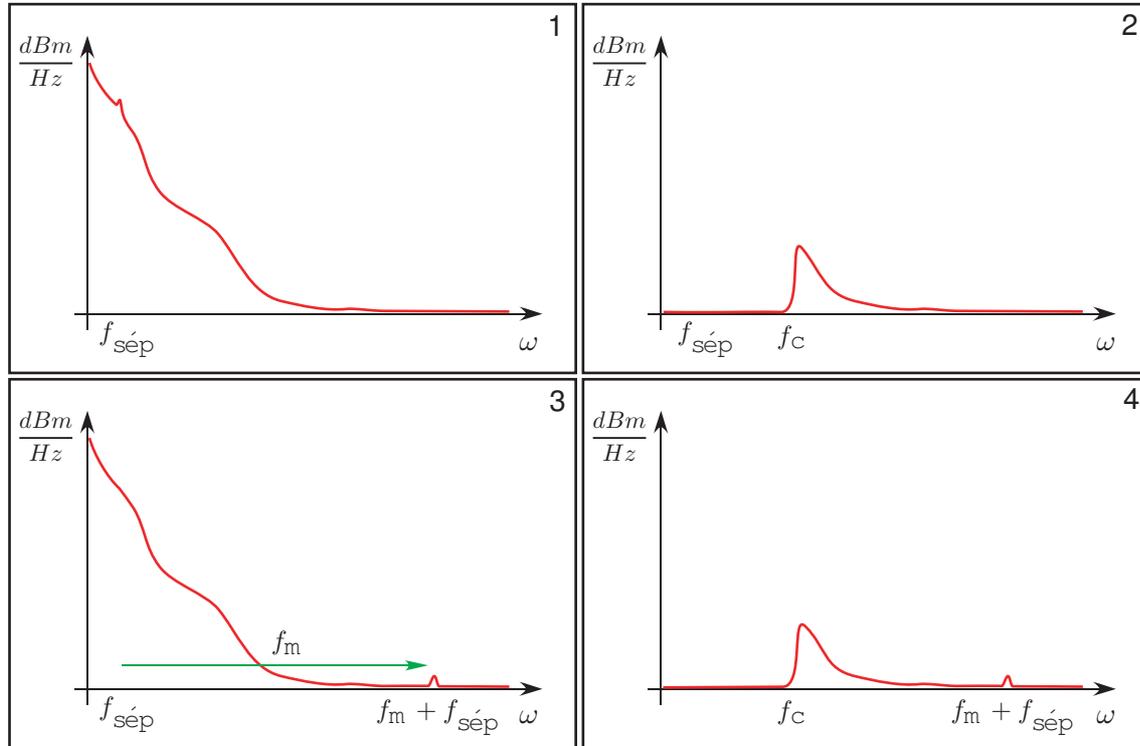


FIG. 6.6: Décalage en fréquence nécessaire pour la détection synchrone. 1. Le signal de fréquence caractéristique $f_{\text{sép}}$ est noyé sous le bruit. 2. La boucle à verrouillage de phase optique élimine de toute façon toutes les variations de fréquence inférieures à sa fréquence de coupure. 3. Il nous faut donc moduler le signal électrophysiologique pour l'amener au-delà du bruit. 4. L'asservissement n'éliminera pas le signal modulé.

surface de l'échantillon (fig. 6.7). L'utilisation de ce type de déflecteur permet de travailler à

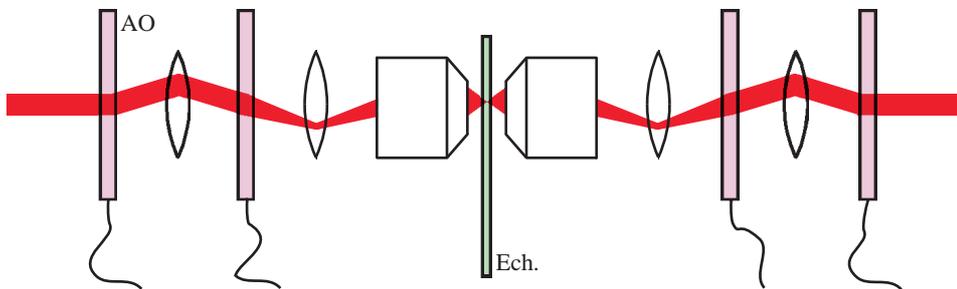


FIG. 6.7: Schéma de principe du système de balayage à déflecteurs acousto-optiques. La détection synchrone multiplexante demande un balayage très rapide avec une très grande précision que seuls des déflecteurs acousto-optiques pilotés par des synthétiseurs de fréquence de très bonne qualité peuvent générer.

des fréquences allant jusqu'au MHz pour ce type d'application. La reproductibilité du déplacement est garantie par la qualité des synthétiseurs de fréquence qui commandent les cristaux acousto-optiques.

Explicitons le principe de fonctionnement de la détection synchrone multiplexante.

Un modèle d'échantillon biologique est donné en fig. 6.8. Admettons que l'on s'intéresse aux

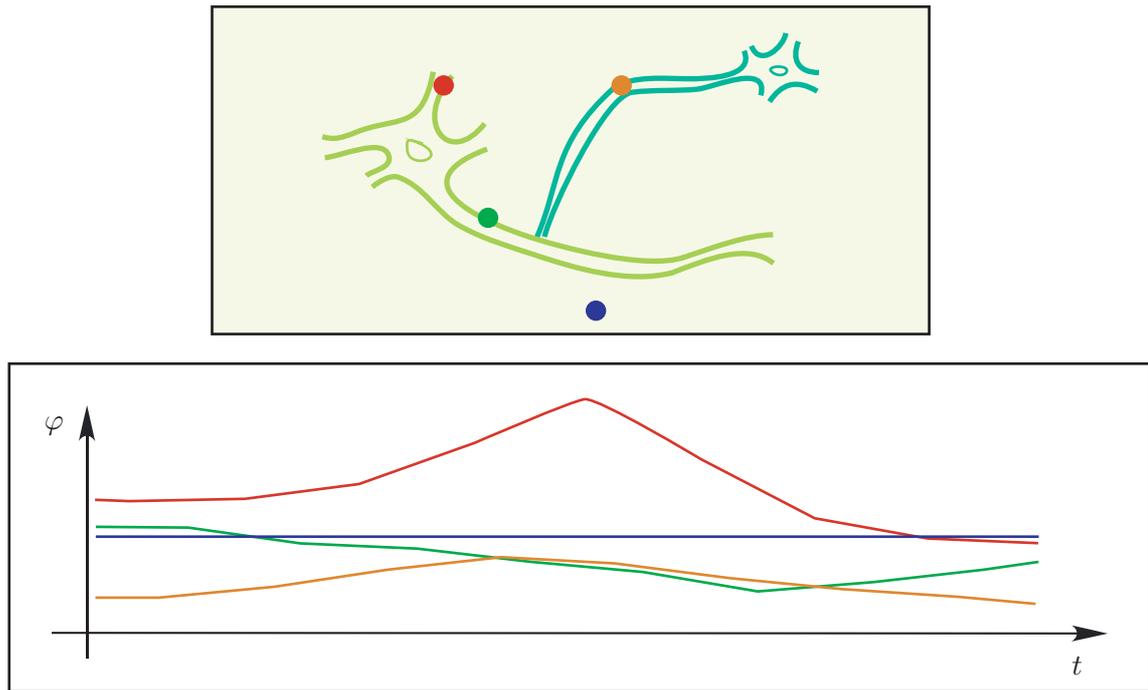


FIG. 6.8: Variations de phases en différents points d'intérêts d'un échantillon biologique

variations de potentiel transmembranaire, donc de phase, aux points représentés en *rouge*, *orange* et *vert* sur cette figure. On ajoute un point de référence où la phase est fixe, représenté ici en *bleu*. Les variations de phase relatives à chacun de ces points sont données en bas de la fig. 6.8.

Les déflecteurs sont alors programmés pour déplacer cycliquement le « spot » à la surface de l'échantillon sur les points rouge, orange, vert et bleu à une fréquence de l'ordre du MHz. Comme à chaque instant, le déflecteur se trouve en un point précis, le faisceau subit le déphasage dû au potentiel transmembranaire en ce point. On a donc la succession de déphasages donnée en fig. 6.9, ce qui conduit à la structure de variation de phase donnée en fig. 6.10. Les fréquences typiques du signal électrophysiologique $f_{\text{SÉP}}$ et de modulation f_{M} données sur cette figure ne sont pas à l'échelle pour faciliter la lecture des courbes.

L'électronique d'acquisition enregistre le signal correspondant aux variations de phase données en fig. 6.11. Si le signal électrophysiologique se décompose sur un spectre de fréquence inférieure à $f_{\text{SÉPMax}}$, alors, le spectre du signal enregistré s'étale entre $f_{\text{M}} - f_{\text{SÉPMax}}$ et $f_{\text{M}} + f_{\text{SÉPMax}}$.

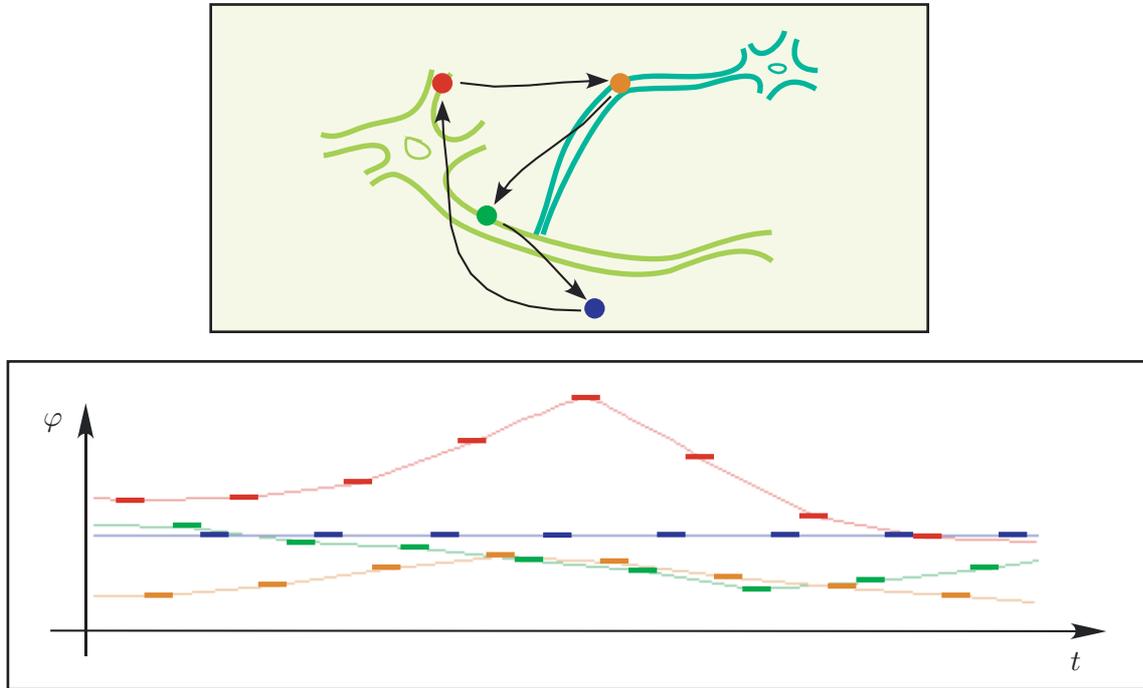


FIG. 6.9: Balayage cyclique de l'échantillon par les déflecteurs acousto-optiques.

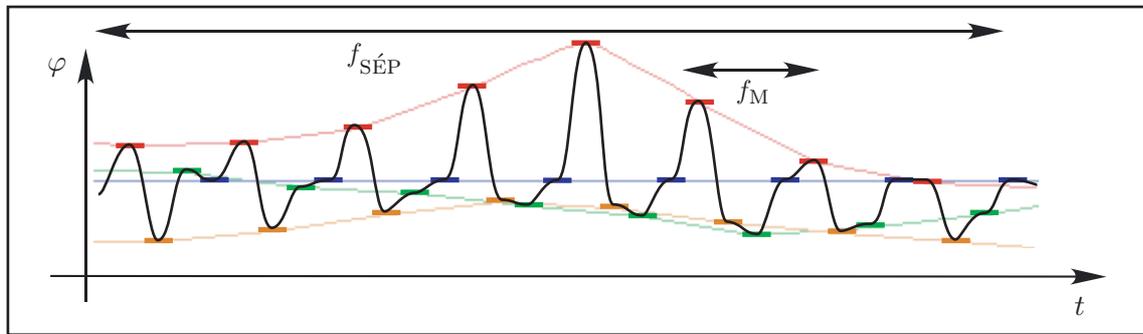


FIG. 6.10: Fréquences caractéristiques des variations de phase. Pour que le graphe soit lisible, les fréquences ne sont pas à l'échelle. En réalité, il y a au moins un facteur 100.

En choisissant f_M assez grand, on assure que l'asservissement ne le supprime pas et on se place dans des zones où le bruit est faible.

A chaque instant, l'électronique de traitement du signal peut attribuer le déphasage à une position particulière des déflecteurs acousto-optiques (fig. 6.12) et ainsi reconstituer les variations de phase provenant de chaque point, comme ce qui était donné en fig. 6.8. On reconstitue ainsi les signaux à mesurer avec une résolution qui est donnée par un critère de type *Shannon*. En plus de la modulation nécessaire à la mesure d'un signal à basse fréquence noyé sous le

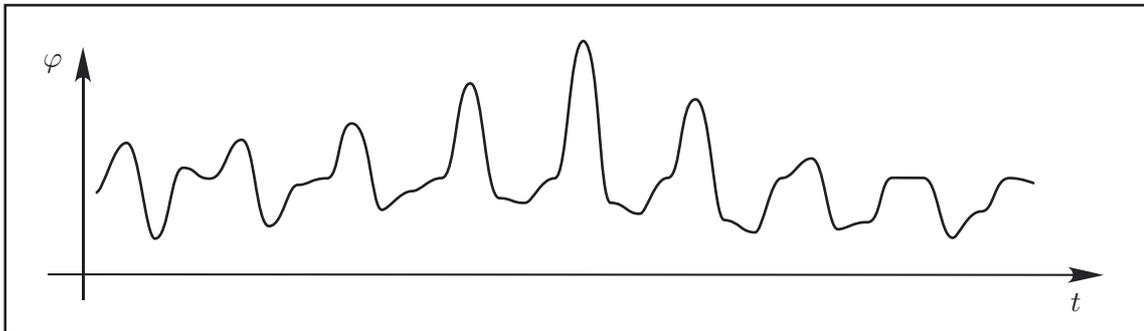


FIG. 6.11: Structure typique du signal enregistré avec le système de détection synchrone multiplexante.

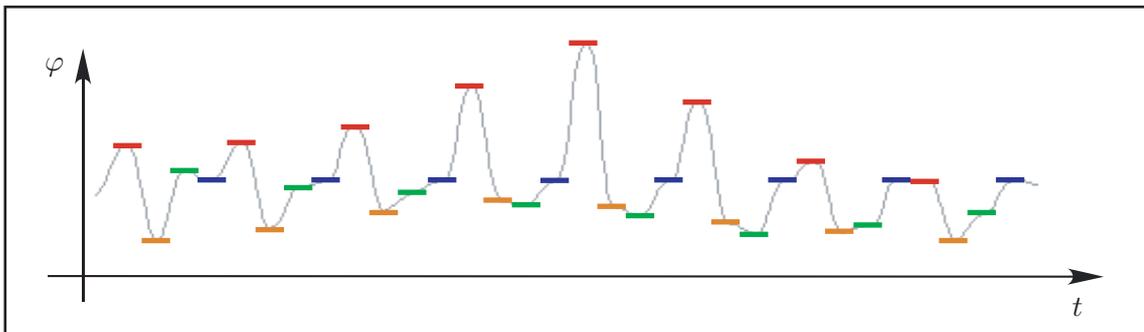


FIG. 6.12: Réattribution des déphasages enregistrés et reconstitution des variations de phase locales

bruit, la détection synchrone multiplexante permet la mesure simultanée³ du déphasage en différents points de l'échantillon. Par ce moyen, on réalise une cartographie (plane) des variations de potentiel transmembranaire dans un échantillon dont les événements ne sont pas nécessairement reproductibles. Ce dernier point, loin d'être anecdotique, est une condition nécessaire à une utilisation du microscope électro-optique pour des problèmes pertinents d'électrophysiologie. Par ce moyen, on va au delà des techniques de patch-clamp, non seulement parce qu'on n'est invasif que par les chromophores utilisés, mais surtout parce qu'on procède à une mesure simultanée en différents points (mode imagerie) sans difficulté supplémentaire.

6.3.2 Mise en œuvre

La mise en œuvre pratique des déflecteurs acousto-optique sera particulièrement délicate. La difficulté principale est qu'ils ne doivent pas ajouter de déphasage aléatoire supérieur à la résolution attendue. Un déphasage dépendant de l'angle de déflexion, mais reproductible, pourra être compensé sans difficulté par un enregistrement préalable de calibration

³ à l'échelle du temps caractéristique de variation du potentiel transmembranaire

(un « zéro »). Ils devront être inclus de part et d'autre des objectifs de microscope pour ne pas perturber le fonctionnement du système confocal. Un bâti de microscope devra très certainement être redessiné à l'occasion.

Des contacts ont été pris avec plusieurs sociétés qui fabriquent des systèmes acousto-optiques. C'est avec *AA opto-electronic* qu'ils sont les plus avancés. Notre système requerrait des cristaux calibrés ensembles et des synthétiseurs de fréquence pour assurer la meilleure reproductibilité possible.

6.4 Limitation de résolution due au bruit quantique

On sondera très rapidement l'échantillon avec un faisceau de faible intensité. Comme la précision requise pour la mesure de la phase est très élevée, on doit tenir compte du bruit quantique [95]. Dans notre application, ce dernier est loin d'être négligeable : on en revient alors à la vocation initiale des détections homodynes qui est la mesure de bruits quantiques [96].

6.4.1 Bruit quantique de phase

L'opérateur champ électrique est [95,97,98] :

$$\hat{E} = \frac{1}{L^3} \sum_l \omega_l C_l \vec{e}_l \left(i \hat{a}_l e^{i\vec{k}\cdot\vec{r}} + h.c. \right) \quad (6.31)$$

où la somme porte sur les modes l . \hat{a}_l est l'opérateur annihilation de photons et \hat{a}_l^+ , apparaissant dans la partie hermitique conjuguée, est l'opérateur création. \vec{e}_l est la direction de polarisation du mode l . L^3 correspond au volume de référence de la cavité où le système est (fictivement) placé.

On a pour C_l :

$$C_l = \sqrt{\frac{\hbar L^3}{2\varepsilon_0 \omega_l}} \quad (6.32)$$

Dans notre problème, la polarisation est unique, on se place en un point fixe et on considère que tous les photons sont dans le même mode. L'expression 6.31 se simplifie alors en :

$$\hat{E} = i \mathcal{E}_0 (\hat{a} - \hat{a}^+) \quad \text{avec} \quad \mathcal{E}_0 = \frac{1}{L^{\frac{3}{2}}} \sqrt{\frac{\hbar \omega}{2\varepsilon_0}} \quad (6.33)$$

On travaille avec un laser Hélium-Néon, qui fonctionne très au dessus du seuil. Cette lumière est donc parfaitement bien décrite par un état cohérent :

$$|\alpha\rangle = e^{-\frac{|\alpha|^2}{2}} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{\alpha^n}{\sqrt{n!}} |n\rangle \quad (6.34)$$

où $|n\rangle$ est un état de Fock à n photons.

Ces états cohérents sont fonctions propres de l'opérateur annihilation :

$$\hat{a}|\alpha\rangle = \alpha|\alpha\rangle \quad \text{et} \quad \langle\alpha|\hat{a}^\dagger = \alpha^*\langle\alpha| \quad (6.35)$$

Les fluctuations du champ électrique valent :

$$\delta E = \sqrt{v(E)} = \sqrt{\langle\hat{E}^2\rangle - \langle\hat{E}\rangle^2} \quad (6.36)$$

donc, avec les notations précédentes :

$$\delta E = \sqrt{\langle\alpha|\hat{E}^2|\alpha\rangle - \langle\alpha|\hat{E}|\alpha\rangle^2} \quad (6.37)$$

$$= \mathcal{E}_0 \sqrt{\langle\alpha| -(\hat{a} - \hat{a}^\dagger)^2 |\alpha\rangle - \langle\alpha|i(\hat{a} - \hat{a}^\dagger)|\alpha\rangle^2} \quad (6.38)$$

$$= \mathcal{E}_0 \sqrt{\langle\alpha|(-\hat{a}\hat{a} + \hat{a}\hat{a}^\dagger + \hat{a}^\dagger\hat{a} - \hat{a}^\dagger\hat{a}^\dagger)|\alpha\rangle - \langle\alpha|i(\hat{a} - \hat{a}^\dagger)|\alpha\rangle^2} \quad (6.39)$$

En utilisant la relation de commutation :

$$[\hat{a}, \hat{a}^\dagger] = 1 \quad (6.40)$$

la relation 6.39 devient :

$$\delta E = \mathcal{E}_0 \sqrt{\langle\alpha|(-\hat{a}\hat{a} + 1 + 2\hat{a}^\dagger\hat{a} - \hat{a}^\dagger\hat{a}^\dagger)|\alpha\rangle - \langle\alpha|i(\hat{a} + \hat{a}^\dagger)|\alpha\rangle^2} \quad (6.41)$$

$$= \mathcal{E}_0 \sqrt{-\alpha^2 + 1 + 2\alpha^*\alpha - \alpha^{*2} + (\alpha - \alpha^*)^2} \quad (6.42)$$

On en déduit finalement :

$$\delta E = \mathcal{E}_0 \quad (6.43)$$

Les fluctuations quantiques du champ ne dépendent pas de la quadrature. C'est une propriété des états cohérents (aussi dits quasi classiques). On peut représenter cet état dans l'espace des phases où la zone de fluctuation du champ électrique est à symétrie circulaire (fig. 6.13). Ces fluctuations du champ impliquent des fluctuations de phase, que l'on représente ici par l'angle sous lequel on voit le disque de fluctuations depuis l'origine.

En notant le champ électrique :

$$E = E_0 e^{i\varphi} \quad (6.44)$$

les fluctuations de phase et d'intensité valent :

$$\delta\varphi = \frac{1}{E_0} \delta E_{\varphi + \frac{\pi}{2}} \quad (6.45)$$

$$\delta I = 2\overline{E_0} \delta E_{\varphi} \quad (6.46)$$

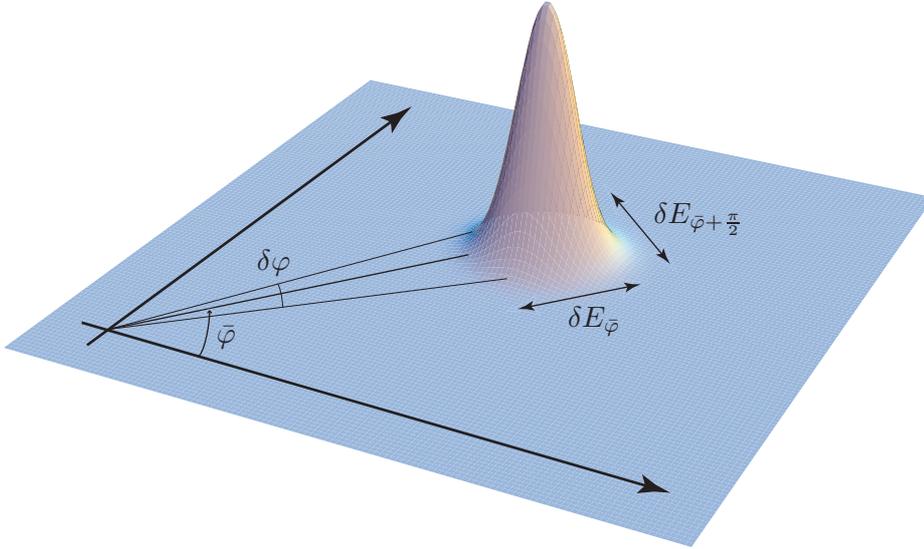


FIG. 6.13: Représentation d'un état cohérent dans l'espace des phases. L'incertitude sur la phase apparaît d'autant plus faible que l'intensité du champ est grande.

où E_θ est la quadrature du champ E selon la phase θ . Le nombre de photons dans le mode est donné par la relation :

$$N = \frac{|E|^2}{4\mathcal{E}_0^2} \quad (6.47)$$

Les expressions 6.43, 6.46 et 6.47 donnent alors l'intensité des fluctuations d'origine quantique :

$$\delta\varphi_Q = \frac{1}{2\sqrt{N}} \quad (6.48)$$

6.4.2 Conséquences pour la microscopie électro-optique

Ce bruit de phase, s'il n'est pas pris en compte dans la conception du montage risque de noyer les fluctuations d'origine électro-optique. On voit que pour réduire le bruit de phase, il « suffit » d'augmenter le nombre de photons, c'est-à-dire l'énergie utilisée pour *une* mesure de la variation de potentiel en *un* point.

Cherchons la puissance minimale du *signal* imposée pour avoir un rapport signal à bruit valant 1 pour les détails les plus fins recherchés dont la variation de phase induite par effet électro-optique est φ_{\min} .

Le nombre de photons est relié à la puissance du faisceau P et au temps de mesure T en

chaque point par la relation :

$$N = \frac{PT}{\hbar\omega} \quad (6.49)$$

La relation 6.48 s'écrit alors :

$$\varphi_{\min}^2 = \frac{\hbar\omega}{4PT} \quad (6.50)$$

Si on souhaite une résolution temporelle de $\frac{1}{f_{\text{rés}}}$ et un nombre de points de mesure (spatial et quasi simultané) n , alors $T = \frac{1}{n f_{\text{rés}}}$. On a donc la condition suivante sur l'intensité du faisceau *signal* :

$$P \geq \frac{hc n f_{\text{rés}}}{4\lambda \varphi_{\min}^2} \quad (6.51)$$

Un calcul d'ordre de grandeur s'impose. Pour une résolution en phase de $4 \cdot 10^{-8}$ rad, 20 points de mesures et une résolution temporelle de 1 kHz à 632,8 nm, on a $P \geq 1$ W. Notons que le balayage n'est pas nécessairement à la fréquence $f_{\text{rés}}$. Il peut avoir lieu à un multiple k de cette fréquence ; on procède alors à une moyenne sur k mesures successives au même point. Cette intensité peut sembler trop forte pour l'échantillon. Il est vrai qu'elle est importante et que ce point risque de poser un certain nombre de problèmes délicats. Cependant, cette puissance est répartie sur le nombre de points de mesure, elle est donc réduite d'un à deux ordres de grandeur ; la puissance moyenne reçue par un point est en effet la puissance du *signal* divisée par le nombre de points de mesure. La puissance moyenne reçue par chaque point est :

$$\overline{P}_{1 \text{ point}} \geq \frac{hc f_{\text{rés}}}{4\lambda \varphi_{\min}^2} = \frac{P}{n} \quad (6.52)$$

D'autre part, on travaille dans la zone de transparence de l'échantillon, la puissance à évacuer représente ainsi une proportion très faible de la puissance du faisceau *signal*.

En mesurant la puissance lumineuse acceptable en fonction de la longueur d'onde [99], on voit qu'il existe une plage de longueurs d'onde dans le proche infrarouge où une puissance de 1 W serait admissible sur un faisceau de 1 μm de diamètre (fig. 6.14). De plus, le bruit de photon est plus faible pour ces longueurs d'onde d'environ 20%. Dans la perspective de l'étude d'échantillons biologiques, il faudra prévoir un changement de source.

Il pourra être envisagé de travailler avec des états non classiques de la lumière. Il faudrait alors injecter dans le signal un état de la lumière comprimée en phase [100]. L'entrée du microscope électro-optique pourra être modifiée comme indiqué en fig. 6.15. Le record actuel de compression du bruit est de 10 dB [101], ce qui permettrait de diminuer l'intensité d'un ordre de grandeur. Cependant, la relation d'indétermination d'Heisenberg indique que les fluctuations d'intensité du signal se trouveraient alors augmentées d'un facteur supérieur à ce qui a été gagné sur la phase. Il faudra donc un asservissement d'autant meilleur que le signal sera comprimé (voir le résultat des calculs menés en section 2.6.2).

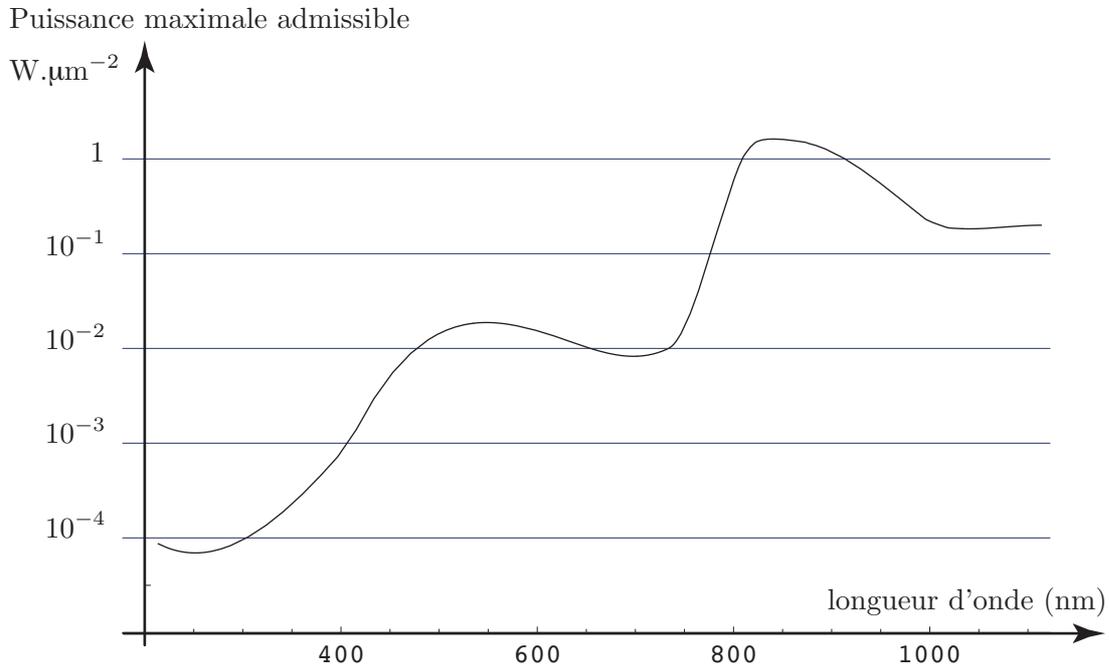


FIG. 6.14: Puissance maximale acceptable par un échantillon biologique en fonction de la longueur d'onde (extrait de [99]).

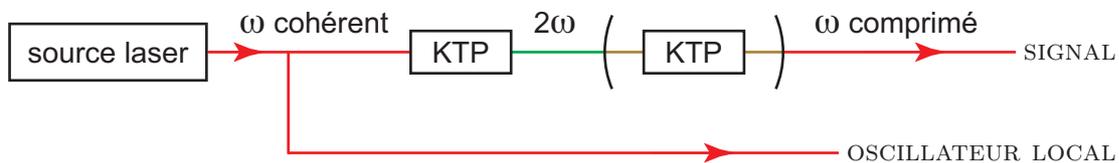


FIG. 6.15: Modification de la source du microscope électro-optique permettant de réduire le bruit quantique de phase en comprimant la lumière du signal avec un amplificateur paramétrique. (technique usuelle de compression, extrait de [100]).

Au cas où l'utilisation d'un état comprimé de la lumière serait envisagée, il faudra apporter un soin particulier à l'alignement des éléments optiques de la voie *signal*. Les pertes y sont actuellement assez importantes (plus de 40 %), ce qui ramènerait d'autant l'état comprimé vers un état classique. C'est au niveau des objectifs de microscope et du trou de confocalité que l'alignement est le plus délicat.

Conclusion et perspectives

Cette thèse a montré que la microscopie électro-optique est une technique qui permet la cartographie quantitative de champs électriques et de composantes du tenseur électro-optique jusqu'à la monocouche moléculaire. Selon les cas, elle offre une alternative ou un complément aux techniques déjà existantes (microscopie par génération de seconde harmonique ou électrofluorescence par exemple).

Les contraintes sur les échantillons sont assez importantes (transparence, nécessité d'un champ électrique) mais les renseignements apportés en font un outil de choix pour les études des phénomènes électriques à l'échelle micrométrique.

Un prototype de microscope a été construit. On a validé la pertinence et l'intérêt de la microscopie électro-optique sur deux types d'échantillons très différents. Une étude assez avancée a permis d'observer l'orientation sous champ électrique dans un composant polymère et de mettre en évidence une structure relativement inattendue pour les champs électriques. On a aussi montré la possibilité de lire des champs électriques au travers de membranes phospholipidiques dopées.

Des solutions pour une application de la microscopie électro-optique à la lecture de potentiels transmembranaires biologiques ont été proposées.

L'avenir de cet instrument est ouvert. Cette technique est maintenant disponible pour des études plus complexes et riches en diversité. Toutefois, il reste des points très délicats à surmonter pour le faire évoluer vers des applications biologiques réelles. L'application à la biologie demande la mise en place du système de balayage à défecteurs acousto-optiques qui pourrait nécessiter une thèse de même ampleur que celle-ci.

Les mesures sur les composants polymères sont maintenant relativement routinières et ne présentent plus de difficultés particulières. Le comportement du microscope est bien compris et maîtrisé pour ce type d'échantillons. Il aura fallu quelques mois entre la première mesure d'effet électro-optique dans un composant et la possibilité d'obtenir des cartes parfaitement reproductibles avec une bonne définition.

Bien que l'étude du premier composant ait eu pour objectif premier la validation du fonction-

nement du microscope, il nous a réservé quelques surprises qui n'ont été qu'effleurées ici. La voie est maintenant ouverte à des composants aux structures plus complexes ainsi qu'à des études plus fines des phénomènes observés... mais aussi de ceux qui ne manqueront pas de se révéler en cours d'étude.

Retenons que la structure de champ mise en évidence devrait pouvoir être mise à profit pour améliorer la conception des composants optoélectroniques. Le microscope permettant de résoudre le champ aux dimensions caractéristiques des répartitions surfaciques de charge des diélectriques polymères, il pourra être utilisé pour l'étude des champs sur des surfaces structurées plus complexes. Les matériaux micro et nano-structurés sont en effet d'actualité dans de multiples applications.

La méthode d'orientation du polymère utilisée n'est qu'une parmi d'autres. On pourra aussi s'intéresser à l'effet d'un champ électrique dans un matériau orienté par méthode toute optique qui présente l'avantage d'orienter plus uniformément les chromophores dans le matériau. On résoudra plus directement la structure du champ électrique. Une orientation de type *Corona* (sous pointe) est également envisagée.

D'autres modes d'application du champ électrique pourront être mis à profit. Des structures ITO seront utilisées pour appliquer des champs dans des configurations plus proches du condensateur plan. Des champs électriques aux structures complexes (multipolaires par exemple) pourront aussi être étudiés.

On n'est, dans ce domaine, limité que par l'imagination.

Quant aux membranes, c'est le second échantillon fabriqué qui a donné les premières mesures reproductibles et sans artefact bien que nous ayons mis à peu près toutes les difficultés de notre côté! Mais qu'importe, le résultat est là et avéré. L'étude sérieuse de la physique de ce phénomène va pouvoir commencer. Espérons qu'elle apporte autant au développement de la microscopie électro-optique qu'à l'étude des membranes phospholipidiques qui font l'objet d'un grand nombre d'études à l'heure actuelle. Dans ce domaine, des études sur les déformations et les désordres apparaissant sous champ électrique dans les membranes sont envisagées. Parallèlement, des structures biologiques et biomimétiques vont être étudiées parmi lesquelles on trouvera des agrégats de protéines ou encore des axones d'invertébrés dopés. Certaines collaborations sont déjà actives. Par exemple, nous allons, sous peu, tenter d'enregistrer, dans un axone géant de calmar dont la membrane aura préalablement été dopée, de l'effet électro-optique provenant d'un potentiel appliqué par une électrode.

Annexe A

Effet électro-optique linéaire dans un cristal de KDP taillé perpendiculairement à l'axe extraordinaire

Le calcul du déphasage engendré par l'effet Pockels dans un cristal de KDP taillé perpendiculairement à son axe optique est détaillé dans cette partie. Bien qu'il ne soit généralement pas présenté dans les livres d'optique non linéaire, il ne présente pas de difficulté particulière.

Application au modulateur de phase

Le cas du modulateur de phase présenté ici correspond à une cellule de KDP (phosphate de dihydrogénépotassium, $NH_4H_2PO_4$) taillée perpendiculairement à son axe optique. C'est ce type modulateur qui a été retenu parce qu'il est utilisé comme référence de variation de phase dans le bras signal du microscope. Le cas plus courant des systèmes taillés parallèlement n'est pas présenté.

Les propriétés de symétrie du KDP permettent de réduire son tenseur électro-optique à 3 coefficients avec [38] :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ r_{41} & 0 & 0 \\ 0 & r_{41} & 0 \\ 0 & 0 & r_{63} \end{pmatrix} \quad (\text{A.1})$$

Pour un champ appliqué selon Z , la variation d'indice est :

$$\Delta \left(\frac{1}{n^2} \right)_6 = r_{63} E_Z \quad (\text{A.2})$$

L'ellipsoïde des indices prend donc la forme suivante :

$$\left(\frac{1}{n_o^2} \right) X^2 + \left(\frac{1}{n_o^2} \right) Y^2 + \left(\frac{1}{n_e^2} \right) Z^2 + 2XY r_{63} E_Z = 1 \quad (\text{A.3})$$

On choisit un nouveau repère défini par :

$$x = \frac{X + Y}{\sqrt{2}} \quad (\text{A.4})$$

$$y = \frac{-X + Y}{\sqrt{2}} \quad (\text{A.5})$$

$$z = Z \quad (\text{A.6})$$

L'expression A.3 devient :

$$\left(\frac{1}{n_o^2} \right) x^2 + \left(\frac{1}{n_o^2} \right) y^2 + \left(\frac{1}{n_e^2} \right) z^2 + r_{63} E_Z (x^2 - y^2) = 1 \quad (\text{A.7})$$

que l'on peut identifier avec la forme :

$$\left(\frac{1}{n_x^2} \right) x^2 + \left(\frac{1}{n_y^2} \right) y^2 + \left(\frac{1}{n_z^2} \right) z^2 = 1 \quad (\text{A.8})$$

par les expressions, valables au premier ordre en $r_{63} E_z$:

$$n_x = n_o - \frac{n_o^3 r_{63} E_z}{2} \quad (\text{A.9})$$

$$n_y = n_o + \frac{n_o^3 r_{63} E_z}{2} \quad (\text{A.10})$$

L'état de polarisation d'un champ optique quelconque est perturbé par ces modifications d'indice. Il est cependant possible d'utiliser cette propriété pour changer la phase d'un champ sans en perturber la polarisation en choisissant la polarisation incidente rectiligne suivant un des axes propres x ou y .

Dans le cas d'une polarisation rectiligne suivant y , l'expression A.9 montre que l'indice qui nous intéresse est modifié par le champ statique selon :

$$\Delta n_y = -\frac{n_o^3 r_{63} E_z}{2} \quad (\text{A.11})$$

Pour un cristal, on a, à l'ordre 1 la variation de phase suivante quand un champ statique est appliqué parallèlement à l'axe z (fig. A.1) :

$$\Delta \varphi = \frac{2\pi l \Delta n_y}{\lambda} \quad (\text{A.12})$$

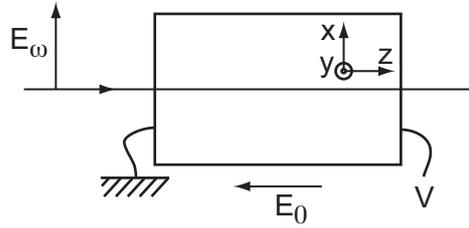


FIG. A.1: Configuration du modulateur au KDP taillé perpendiculairement à son axe optique.

En notant l , la longueur du cristal et V la différence de potentiel à laquelle il est soumis entre ses faces normales à l'axe z , on obtient, en introduisant l'expression A.11, le résultat recherché :

$$\Delta\varphi = \frac{\pi n_o^3 r_{63}}{\lambda} V \quad (\text{A.13})$$

On observe donc simplement une dépendance bilinéaire des variations de phase au potentiel et au coefficient électro-optique. Dans cette configuration, le microscope électro-optique permet de mesurer le produit $r_{63} \cdot V$.

En notant V_π la tension nécessaire pour obtenir un déphasage de π , l'expression A.13 devient¹ :

$$\Delta\varphi = \pi \frac{V}{V_\pi} \quad \text{avec} \quad V_\pi = \frac{\lambda}{n_o^3 r_{63}} \quad (\text{A.14})$$

Pour le cristal utilisé à $\lambda = 632,8 \text{ nm}$, $V_\pi = 7,0 \text{ kV}$.

¹ la notation retenue ici pour V_π n'est pas celle utilisée habituellement dans la littérature où sont généralement étudiées d'autres configurations.

Annexe B

Changement de repère du tenseur électro-optique d'une membrane

Le calcul des variations d'indice d'un faisceau traversant un plan incliné de la section 6.1.3 sont détaillés dans cette partie.

B.1 Changement de repère du tenseur

Le schéma avec les notations est rappelé en fig. B.1.

La formule générale de changement de repère d'un tenseur d'ordre n du repère \mathcal{R} vers le repère \mathcal{R}' est :

$$T_{i'_1, i'_2, \dots, i'_n} = \sum_{i_1, i_2, \dots, i_n} T_{i_1, i_2, \dots, i_n} (i_1, i'_1) (i_2, i'_2) \dots (i_n, i'_n) \quad (\text{B.1})$$

où (i_k, i'_k) est le produit scalaire des vecteurs unitaires de directions i_k et i'_k .

Dans le cas du tenseur électro-optique, cela s'écrit :

$$r_{i', j', k'} = \sum_{i, j, k} r_{i, j, k} (i, i') (j, j') (k, k') \quad (\text{B.2})$$

Le tenseur électro-optique de la membrane s'écrit, dans le repère \mathcal{R} :

$$r_{ij} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & r_{13} \\ 0 & 0 & r_{13} \\ 0 & 0 & r_{33} \\ 0 & r_{13} & 0 \\ r_{13} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{B.3})$$

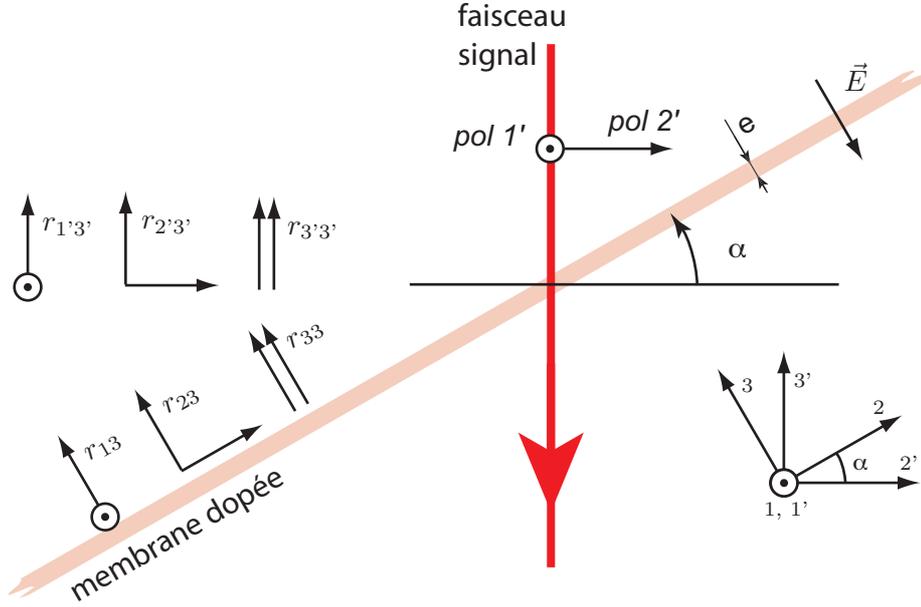


FIG. B.1: Notations utilisées dans le calcul du déphasage subi par un faisceau traversant une membrane dopée.

On voit que le changement de repère va « coupler » les directions 2' et 3' à 2 et 3. La direction 1 n'est pas modifiée.

On a ainsi en ne développant que sur les composantes non nulles :

$$r_{1'3'} = r_{1'1'3'} = r_{113}(3, 3') \quad (\text{B.4})$$

$$= r_{13} \cos \alpha \quad (\text{B.5})$$

$$r_{1'2'} = r_{1'1'2'} = r_{113}(3, 2') \quad (\text{B.6})$$

$$= -r_{13} \sin \alpha \quad (\text{B.7})$$

$$r_{2'2'} = r_{2'2'2'} = r_{223}(2, 2')(2, 2')(3, 2') + r_{333}(3, 2')(3, 2')(3, 2') \\ + r_{232}(2, 2')(3, 2')(2, 2') + r_{322}(3, 2')(2, 2')(2, 2') \quad (\text{B.8})$$

$$= -r_{23} \cos^2 \alpha \sin \alpha - r_{33} \sin^3 \alpha - 2r_{42} \sin \alpha \cos^2 \alpha \quad (\text{B.9})$$

$$= -3r_{13} \cos^2 \alpha \sin \alpha - r_{33} \sin^3 \alpha \quad (\text{B.10})$$

$$r_{2'3'} = r_{2'2'3'} = r_{223}(2, 2')(2, 2')(3, 3') + r_{333}(3, 2')(3, 2')(3, 3') + r_{232}(2, 2')(3, 2')(2, 3') + r_{322}(3, 2')(2, 2')(2, 3') \quad (\text{B.11})$$

$$= r_{23} \cos^3 \alpha + r_{33} \sin^2 \alpha \cos \alpha - 2r_{42} \sin^2 \alpha \cos \alpha \quad (\text{B.12})$$

$$= r_{13} (3 \cos^3 \alpha - 2 \cos \alpha) + r_{33} \sin^2 \alpha \cos \alpha \quad (\text{B.13})$$

$$r_{4'2'} = r_{2'3'2'} = r_{232}(2, 2')(3, 3')(2, 2') + r_{322}(3, 2')(2, 3')(2, 2') + r_{333}(3, 2')(3, 3')(3, 2') \quad (\text{B.14})$$

$$= r_{42} \cos^3 \alpha - r_{42} \sin^2 \alpha \cos \alpha + r_{33} \sin^2 \alpha \cos \alpha \quad (\text{B.15})$$

$$= r_{13} \cos \alpha (\cos^2 \alpha - \sin^2 \alpha) + r_{33} \sin^2 \alpha \cos \alpha \quad (\text{B.16})$$

$$r_{4'3'} = r_{2'3'3'} = r_{232}(2, 2')(3, 3')(2, 3') + r_{322}(3, 2')(2, 3')(2, 3') + r_{333}(3, 2')(3, 3')(3, 3') \quad (\text{B.17})$$

$$= r_{42} \cos^2 \alpha \sin \alpha - r_{42} \sin^3 \alpha - r_{33} \sin \alpha \cos^2 \alpha \quad (\text{B.18})$$

$$= r_{13} \sin \alpha (\cos^2 \alpha - \sin^2 \alpha) - r_{33} \sin \alpha \cos^2 \alpha \quad (\text{B.19})$$

$$(\text{B.20})$$

$$r_{5'1'} = r_{1'3'1'} = r_{131}(1, 1')(3, 3')(1, 1') \quad (\text{B.21})$$

$$= r_{51} \cos \alpha \quad (\text{B.22})$$

$$= r_{13} \cos \alpha \quad (\text{B.23})$$

$$r_{6'1'} = r_{1'2'1'} = r_{131}(1, 1')(3, 2')(1, 1') \quad (\text{B.24})$$

$$= -r_{51} \sin \alpha \quad (\text{B.25})$$

$$= -r_{13} \sin \alpha \quad (\text{B.26})$$

On a deux composantes non nulles de plus que dans le repère \mathcal{R} . C'est tout à fait normal : les composantes du nouveau repère ne sont plus des axes propres des opérations de symétrie des invariances de la membrane.

B.2 Variations du tenseur imperméabilité diélectrique

Le champ électrique dans le nouveau repère s'écrit :

$$E_{1'} = 0 \quad (\text{B.27})$$

$$E_{2'} = E \sin \alpha \quad (\text{B.28})$$

$$E_{3'} = -E \cos \alpha \quad (\text{B.29})$$

On a alors :

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{1'}^2} \right) (E) = r_{1'2'} E_{2'} + r_{1'3'} E_{3'} \quad (\text{B.30})$$

$$= -r_{13} E \quad (\text{B.31})$$

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{2'}^2} \right) (E) = r_{2'2'} E_{2'} + r_{2'3'} E_{3'} \quad (\text{B.32})$$

$$= -E (r_{13} \cos^2 \alpha + r_{33} \sin^2 \alpha) \quad (\text{B.33})$$

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{4'}^2} \right) (E) = r_{4'2'} E_{2'} + r_{4'3'} E_{3'} \quad (\text{B.34})$$

$$= r_{33} \sin \alpha \cos \alpha E \quad (\text{B.35})$$

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{5'}^2} \right) (E) = r_{5'1'} E_{1'} \quad (\text{B.36})$$

$$= 0 \quad (\text{B.37})$$

$$\Delta \left(\frac{1}{n_{6'}^2} \right) (E) = r_{6'1'} E_{1'} \quad (\text{B.38})$$

$$= 0 \quad (\text{B.39})$$

Comme le faisceau *signal* n'est polarisé que selon 1' et 2', on observera un déphasage selon chacun des axes (pour les deux premiers termes) et une modification du *walk-off* pour la polarisation 2'. Le *walk-off* se traduira par un déplacement totalement négligeable du faisceau. (De toute façon, ce déplacement aurait pour effet de réduire le taux de recouvrement, donc il reviendrait à une atténuation de l'amplitude du signal. La quadrature relative entre les deux faisceaux de l'interféromètre nous garantit donc que $\Delta \left(\frac{1}{n_{4'}^2} \right) (E)$ ne serait pas mesuré et ne perturberait pas la mesure.)

Bibliographie

- [1] P. MEYRUEIX, G. TREMBLAY, and J. P. VERNHES. *Method and apparatus for electro-optically testing circuits*, Brevet déposé le 18 décembre 1990 par Schlumberger Technologies Inc. US 5,272,434.
- [2] P. MEYRUEIX, G. TREMBLAY, and J. P. VERNHES. *Apparatus including electro-optical material for use in testing a circuit having voltage-bearing elements proximate a surface of a body*, Brevet déposé le 1 septembre 1993 par Schlumberger Technologies Inc. US 5,394,098.
- [3] J. A. VALDMANIS, G. MOUROU, and C. W. GABEL. Picosecond electro-optic sampling system. *Appl. Phys. Lett.*, 41 :211–212, 1982.
- [4] J. A. VALDMANIS, G. MOUROU, and C. W. GABEL. Subpicosecond electrical sampling. *IEEE J. Quant. Electr.*, 19 :664–667, 1983.
- [5] G. MOUROU and K. MEYER. *Measurement of electrical signals with subpicosecond resolution*, Brevet déposé le 1 mars 1984 par l’université de Rochester (NY). US 4,603,293.
- [6] G. MOUROU and K. MEYER. *Measurement of electrical signals with subpicosecond resolution*, Brevet déposé le 1 mars 1984 par l’université de Rochester (NY). US 4,618,819.
- [7] Z. H. ZHU, J.-P. WEBER, S. Y. WANG, and S. WANG. New measurement technique : cw electro-optic probing of electric field. *Appl. Phys. Lett.*, 49 :432–434, 1986.
- [8] J. HIATT. A method of detecting hot spots on semiconductors using liquid crystal. *IEEE/PROC. IRPS*, pages 130–133, 1981.
- [9] F. GIANNINI, P. MALTESE, and R. SORRENTINO. Liquid crystal technique for field detection in microwave integrated circuitry. *Alta Frequenza*, 46 :170–178, April 1977.
- [10] A. DONVAL. *Conception et réalisation de composants électro-optiques polymères insensibles à la polarisation*. PhD thesis, Université de Paris-Sud, mars 1999.
- [11] A. DONVAL, E. TOUSSAERE, R. HIERLE, and J. ZYSS. Polarization insensitive electro-optic polymer modulator. *J. Appl. Phys.*, 87 :3258–3262, 2000.
- [12] CNET. France telecom. Deneb : logiciel de modélisation de champs électriques.

- [13] I. LEDOUX, R. PINSARD-LEVENSON, and J. ZYSS. Matériaux optiques pour les réseaux de communications optiques : de la molécule aux composants. *L'écho des recherches*, n°162, 4e trimestre, 1995.
- [14] I. FADERL, P. LABEYE, and P. MOTTIER. Integration of an Electrooptic Polymer in an Integrated Optics Circuit on Silicon. *IEEE Journal of Lightwave Technology*, 13 :2020, 1995.
- [15] B. KOLB and I. WHISHAW. *Cerveau et comportement*. de Boeck, Paris, 2002.
- [16] D. RICHARD and D. ORSAL. *Neurophysiologie, organisation et fonctionnement du système nerveux*. Dunod, Paris, 2001.
- [17] C. HAMMOND and D. TRITSCH. *Neurobiologie cellulaire, canaux ioniques et transmission synaptique*. Doin, Paris, 1990.
- [18] P. MEYRAND and D. CATTART. Discussion privée. Laboratoire de neurobiologie des réseaux, Université Bordeaux 1, 2003-2005.
- [19] P. FOSSIER and M. AMAR. Discussion privée. Laboratoire de neurobiologie cellulaire et moléculaire, Institut Alfred Fessard, 2005.
- [20] INVITROGEN - MOLECULAR PROBES. *The Handbook, A guide to fluorescent probes and labeling technologies*. invitrogen, Carlsbad, CA, tenth edition, 2005.
- [21] AL. HODGKIN and AF. HUXLEY. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.(Lond.)*, 1952.
- [22] www.selu.edu/Academics/Faculty/teperkins/151/5membranes.html.
- [23] J. MERTZ. Discussion privée. Laboratoire de neurophysiologie, Ecole supérieure de physique et de chimie industrielles; Boston University, Boston, 2003-2005.
- [24] LB. COHEN, BM. SALZBERG, and A. GRINVALD. Optical methods for monitoring neuron activity. *Annual Review of Neuroscience*, 1 :171–182, 1978.
- [25] LB. COHEN, BM. SALZBERG, HV. DAVILA, WN. ROSS, D. LANDOWNE, AS. WAGGONER, and CH. WANG. Changes in axon fluorescence during activity : molecular probes of membrane potential. *J. Membr. Biol.*, 19 :1–36, 1974.
- [26] M. ZOCHOWSKI, M. WACHOWIAK, C. FALK, LB. COHEN, Y.-W.. LAM, S. ANTIC, and D. ZECEVIC. Imaging membrane potential with voltage-sensitive dyes. *Biol. Bull.*, 198 :1–21, 2000.
- [27] A. GRINVALD. Real-time optical mapping of neuronal activity : from single growth cones to the intact mammalian brain. *Annual Review of Neuroscience*, 8 :263–305, 1985.
- [28] A.M. SELIGMAN, M.J. ZARNOVSKY, H.L. WASSERKRUG, and J.S. HANKER. Nondroplet ultrastructural demonstration of cytochrome oxidase activity with a polymerizing osmiophilic reagent, diaminobenzidine (dab). *J. Cell. Biol.*, 38 :1–14, 1968.

- [29] A. L. OBAID, T. KOYANO, J. LINDSTROM, T. SAKAI, and B. M. SALZBERG. Spatiotemporal patterns of activity in an intact mammalian network with single-cell resolution : optical studies of nicotinic activity in an enteric plexus. *J. Neurosci.*, 3 :2251–2262, 199.
- [30] J. HUANG, A. LEWIS, and T. RASING. Second harmonic-generation from langmuir-blodgett films of retinal and retinal schiff-bases. *J. Phys. Chem.*, 92 :1755–1759, 1988.
- [31] J. HUANG, A. LEWIS, and L. LOEW. Non-linear optical properties of potential sensitive styryl dyes. *Biophys. J.*, 53 :665–670, 1988.
- [32] L. MOREAUX, O. SANDRE, S. CHARPAK, M. BLANCHARD-DESCE, and J. MERTZ. Coherent scattering in multi-harmonic light microscopy. *Biophys. J.*, 80(3) :1568–1574, 2001.
- [33] T. PONS. *Applications de la génération de second harmonique à l'imagerie biologique*. PhD thesis, Université de Paris VI, 2004.
- [34] T. PONS, L. MOREAUX, O. MONGIN, M. BLANCHARD-DESCE, and J. MERTZ. Mechanisms of membrane potential sensing with second-harmonic generation microscopy. *Biophys. J.*, 53 :665–670, 1988.
- [35] L. MOREAUX, M. BLANCHARD-DESCE, and J. MERTZ. Second harmonic generation microscopy and membrane potential imaging. *Biophys. J.*, 82 :499A, 2002.
- [36] L. MOREAUX, T. PONS, V. DAMBRIN, M. BLANCHARD-DESCE, and J. MERTZ. Electro-optic response of second-harmonic generation membrane potential sensors. *Opt. Lett.*, 28 :625–627, 2003.
- [37] D. DOMBECK, M. BLANCHARD-DESCE, and W. WEBB. Optical recording of action potentials with second-harmonic generation microscopy. *J. Neuroscience*, 24 :999–1003, 2004.
- [38] R. W. BOYD. *Nonlinear Optics*. Academic Press, San Diego, 1992.
- [39] J. ZYSS, D. S. CHEMLA, and J.-F. NICOUD. Demonstration of efficient nonlinear optical crystals with vanishing molecular dipole moment : second-harmonic generation in 3-methyl-4-nirtopyridine-1-oxide. *J. Chem. Phys.*, 74 :4800–4811, 1981.
- [40] V. DENTAN. *Etude des propriétés optiques non linéaires du second ordre des films minces organiques : application aux couches de Langmuir-Blodgett*. PhD thesis, Université de Paris-sud, juin 1991.
- [41] I. LEDOUX, D. JOSSE, P. VIDAKOVIC, J. ZYSS, R. A. HANN, P. F. GORDON, B. D. BOTHWELL, S. K. GUPTA, S. ALLEN, P. ROBIN, E. CHASTAING, and J. C DUBOIS. Second harmonic generation by Langmuir-Blodgett multilayers of an organic azo dye. *Europhysics Letters*, 3 :803, 1987.
- [42] L. MOREAUX, O. SANDRE, and J. MERTZ. Membrane imaging by second-harmonic generation microscopy. *J. Opt. Soc. Am. B*, 17 :1685–1694, 2000.

- [43] I. CAZENOBÉ. *Elaboration et optimisation de nouveaux polymères électro-optiques : caractérisation, stabilisation, contrôle de l'anisotropie*. PhD thesis, Université de Paris-sud, juillet 1999.
- [44] S. BRASSELET and J. ZYSS. Multipolar molecules and multipolar fields : probing and controlling the tensorial nature of nonlinear molecular media. *J. Opt. Soc. Am. B*, 15 :257–288, 1998.
- [45] S. BIDAULT. *Manipulation optique de l'organisation de chromophores non-linéaires et luminescent*. PhD thesis, École normale supérieure de Cachan, juillet 2004.
- [46] M. FRANÇON. *Le contraste de phase en optique et en microscopie*. Editions de la revue d'optique théorique et instrumentale, Paris, 1950.
- [47] M. FRANÇON. *La microscopie à contraste de phase et le microscope interférentiel*. Editions du CNRS, Paris, 1954.
- [48] A. H. BENNETT, H. OSTERBERG, H. JUPNIK, and O. W. RICHARDS. *Phase microscopy, Principles and applications*. John Wiley & sons, New York, 1951.
- [49] IATIA VISION SCIENCES. Qpm quantitative phase microscopy , brochure disponible à www.njsci.com/mod/fileman/files/QPm_brochure.pdf et <http://www.iatia.com.au/technology/applicationNotes.asp>.
- [50] S. REYNAUD, A. HEIDMANN, and E. GIACOBINO C. FABRE. *Quantum fluctuations in optical systems*, volume XXX, page 1. E. Wolf, 1992.
- [51] U. LEONHART and H. PAUL. Measuring the quantum state of light. *Prog. Quant. Elect.*, 19 :89, 1995.
- [52] P.-F. COHADON. *Bruit thermique et effets de la pression de radiation dans une cavité de grande finesse*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie, juillet 2000.
- [53] N. BLOEMBERGEN. *Nonlinear Optics*. W. A. Benjamin , New-York, 1965.
- [54] I. P. KAMINOW. *An introduction to electrooptic devices*. Academic Press, Orlando, 1974.
- [55] P. A. FRANKEN, A. E. HILL, C. W. PETER, and G. WEINREICH. Generation of optical harmonics. *Phys. Rev. Lett.*, 7 :118, 1961.
- [56] A. YARIV. *Quantum electronics*. Wiley, New-York, 1975.
- [57] F. SANCHEZ. *Optique non linéaire*. Ellipse, Paris, 1999.
- [58] K.-S. HO, S. H. LIU, and G. S. HE. *Physics of Nonlinear Optics*. World Scientific Publishing Company, 2000.
- [59] M. EVANS and S. KIELICH. *Modern nonlinear optics, Part 1, Part 2 and Part 3*. Wiley Interscience, New-York, 1994.
- [60] J. ZYSS editor. *Molecular Nonlinear Optics*. Academic Press, San Diego, 1994.

- [61] J. MESSIER, F. KAJZAR, and P. PRASAD editors. *Organic molecules for nonlinear optics and photonics*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, 1991. NATO Advanced Research Workshop on Organic Molecules for Nonlinear Optics and Photonics.
- [62] D. S. CHEMLA and J. ZYSS editors. *Nonlinear Optical Properties of Organical Molecules and Crystals*, volume 1. Academic Press, Orlando, 1987.
- [63] D. S. CHEMLA and J. ZYSS editors. *Nonlinear Optical Properties of Organical Molecules and Crystals*, volume 2. Academic Press, Orlando, 1987.
- [64] J. R. LALANNE, A. DUCASSE, and S. KIELICH. *Laser-Molecule Interaction : Laser Physics and Molecular Nonlinear Optics*. Wiley Interscience, New-York, 1996.
- [65] S. MUKAMEL. *Principles of Nonlinear Optical Spectroscopy*. Oxford University Press, New York, 1995.
- [66] J. D. JACKSON. *Classical electrodynamics, third edition*. Wiley, New York, 1998.
- [67] K. D. SINGER, M. G. KUZYK, and J. E. SOHN. Second-order nonlinear-optical processes in orientationally ordered materials : relationships between molecular and macroscopic properties. *J. Opt. Soc. Am. B*, 4 :968, 1987.
- [68] K. D. SINGER, J. E. SOHN, and S. J. LALAMA. Second harmonic generation in poled polymer films. *Appl. Phys. Lett.*, 49 :248–250, 1986.
- [69] K. D. SINGER, M. G. KUZYK, W. E. HOLLAND, J. E. SOHN, S. J. LALAMA, R. B. COMIZZOLI, H. E. KATZ, and M. L. SCHILLING. Electro-optic phase modulation and optical second-harmonic generation in corona-poled polymer films. *Appl. Phys. Lett.*, 53 :1800–1802, 1988.
- [70] J. CHEN, S. MACHIDA, and Y. YAMAMOTO. Simultaneous measurement of amplitude and phase in surface second-harmonic generation. *Opt. Lett.*, 23 :676–678, 1998.
- [71] Y-Q. LI, D. GUZUN, and M. XIAO. Sub-shot-noise-limited optical heterodyne detection using an amplitude-squeezed local oscillator. *Phys. Rev. Lett.*, 82 :5225–5228, 1999.
- [72] M. GIRARD. *Boucles à verrouillage de phase*. McGraw-Hill, 1988.
- [73] J. ENCINAS. *Systèmes à verrouillage de phase, PLL - réalisations et applications*. Masson, 1990.
- [74] R. E. BEST. *Phase-locked loops - theory, design and applications*. McGraw-Hill, 1993.
- [75] J. PAWLEY, editor. *Handbook of biological confocal microscopy*. Plenum Press, New York, 1995.
- [76] S. KLUGE, F. BUDDE, I. DOHNKE, P. RECHSTEINER, and J. HULLIGER. Phase-sensitive second-harmonic microscopy reveals polarity of topologically centrosymmetric molecular crystals. *App. Phys. Lett.*, 81 :247–249, 2002.

- [77] S. YAZDANFAR, L. LAIHO, and P. SO. Interferometric second harmonic generation microscopy. *Opt. Expr.*, 12 :2739–2745, 2004.
- [78] V. LE FLOC'H. *Caractérisation de l'organisation moléculaire par microscopie non-linéaire cohérente et incohérente*. PhD thesis, Ecole normale supérieure de Cachan, mai 2004.
- [79] B. DIU, C. GUTHMANN, D. LEDERER, and B. ROULET. *Physique Statistique*. Hermann , Paris, 1989.
- [80] F. REIF. *Physique statistique*. A. Colin, Paris, 1972.
- [81] P. LANGEVIN. (*Oeuvres scientifiques de*). Service des publications du CNRS, 1950.
- [82] C. FIORINI, F. CHARRA, J.-M. NUNZI, and P. RAIMOND. Quasi-permanent all-optical encoding of noncentrosymmetry in azo-dye polymers. *J. Opt. Soc. Am. B*, 14 :1984–2003, 1997.
- [83] P. NAGTEGAELE. *Micro-résonateurs circulaires à base de polymère pour fonctions d'insertion-extraction en télécommunications optiques*. PhD thesis, Ecole normale supérieure de Cachan, janvier 2005.
- [84] J.-L. OUDAR and D. S. CHEMLA. Hyperpolarisabilities of the nitroanilines and their relations to the excited state dipole moment. *J. Chem. Phys.*, 66 :2664–2668, 1977.
- [85] K. D. SINGER and L. A. KING. Relaxation phenomena in polymer nonlinear optical materials. *J. Appl. Phys.*, 70 :3251–3255, 1991.
- [86] A. SUZUKI and Y. MATSUOKA. Relaxation processes in poled nonlinear optical polymer films. *J. Appl. Phys.*, 77 :965–969, 1995.
- [87] F. MICHELOTTI, E. TOUSSAERE, R. LEVENSON, J. LIANG, and J. ZYSS. Real-time pole and probe assessment of orientational processes in electro-optic polymers. *Appl. Phys. Lett.*, 67 :2765–2767, 1995.
- [88] I. LEDOUX, D. JOSSE, P. VIDAKOVIC, J. ZYSS, R. A. HANN, P. F. GORDON, B. D. BOTHWELL, S. K. GUPTA, S. ALLEN, P. ROBIN, E. CHASTAING, and J. C. DUBOIS. Second harmonic generation by langmuir-blodgett multilayers of an organic azo dye. *Europhys. Lett.*, 3 :803, 1987.
- [89] J. C. WEAVER and Y. A. CHIZMADZHEV. Theory of electroporation : A review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 41 :135–160, 1996.
- [90] T. CHARITAT, E. BELLET-AMALRIC, G. FRAGNETO, and F. GRANER. Adsorbed and free lipid bilayers at the solid-liquid interface. *Eur. Phys. J. B*, 8 :583–593, 1999.
- [91] J. DAILLANT, E. BELLET-AMALRIC, A. BRASLAU, T. CHARITAT, G. FRAGNETO, F. GRANER, S. MORA, F. RIEUTORD, and B. STIDDER. Structure and fluctuations of a single floating lipid bilayer. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 102 :11639–11644, 2005.

- [92] M. SIGELLE and R. HIERLE. Determination of the electrooptic coefficients of 3-methyl 4-nitropyridine 1-oxide by an interferometric phase-modulation technique. *J. App. Phys.*, 52 :4199–4204, 1981.
- [93] T. TOURY and J. ZYSS. *Détection synchrone multiplexante*. « Dispositif et procédé de détection et de mesure non invasives des propriétés d'un milieu », Brevet déposé le 22 août 2003 par le CNRS et l'ENS Cachan. FR 03 10116 - PCT FR04/02157.
- [94] J. ZYSS and T. TOURY. *Mesure électro-optique de champs électriques*. « Dispositif et procédé de détection et de mesure non invasives d'un champ électrique », Brevet déposé le 22 août 2003 par le CNRS et l'ENS Cachan. FR 03 10115 - PCT FR04/02159.
- [95] L. MANDEL and E. WOLF. *Optical Coherence and Quantum Optics*. Cambridge University Press, Cambridge, 1995.
- [96] M. XIAO, L. WU, and J. KIMBLE. Precision measurement beyond the shot-noise limit. *Phys. Rev. Lett.*, 59 :278, 1987.
- [97] C. COHEN-TANNOUJJI, G. GRYNDBERG, and J. DUPONT-ROC. *Introduction à l'électrodynamique quantique*. Interéditions du CNRS, Paris, 1987.
- [98] C. COHEN-TANNOUJJI, G. GRYNDBERG, and J. DUPONT-ROC. *Processus d'interaction entre photons et atomes*. Interéditions du CNRS, Paris, 1988.
- [99] B. LOUNIS. extrait du cours. Ecole prédoctorale des Houches « optique et biologie », septembre 2003.
- [100] P. GRANGIER, R. E. SLUSHER, B. YURKE, and A. LAPORTA. Squeezed-light-enhanced polarization interferometer. *Phys. Rev. Lett.*, 59 :2153, 1987.
- [101] R. PASCHOTTA, M. COLLETT, P. KÜRZ, K. FIEDLER, H. A. BACHOR, and J. MLYNEK. Bright squeezed light from a singly resonant frequency doubler. *Phys. Rev. Lett.*, 72 :3807–3810, 1994.

Heureux qui, comme Ulysse, a fait un beau voyage,
Ou comme cestuy la qui conquist la toison,
Et puis est retourné, plein d'usage & raison,
Vivre entre ses parents le reste de son aage !

Quand revoiray-je, hélas, de mon petit village
Fumer la cheminée, & en quelle saison,
Revoiray-je le clos de ma pauvre maison,
Qui m'est une province, & beaucoup d'avantage ?

Plus me plaist le sejour qu'ont basty mes ayeux,
Que des palais Romains le front audacieux,
Plus que le marbre dur me plaist l'ardoise fine ;

Plus mon Loyre Gaulois, que le Tybre Latin,
Plus mon petit Lyré, que le mont Palatin,
Et plus que l'air marin la douceur Angevine.

Joachim Du Bellay