



HAL
open science

Polarimétrie sur fond noir par codage spectral de la polarisation : application à la microscopie à balayage laser

Xavier Theillier

► **To cite this version:**

Xavier Theillier. Polarimétrie sur fond noir par codage spectral de la polarisation : application à la microscopie à balayage laser. Physique [physics]. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2022. Français. NNT : 2022BRES0102 . tel-04092432

HAL Id: tel-04092432

<https://theses.hal.science/tel-04092432>

Submitted on 9 May 2023

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

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

THÈSE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ÉCOLE DOCTORALE N° 596
Matière, Molécules, Matériaux
Spécialité : *Physique*

Par

Xavier THEILLIER

Polarimétrie sur fond noir par codage spectral de la polarisation

application à la microscopie à balayage laser

Thèse présentée et soutenue à BREST, le 12 décembre 2022

Unité de recherche : Laboratoire d'Optique et de Magnétisme OPTIMAG UR938

Rapporteurs avant soutenance :

Yoshitane TAKAKURA Maître de conférence HDR, Université de Strasbourg
Nathalie WESTBROOK Professeur, Institut d'optique Graduate School

Composition du Jury :

Président :	Laurent BOURDIEU	Directeur de Recherche CNRS, Institut de Biologie de l'ENS
Examineurs :	Yoshitane TAKAKURA	Maître de conférence HDR, Université de Strasbourg
	Nathalie WESTBROOK	Professeur, Institut d'optique Graduate School
Dir. de thèse :	Sylvain RIVET	Maître de conférence HDR, Université de Bretagne Occidentale
Co-dir. de thèse :	Yann LE GRAND,	Professeur, Université de Bretagne Occidentale
Co-enc. de thèse :	Matthieu DUBREUIL	Maître de conférence, Université de Bretagne Occidentale

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été effectué au Laboratoire d'Optique et de Magnétisme OPTIMAG (UR938), au sein de l'UFR Sciences et Techniques de l'Université de Bretagne Occidentale, à Brest, d'octobre 2019 à décembre 2022.

Je souhaite tout d'abord remercier l'ensemble du laboratoire, pour l'ambiance qui y règne, chaleureuse et stimulante. J'ai beaucoup apprécié y travailler et cela a grandement contribué à la réussite de cette thèse.

Avant de commencer la thèse, je travaillais au sein du département Optique de l'IMT Atlantique sous la supervision de Bruno FRACASSO et je le remercie de m'avoir encouragé à envoyer ma candidature pour ce projet.

Ma soutenance de thèse s'est déroulée le 12 décembre 2022 et je remercie l'ensemble des membres extérieurs du jury, Nathalie WESTBROOK et Yoshitane TAKAKURA pour avoir accepté de rapporter mon manuscrit ainsi que Laurent BOURDIEU pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Leurs remarques, leurs questions et les discussions qui s'ensuivirent furent très intéressantes.

Je tiens à remercier vivement mes encadrants Sylvain RIVET, Yann LE GRAND et Matthieu DUBREUIL pour m'avoir guidé durant ces trois années. Merci Sylvain, ta rigueur, ta patience et tes intuitions m'ont poussé à approfondir mes réflexions et mes travaux, notamment sur les aspects de métrologie et pendant la rédaction. Sans nos échanges quotidiens, ma thèse n'aurait sans doute pas eu cette consistance. Yann, je te remercie pour ton expertise et ton regard extérieur. Nos échanges, malheureusement un peu rares, ont toujours été très enrichissants. Enfin je te remercie Matthieu pour ta pédagogie et ton enthousiasme. Ce fut un plaisir de travailler avec toi et nos discussions m'ont souvent permis d'améliorer ma compréhension ou la présentation de mes travaux.

Je voudrais ensuite souligner l'indispensable contribution de Gael LE ROUX aux développements opto-mécaniques de cette thèse. Gaël, ta passion pour les expériences, scientifiques (la machine à brouillard!) ou non, et nos bavardages, pas toujours scientifiques non plus, ont régulièrement égayé mes journées.

J'adresse également mes remerciements à Arnaud UGUEN du laboratoire LBAI pour avoir fourni les coupes de tissus cancéreux utilisées pendant cette thèse ainsi que Georges ALZEEB du laboratoire GGFB pour avoir réalisé les cultures cellulaires et avoir gentiment répondu à mes questions de bétotien en matière de biologie cellulaire.

Je souhaite remercier Laurent DUPONT de l'IMT Atlantique et André PERENNOU de l'ENIB pour leurs participations à mon Comité de Suivi Individuel de thèse. Leurs retours constructifs m'ont fait progresser, notamment sur la manière de présenter mes travaux.

Je remercie aussi Jacqueline LE BARS, Liliane BARBENSON et Michèle KERLE-ROUX pour m'avoir accompagné avec efficacité sur les aspects administratifs de la thèse. Bonne retraite Jacqueline !

J'adresse mes remerciements aux membres du conseil scientifique de l'Institut Brestois Santé-Agro-Matière (IBSAM), dont j'ai eu l'honneur de faire partie en tant que représentant des doctorants, en particulier Laurent CORCOS, Paul-Alain JAFFRES et mon camarade représentant des doctorants Anthony MAINGUY. J'espère que les actions que nous avons mises en place afin d'accroître la visibilité du travail des doctorants de l'IBSAM se pérenniseront.

Je remercie Jean-Philippe JAY pour m'avoir donné l'opportunité de participer aux Cordées de la réussite, et ainsi d'encourager l'intérêt pour les sciences auprès des lycées. Ce fut une chouette expérience !

Je souhaite ensuite remercier Bernard LE JEUNE. Nos longues conversations à refaire le monde vont me manquer ! Je remercie également les membres du laboratoire OPTIMAG que j'ai côtoyé durant la thèse et que je n'ai pas encore mentionné : Fabrice PELLEN, Guy LE BRUN et Philippe GIAMARCHI de l'équipe optique ainsi que David DEKADJEVI et David SPENATO de l'équipe magnétisme.

Je remercie mon prédécesseur Aymeric LE GRATIET, outre que son travail a ouvert la voie au mien, j'ai apprécié ses conseils pour l'après-thèse.

Je remercie mes amis docteurs (Chloé, Jean-Baptiste, Kévin,...), doctorants (Antoine, Laura, Matthieu, les lannionnais,...), ex-doctorant (Quentin) et même mes amis « normaux » pour m'avoir soutenu tout le long de cette aventure ! Un grand merci en particulier

à mes comparses musiciens, bien trop nombreux pour être tous cités, qui m'ont permis de souffler de temps en temps...

Enfin je remercie tout spécialement ma famille. Les mots me manquent pour exprimer toute ma gratitude pour leur amour et leur soutien indéfectible. Sans vous rien de tout cela n'aurait été possible. Je termine par une pensée pour ma grand-mère, qui nous a malheureusement quitté quelques jours avant ma soutenance.

Quand on mène une recherche sur un sujet déterminé, il s'ensuit apparemment soit qu'on fait une découverte, soit qu'on dénie avoir fait une découverte et qu'on reconnaît que la chose est insaisissable, soit qu'on continue la recherche

Sextus Empiricus, *Esquisses pyrrhoniennes*

TABLE DES MATIÈRES

Introduction Générale	22
I Anisotropies optiques et techniques de mesure	27
I.1 État de l'art sur la microscopie de biréfringence de milieux biologiques	31
I.1.1 Structures révélées en microscopie de biréfringence dans les milieux biologiques	31
I.1.1.1 Fibres de collagène	32
I.1.1.2 Filaments d'actine.	34
I.1.1.3 Filaments de myosine	36
I.1.1.4 Microtubules	37
I.1.1.5 Cellules nerveuses	38
I.1.1.6 Autres types de structures présentant de la biréfringence	40
I.1.2 Intérêt de l'imagerie multimodale	41
I.1.2.1 Contraste de phase et fluorescence.	41
I.1.2.2 Génération de seconde harmonique et fluorescence à deux photons.	43
I.2 Rappels sur la polarisation de la lumière et les anisotropies optiques	47
I.2.1 Polarisation de la lumière	47
I.2.1.1 Nature vectorielle de la lumière	47
I.2.1.2 États de polarisation	48
I.2.2 Formalisme de Jones	51
I.2.2.1 Vecteurs de Jones	51
I.2.2.2 Matrices de Jones	52
I.2.3 Formalisme de Stokes-Mueller et sphère de Poincaré	53
I.2.3.1 Vecteur de Stokes	53
I.2.3.2 Sphère de Poincaré	55
I.2.3.3 Degré de polarisation	57

I.2.3.4	Matrice de Mueller	59
I.2.4	Représentations des éléments optiques simples	60
I.2.4.1	Diatténuateur	60
I.2.4.2	Retardateur	64
I.2.4.3	Dépolariseur	66
I.3	Techniques de mesure des anisotropies optiques	69
I.3.1	Philosophie des mesures polarimétriques	69
I.3.1.1	Principe général	69
I.3.1.2	Critères pour qualifier un dispositif de mesure polarimétrique	70
I.3.2	Sensibilité, résolution et précision des techniques de mesure polarimétrique	71
I.3.2.1	Définitions	71
I.3.2.2	Sensibilité et résolution	72
I.3.2.3	Précision	74
I.3.2.4	Choix entre mesure complète et mesure sur fond noir	75
I.3.3	Génération et analyse des états de polarisation	76
I.3.3.1	Domaine temporel	77
I.3.3.2	Domaine spatial	78
I.3.3.3	Interférométrie	79
I.3.3.4	Domaine spectral	79
I.3.4	Exemples de dispositifs de mesures sur fond noir	81
I.3.4.1	Montage classique entre polariseurs croisés	81
I.3.4.2	Dispositifs basés sur une modulation temporelle de la polarisation	82
I.3.4.3	Dispositifs basés sur une modulation spectrale de la polarisation	87
II	Développement sur table optique de dispositifs de mesure sur fond noir d'anisotropies optiques par codage spectral de la polarisation	91
II.1	Principe de fonctionnement : mesure d'une anisotropie sur fond noir par codage spectral de la polarisation	95
II.1.1	Principe du codage spectral de la polarisation	95

II.1.2	Principe de la mesure sur fond noir par codage spectral de la polarisation	98
II.1.2.1	Configuration croisée	103
II.1.2.2	Configuration pour un faible angle de biais β .	104
II.1.2.3	Généralisation	107
II.1.3	Modélisation du bruit	108
II.2	Dispositif de mesure sur fond noir du pouvoir rotatoire par codage spectral de la polarisation	113
II.2.1	Présentation de la configuration de mesure du pouvoir rotatoire	114
II.2.2	Mise en œuvre expérimentale.	116
II.2.2.1	Source à balayage en fréquence optique	117
II.2.2.2	Lames de codage	121
II.2.2.3	Acquisition et numérisation du signal	124
II.2.3	Validation expérimentale de la mesure du pouvoir rotatoire.	126
II.2.3.1	Démonstration de la linéarité de la mesure du pouvoir rotatoire	126
II.2.3.2	Démonstration de la mesure dynamique du pouvoir rotatoire avec un modulateur de Faraday	130
II.2.4	Erreurs systématiques.	131
II.2.4.1	Influence du taux d'extinction des polariseurs et drop-off	132
II.2.4.2	Influence des défauts d'alignements des lames B_1 , B_2 et du polariseur P_2	133
II.2.5	Vérification du modèle de bruit	135
II.2.5.1	Détermination expérimentale des paramètres de bruit de ΔI_n^2	135
II.2.5.2	Optimisation de l'angle de biais en fonction de la puissance incidente	137
II.2.5.3	Stabilité temporelle	137
II.2.5.4	Optimisation de la résolution relative en fonction du pouvoir rotatoire	139
II.3	Dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimuth par codage spectral de la polarisation	145
II.3.1	Présentation de la configuration de mesure de la retardance linéaire	146
II.3.2	Choix des lames $\lambda/4$.	149
II.3.2.1	Caractérisation de la réponse polarimétrique d'une lame $\lambda/4$	150
II.3.2.2	Vérification de la compensation de deux lames $\lambda/4$	152

II.3.3	Erreurs systématiques, méthodes de compensation et stabilité temporelle	156
II.3.3.1	Influence de la largeur spectrale de la source à balayage sur la mesure de la retardance linéaire	156
II.3.3.2	Simulation de l'influence des imperfections des lames $\lambda/4$	159
II.3.3.3	Évaluation analytique de l'impact des erreurs systématiques et procédure de correction.	165
II.3.3.4	Influence des erreurs systématiques sur la résolution et compensation par l'ajout d'une 3ème lame $\lambda/4$	168
II.3.4	Vérification de la réponse du dispositif en retardance linéaire et en azimuth	173
II.3.4.1	Soustraction d'une mesure à vide pour le découplage de la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth.	173
II.3.4.2	Stabilité temporelle	175
II.3.5	Exemple de mesure de la retardance linéaire avec un actuateur piézoélectrique	177

III Implémentation du dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire au sein d'un microscope à balayage laser pour l'imagerie de faibles biréfringences **181**

III.1	Réponse polarimétrique du milieu d'étude et affichage des images	185
III.1.1	Influence de la réponse polarimétrique du milieu d'étude sur la mesure de la retardance linéaire.	185
III.1.1.1	Présence de plusieurs effets polarimétriques déterministes.	185
III.1.1.2	Mesure du degré de polarisation	187
III.1.1.3	Bilan	189
III.1.2	Affichage des images.	190
III.1.2.1	Représentation de la couleur	191
III.1.2.2	Caractérisation des tables de couleurs.	195
III.1.2.3	Codage couleur de la retardance linéaire	199
III.1.2.4	Codage couleur de l'azimut.	202
III.1.2.5	Codage couleur du degré de dépolarisation	205
III.1.2.6	Pistes de réflexions	207

III.2 Imagerie de biréfringence à haute sensibilité avec un microscope à balayage laser	209
III.2.1 Implémentation opto-mécanique	210
III.2.1.1 Schéma général du microscope à balayage laser.	212
III.2.1.2 Configuration optique.	214
III.2.1.3 Procédures d'alignement	217
III.2.1.4 Facteurs limitant la sensibilité de la mesure de la retardance linéaire	219
III.2.2 Synchronisation de la mesure de la retardance linéaire avec le balayage du microscope	224
III.2.3 Résultats	227
III.2.3.1 Imagerie de biréfringence d'un rotifère <i>Keratella cochlearis</i>	227
III.2.3.2 Imagerie de biréfringence, azimuth et dépolarisation d'un tissu cancéreux humain	232
III.2.3.3 Évolution temporelle de la biréfringence dans une cellule cancéreuse humaine <i>HGT-1</i>	234
III.2.3.4 Adaptation du calibre pour l'imagerie d'un échantillon très fortement biréfringent (ruban adhésif)	237
III.2.3.5 Couplage avec des techniques non-linéaires (<i>SHG</i> et <i>TPEF</i>)	237
III.2.3.6 Pistes d'améliorations.	239
Conclusion générale et perspectives	244
Annexes	251
A.I Vecteurs de Jones et de Stokes pour différents états de polarisation	251
A.II Détermination expérimentale du drop-off ϖ et du taux d'extinction des polariseurs ϵ	252
Bibliographie	255
Publications et communications orales	291

TABLE DES FIGURES

I.1.1	Images de retard optique et azimuth de collagène dans différents tissus . . .	33
I.1.2	Image d'un carcinome canalaire in situ (DICS)	34
I.1.3	Images de fibroblastes vivants	35
I.1.4	Images d'une cellule musculaire lisse vasculaire	35
I.1.5	Image en retard optique et azimuth de muscle strié de rat	36
I.1.6	Image en biréfringence de muscle squelettique de poisson zèbre	37
I.1.7	Images de retard optique en fonction du temps pour des spermatoctes de cousins	38
I.1.8	Images d'une coupe de cerveau humain atteint de sclérose latérale amyotro- phique	39
I.1.9	Images d'une coupe de cerveau de souris saine.	39
I.1.10	Signal électrique transmis par le nerf et variation relative de sa biréfringence	40
I.1.11	Images de cellules épithéliales d'ostéosarcome U2OS	42
I.1.12	Images d'une coupe de cerveau de souris autour du corps calleux	42
I.1.13	Images de la paroi d'une aorte de lapin.	44
I.2.1	Ellipse de polarisation	49
I.2.2	Etats de polarisation	50
I.2.3	Succession d'éléments optiques transformateurs de polarisation	52
I.2.4	Sphère de Poincaré	56
I.2.5	Différents types de lumière sur la sphère de Poincaré	58
I.2.6	Action d'un polariseur linéaire parfait	62
I.2.7	Action d'une lame quart d'onde	65
I.2.8	Action d'un élément rotateur	66
I.2.9	Action d'un élément dépolarisant	67
I.3.1	Schéma de principe d'une mesure de la réponse polarimétrique d'un milieu, en transmission	70
I.3.2	Sphères de Poincaré PSG, Mueller et fond noir	76

I.3.3	Schéma de la mesure avec polariseurs croisés.	81
I.3.4	Schéma de la mesure sur fond noir avec modulateur actif.	83
I.3.5	Schéma du microscope plein champ à modulateurs de Faraday développé par J. Kuhn et al.	84
I.3.6	Schéma du LC-PolScope développé par R. Oldenbourg et M. Shribak.	86
I.3.7	Schéma du dispositif développé par Y. Nishiyama.	87
I.3.8	Schéma du microscope plein champ avec lame de quartz développé par M. Shribak	88
I.3.9	Couleur/azimut pour le PPM développé par M. Shribak	89
II.1.1	Schéma de principe du codage spectral de la polarisation.	97
II.1.2	$I = f(t)$ et $ FT\{I = f(t)\} $	97
II.1.3	Sphère de Poincaré pour différents β	99
II.1.4	Schéma général du montage de mesure d'une anisotropie A	100
II.1.5	États de polarisation en sortie des lames de codage avec un faible β	102
II.1.6	Spectres cannelés et leurs transformées de Fourier sans et avec anisotropie .	105
II.2.1	Dispositif de mesure du pouvoir rotatoire	114
II.2.2	Sphère de Poincaré pour le dispositif de mesure du pouvoir rotatoire	115
II.2.3	Dispositif de mesure des anisotropies optiques circulaires (expérience)	117
II.2.4	Schéma de la source à balayage de fréquence optique	118
II.2.5	Balayage d'une raie laser en longueur d'onde.	119
II.2.6	Puissance optique et signaux <i>sweep-trigger</i> / <i>k-clock</i> au cours du balayage .	120
II.2.7	Exemple de spectres cannelés et leurs TF acquis sans et avec k-clock	122
II.2.8	Lames de codage dans leurs montures dédiées	123
II.2.9	$ FT(\rho I(t)) $ sans et avec Blackmann-Harris	125
II.2.10	Validation du dispositif de mesure du pouvoir rotatoire avec analyseur sur platine motorisée	126
II.2.11	Spectres cannelés acquis pour différents θ_{moteur}	127
II.2.12	$ FT(\rho I(t)) $ pour différents θ_{moteur}	128
II.2.13	$ \gamma - \gamma _{BG} = f(\theta_{moteur})$	129
II.2.14	Validation du dispositif de mesure du pouvoir rotatoire avec un modulateur de Faraday.	130
II.2.15	$\theta_{exp} = f(temps)$, avec le modulateur de Faraday.	131
II.2.16	$\Delta I_{n,eff}^2 / BP = f(I_{RMS})$	135

TABLE DES FIGURES

II.2.17	$\Delta\theta = f(I_0)$, pour $0.4 I_{sat}$, $0.7 I_{sat}$ et I_{sat}	138
II.2.18	$\Delta_A\theta$ en fonction de τ	140
II.2.19	Simulation $\Delta\theta/\theta$ en fonction de β et de θ	141
II.2.20	$\Delta\theta/\theta$ en fonction de θ pour différents calibres	142
II.3.1	Dispositif de mesure de la retardance linéaire et de son azimuth	146
II.3.2	Sphère de Poincaré pour le dispositif de mesure des anisotropies optiques circulaires	147
II.3.3	Caractérisation de la réponse spectrale d'une lame $\lambda/4$	150
II.3.4	Spectres cannelés acquis pour différentes lames $\lambda/4$ (une seule lame)	151
II.3.5	$ FT(\rho I(t)) $ pour différentes lames $\lambda/4$ (une seule lame)	153
II.3.6	Montage pour la vérification de la compensation de deux lames $\lambda/4$	154
II.3.7	Spectres cannelés acquis pour différentes lames $\lambda/4$ (deux lames)	155
II.3.8	I_0 pour différentes lames $\lambda/4$ (deux lames).	156
II.3.9	$ FT(\rho I(t)) $ pour différentes lames $\lambda/4$ (deux lames)	157
II.3.10	Retardance linéaire selon l'ordre p	158
II.3.11	Différence entre la valeur de la retardance linéaire mesurée et la valeur théo- rique selon la largeur spectrale de la source	159
II.3.12	Simulations $\lambda/4$ parfaites	160
II.3.13	Simulations $\lambda/4$ achromatiques ainsi que d'ordre 0, 1 et 2	161
II.3.14	Simulations $\lambda/4$ avec décalage de λ_0	162
II.3.15	Simulations $\lambda/4$ non-compensées	163
II.3.16	Simulations $\lambda/4$ désalignées	164
II.3.17	Simulations $\lambda/4$ désalignées	164
II.3.18	Simulations avec plusieurs erreurs.	167
II.3.19	Dispositif de mesure de la retardance linéaire et de son azimuth, avec 3ème $\lambda/4$	170
II.3.20	États de polarisation au niveau de l'analyseur	171
II.3.21	$ FT(\rho I(t)) $ sans et avec 3ème lame $\lambda/4$	172
II.3.22	Découplage de la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth	173
II.3.23	$(LR_{mes}, \alpha_{mes}) = f(\alpha_{manuel})$ (avec correction).	174
II.3.24	$\Delta_A LR$ en fonction de τ	175
II.3.25	$\Delta_A LR$ en fonction de τ	176
II.3.26	Vérification de la réponse temporelle avec un actuateur piézoélectrique	177
II.3.27	$LR=f(\text{temps})$ avec un piézoélectrique.	178

III.1.1	Espace RGB.	192
III.1.2	Espace HSV	193
III.1.3	Espace HSV	193
III.1.4	Espace CIE L*a*b*.	194
III.1.5	Image de test d'une table de couleurs séquentielle.	196
III.1.6	Image de test d'une table de couleurs cyclique.	198
III.1.7	Luminosité d'une table de couleur <i>colorcet-I1</i>	198
III.1.8	Image de test <i>colorcet-I1</i>	199
III.1.9	Image de test <i>inferno</i>	200
III.1.10	Luminosité d'une table de couleur <i>inferno</i>	200
III.1.11	Luminosité d'une table de couleur <i>hot</i>	201
III.1.12	Image de test <i>hot</i>	202
III.1.13	Image de test <i>HSV</i>	203
III.1.14	Luminosité d'une table de couleur <i>HSV</i>	204
III.1.15	Luminosité d'une table de couleur <i>HSV-E</i>	204
III.1.16	Image de test <i>HSV-E</i>	205
III.1.17	Luminosité d'une table de couleur <i>ddp</i>	206
III.1.18	Image de test <i>ddp</i>	206
III.2.1	Microscope à balayage Thorlabs CM100 avec dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire (Photographie).	211
III.2.2	Schéma général du microscope à balayage	213
III.2.3	Schéma optique du microscope à balayage	215
III.2.4	Spectres cannelés acquis pour différents θ_{moteur}	221
III.2.5	Réflexions multiples au niveau du condenseur	223
III.2.6	Réflexions multiples au niveau de l'objectif.	224
III.2.7	Signaux de l'axe rapide du scanner	225
III.2.8	Signaux de l'axe lent du scanner	226
III.2.9	Images de retard optique d'un rotifère <i>Keratella cochlearis</i> , comparaison des tables de couleurs <i>inferno/hot</i>	228
III.2.10	Coupe de l'image de retard optique d'un rotifère <i>Keratella cochlearis</i>	229
III.2.11	Sphères de Poincaré PSG, fond clair et fond noir	230
III.2.12	Images de retard optique d'un rotifère <i>Keratella cochlearis</i> , comparaison mesures sur fond clair et sur fond noir	231

TABLE DES FIGURES

III.2.13 Coupe de l'image de retard optique d'un rotifère <i>Keratella cochlearis</i> , comparaison mesures sur fond clair et sur fond noir	231
III.2.14 Images de retard optique et de dépolarisation d'une coupe de colon cancéreux humain.	233
III.2.15 Images d'une coupe de colon cancéreux humain en retard optique et azimuth	234
III.2.16 Images d'une cellule cancéreuse HGT-1 en retard optique et azimuth.	235
III.2.17 Évolution temporelle du retard optique dans une cellule cancéreuse humaine <i>HGT-1</i>	236
III.2.18 Adaptation du calibre pour l'imagerie d'un milieu d'étude très fortement biréfringent	238
III.2.19 Images d'une coupe de colon cancéreux humain avec des techniques non-linéaires et polarimétrique	240
A.II.1 $I_{DC}/F_5 = f(1/\beta^2)$ (Glan-Taylor)	253
A.II.2 $I_{DC}/F_5 = f(1/\beta^2)$ (Polarcors TM).	253

LISTE DES TABLEAUX

II.2.1	Caractéristiques des matériaux utilisés pour les lames de retard	122
II.2.2	Caractéristiques de la photodiode à avalanche APD module C12703SPL . . .	124
III.2.1	Références des couples objectif/condenseur.	216
III.2.2	Limite de résolution théorique pour les couples objectif/condenseur	216
III.2.3	Transmission des éléments optiques du microscope à balayage	219
III.2.4	Taux d'extinction des couples objectif Obj_1 /condenseur Obj_2	222
A.I.1	Vecteurs de Jones et de Stokes pour différents états de polarisation.	251

Introduction Générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Tout le monde apprécie le diamant, les pierres précieuses et les perles... mais celui qui, au contraire, préfère à ces délices la connaissance de phénomènes inhabituels, celui-là, je l'espère, n'aura pas moins de joie à découvrir une nouvelle sorte de corps, à savoir un cristal transparent qui nous est récemment venu d'Islande, et qui est peut-être l'une des plus grandes merveilles que la nature ait produite...

Alors que mes recherches sur ce cristal avançaient, il se produisit un phénomène magnifique et extraordinaire : les objets que l'on regarde à travers le cristal ne donnent pas, comme dans le cas d'autres corps transparents, une image réfractée unique, mais ils apparaissent en double.

Erasme Bartholin

Le phénomène de biréfringence (double réfraction) ne fut d'abord qu'une simple curiosité de la nature, qui provoqua l'émerveillement de son découvreur E. Bartholin [1]. Néanmoins sa découverte et les travaux qui s'ensuivirent, permirent de mettre en évidence la nature vectorielle de l'onde optique. Ainsi outre son intensité, sa fréquence et sa phase, l'onde optique est également caractérisée par sa polarisation, qui décrit la manière dont le vecteur champ électrique de l'onde évolue dans le temps. Celle-ci peut être modifiée par la traversée ou à la réflexion sur un milieu, et l'étude de ces modifications permet alors d'obtenir des informations sur le milieu d'étude. A partir du début du *XIX^{ème}*, à la suite notamment des travaux de F. Arago, J.B. Biot et A. Fresnel [2], la polarimétrie, c'est-à-dire la mesure de la polarisation de la lumière et de ses modifications, a connu un essor important et a trouvé de nombreux domaines d'applications, de la caractérisation de matériaux (notamment les propriétés chirales [3-5], mais aussi par exemple la rhéologie [6, 7]) à la télédétection [8-10], de la physique quantique [11-13] à l'astronomie [14, 15] ainsi que pour les applications biomédicales [16-20], dans lesquelles s'inscrivent les travaux ici présentés.

L'intérêt d'utiliser la lumière comme moyen d'investigation est qu'elle permet d'identifier, de localiser et de caractériser des structures dans les milieux d'étude, sans contact, à l'échelle microscopique et de manière généralement non destructive.

Toutefois l'imagerie de milieux biologiques fins (tels que des coupes histologiques non-colorées ou des cultures cellulaires) est difficile en microscopie plein champ conventionnelle, car ceux-ci sont généralement transparents et n'offrent donc que peu de contraste en transmission.

Pour contourner ce problème, de nombreuses techniques de marquage ont été développées permettant de révéler, de manière plus ou moins spécifique, des contrastes dans ce type de milieu (soit en absorption, soit en fluorescence).

Cependant, ces techniques de marquage sont souvent longues, coûteuses et peuvent dégrader les structures que nous souhaitons observer. Par ailleurs, il peut être délicat de les pratiquer sur des milieux vivants (tels qu'une culture cellulaire). Il y a donc un intérêt à développer des techniques d'imagerie sans marquage pour les applications biomédicales.

Une solution possible est de tirer parti du fait qu'un certain nombre de structures d'intérêt biomédical sont biréfringentes, telles que les fibres de collagène et d'élastine dans les tissus connectifs, les microtubules et les filaments d'actine dans le cytosquelette, etc. [16, 21, 22]. La biréfringence pouvant également être induite par contrainte mécanique, il est de plus possible en la mesurant de remonter aux propriétés mécaniques des tissus [23, 24].

Toutefois les retardances mesurées sont très faibles car les milieux imagés sous microscope sont généralement très fins (coupes histologiques ou cultures cellulaires)¹. Nous avons donc cherché à développer une nouvelle méthode de mesure de la retardance qui soit très sensible, afin de mettre en évidence des structures d'intérêt, faiblement biréfringentes, dans des milieux biologiques.

Cette méthode devait également être suffisamment rapide et compacte pour pouvoir être aisément intégrée dans un microscope à balayage laser, ceci afin de pouvoir la coupler et de la comparer avec des techniques d'imagerie non-linéaires, déjà utilisées au sein de notre laboratoire [25-27] et qui sont aussi des techniques sans marquage [28, 29] mais nécessitant l'emploi de sources lasers femtosecondes.

Lors d'une thèse précédemment menée au sein du laboratoire, A. Le Gratiet a développé un microscope à balayage laser permettant de réaliser la mesure complète de la matrice de Mueller en temps réel, par codage spectral de la polarisation [30]. Malheureusement cette technique est intrinsèquement limitée en terme de sensibilité pour la mesure de la retardance et cela réduit son intérêt pour l'étude de milieux faiblement biréfringents.

1. La retardance, qui est la grandeur que nous mesurons, est proportionnelle à la biréfringence et à l'épaisseur, cf. équation I.2.39

Le but de cette thèse a donc été de développer une nouvelle modalité de microscopie, toujours par codage spectral de la polarisation, mais beaucoup plus sensible car basée sur le principe de la mesure sur fond noir.

Lorsque j'ai commencé ma thèse au sein du laboratoire OPTIMAG, une première étude théorique avait été réalisée quant à la possibilité de réaliser une mesure du pouvoir rotatoire par codage spectral de la polarisation. Aussi le début de ma thèse a consisté à implémenter, sur table optique, un dispositif de mesure du pouvoir rotatoire basé sur ce principe et permettant de réaliser une mesure sur fond noir. Cette version a permis de valider cette méthode de mesure, notamment en terme de sensibilité, et de vérifier notre modélisation du bruit associé.

Dans un deuxième temps ce montage a été décliné en une version destinée à la mesure de la retardance linéaire et de son azimut. L'ajout de nouveaux éléments optiques ajoutant de nouvelles sources d'erreurs systématiques, un important travail de métrologie supplémentaire a été mené et des méthodes permettant de compenser en partie ces erreurs ont été développées.

Dans la dernière partie de la thèse, le dispositif de mesure de la retardance linéaire et de son azimut, précédemment validé sur table optique, a été implémenté dans un microscope à balayage laser. Nous avons alors pu commencer, en collaboration avec des biologistes, à explorer les potentialités de cette nouvelle modalité de mesure pour l'imagerie de milieux biologiques.

Ces travaux ont fait l'objet d'un article, d'une communication orale internationale avec acte, de trois communications orales nationales ainsi que d'un dépôt de brevet. En outre, deux autres articles sont en préparation au moment de la rédaction de ce manuscrit. Les références correspondantes sont listées en fin de manuscrit.

Ce manuscrit se divise en trois parties :

La **première partie** débutera par la présentation d'exemples d'applications de l'imagerie de biréfringence en biologie et en médecine afin d'illustrer l'intérêt de cette modalité et la diversité de ses applications. Puis nous introduirons les formalismes mathématiques permettant de traiter de la polarisation, en nous intéressant en particulier au formalisme de Jones, de Stokes-Mueller et à la représentation sur la sphère de Poincaré. Enfin nous aborderons les différentes techniques permettant de réaliser des mesures polarimétriques et nous en présenterons en particulier différentes techniques basées sur la mesure sur fond noir.

La **deuxième partie** introduira le principe du codage spectral de la polarisation et son utilisation pour réaliser une mesure sur fond noir, d'un point de vue théorique. Nous présenterons ensuite l'implémentation expérimentale du dispositif de mesure sur fond noir sur table optique, d'abord dans la version dédiée à la mesure de pouvoir rotatoire, afin de valider le principe de la mesure et le modèle du bruit, puis dans la version destinée à la mesure de la retardance linéaire, où nous nous attarderons davantage sur la question des erreurs systématiques et des solutions pour les compenser.

La **troisième partie** traitera d'abord des biais sur la mesure de la retardance linéaire dûs à la réponse polarimétrique des milieux d'études qui peut être plus complexe qu'un simple modèle de biréfringent linéaire pur. Nous aborderons ensuite la question de la représentation des images et nous présenterons les choix des tables de couleurs utilisées pour représenter les différentes informations polarimétriques. Enfin viendra l'implémentation du dispositif de mesure de la retardance linéaire dans un microscope à balayage laser. Nous présenterons alors des images de milieux biologiques afin d'illustrer les potentialités de cette nouvelle modalité de microscopie.

PREMIÈRE PARTIE

Anisotropies optiques et techniques de mesure

PLAN DE LA PREMIÈRE PARTIE

Dans la première partie de ce manuscrit, nous allons présenter le contexte général de la thèse. Pour ce faire nous allons d'abord présenter des exemples d'applications de la microscopie polarimétrique, illustrant son intérêt pour la biologie et la médecine. Nous introduirons ensuite le formalisme permettant de traiter de la polarisation et des anisotropies optiques. Enfin nous décrirons différentes philosophies permettant de réaliser une mesure polarimétrique.

Le chapitre I.1 présentera des exemples d'applications de la microscopie de biréfringence. La deuxième partie du chapitre abordera des configurations de microscopies multimodales, combinant la microscopie polarimétrique avec d'autres modalités.

Le chapitre I.2 rappellera d'abord les notions de polarisation de la lumière et d'états de polarisation. Nous introduirons ensuite les formalismes permettant de traiter de la modification des états de polarisation par un milieu. Nous commencerons par le formalisme de Jones, qui sera le plus utilisé dans ce manuscrit. Le formalisme de Stokes-Mueller sera ensuite abordé puis nous présenterons la sphère de Poincaré, qui est une représentation graphique des états de polarisation. Enfin, nous évoquerons le cas de quelques anisotropies optiques simples.

Le chapitre I.3 commencera par expliquer le principe général de la mesure polarimétrique. Nous comparerons ensuite les différentes philosophies de mesure polarimétrique, dont la mesure *sur fond noir*, en terme de sensibilité, de résolution et de précision. Nous évoquerons ensuite les différentes manières utilisées pour générer et analyser des états de polarisation et nous terminerons en proposant un panorama des techniques existantes permettant de réaliser une mesure sur fond noir.

ÉTAT DE L'ART SUR LA MICROSCOPIE DE BIRÉFRINGENCE DE MILIEUX BIOLOGIQUES

Dans ce premier chapitre, nous souhaitons illustrer l'intérêt de la microscopie polarimétrique pour différentes applications en biologie et en médecine, avec quelques exemples issus de la littérature, et les potentialités des configurations de microscopies multimodales, combinant la microscopie polarimétrique avec d'autres modalités.

Dans le cadre de la microscopie de milieux biologiques fins en transmission, la biréfringence est l'effet polarimétrique prépondérant. Nous allons donc ici nous focaliser sur la microscopie de biréfringence.

I.1.1 Structures révélées en microscopie de biréfringence dans les milieux biologiques

La biréfringence désigne une anisotropie optique de phase et correspond à la différence entre les indices de réfraction associés aux axes propres du milieu. La biréfringence observable dans la matière biologique provient de structures possédant un certain degré d'alignement au niveau moléculaire (biréfringence intrinsèque) ou une asymétrie structurale (biréfringence de forme), notamment les membranes et les arrangements macromoléculaires en forme de filaments (ex : protéines fibreuses). Il est ainsi possible d'observer de la biréfringence au niveau intra- et extra-cellulaire dans la matière biologique. Par exemple, la plupart des biopolymères qui forment des systèmes alignés, lorsqu'ils sont mis en solution aqueuse, produisent de la biréfringence linéaire par combinaison de biréfringence de forme et intrinsèque. C'est le cas notamment des fibres de collagène, des filaments d'actine et des microtubules.

La microscopie de polarisation appliquée aux tissus biologiques permet donc de révéler sans marquage des structures d’intérêt biologique, voir médical. Nous proposons de lister les structures qui ont été observées par microscopie de biréfringence dans la littérature, en indiquant leur potentiel d’application dans le domaine biomédical.

I.1.1.1 Fibres de collagène

Le collagène fait partie d’une famille de protéines dites structurales, le plus souvent présente sous forme fibrillaire et présent dans la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs des organismes animaux. Ces protéines ont pour fonction de conférer aux tissus une résistance mécanique à l’étirement. C’est la protéine la plus abondante du règne animal, représentant le quart environ de la masse protéique des mammifères. Il est présent par exemple dans les os [31], la peau [32, 33] le cartilage [34, 35], la cochlée [36-38], les tendons [39], les muscles [40, 41] et les parois des vaisseaux [26, 42]. Étant donné leur degré d’alignement important, les fibres de collagène présentent une forte biréfringence et sont donc facilement observables en microscopie de biréfringence. La figure I.1.1 présente quelques images de biréfringence de différents tissus (œil, fémur, oreille interne et aorte) mettant en jeu du collagène fibrillaire.

L’organisation spatiale de ces fibres peut prendre des formes très différentes, pour répondre aux exigences imposées par la fonction physiologie de chaque tissu. Par exemple, les fibres sont uniformément orientées en tendons, elles forment des structures hélicoïdales dans les os, alors qu’elles sont fortement enchevêtrées dans des motifs apparemment aléatoires dans le derme et les viscères.

Le collagène est une protéine largement mise en jeu dans le remodelage des tissus et possède donc un potentiel intéressant en histopathologie notamment pour le diagnostic précoce de plusieurs cancers (peau [44], sein [45], foie [46-48], etc.).

A titre d’exemple, en 2021, A. Keikhosravi et al. ont réalisé l’étude de différents types de tissus cancéreux et ont pu identifier des tumeurs grâce à la microscopie de biréfringence (figure I.1.2) [45].

A noter que l’imagerie en temps réel sur des structures non fixées pourrait se révéler intéressante pour visualiser la réorganisation du collagène dans une coupe de tissu sous contrainte mécanique, ce qui a déjà été réalisé par exemple en microscopie de génération de second harmonique sur du tendon [49].

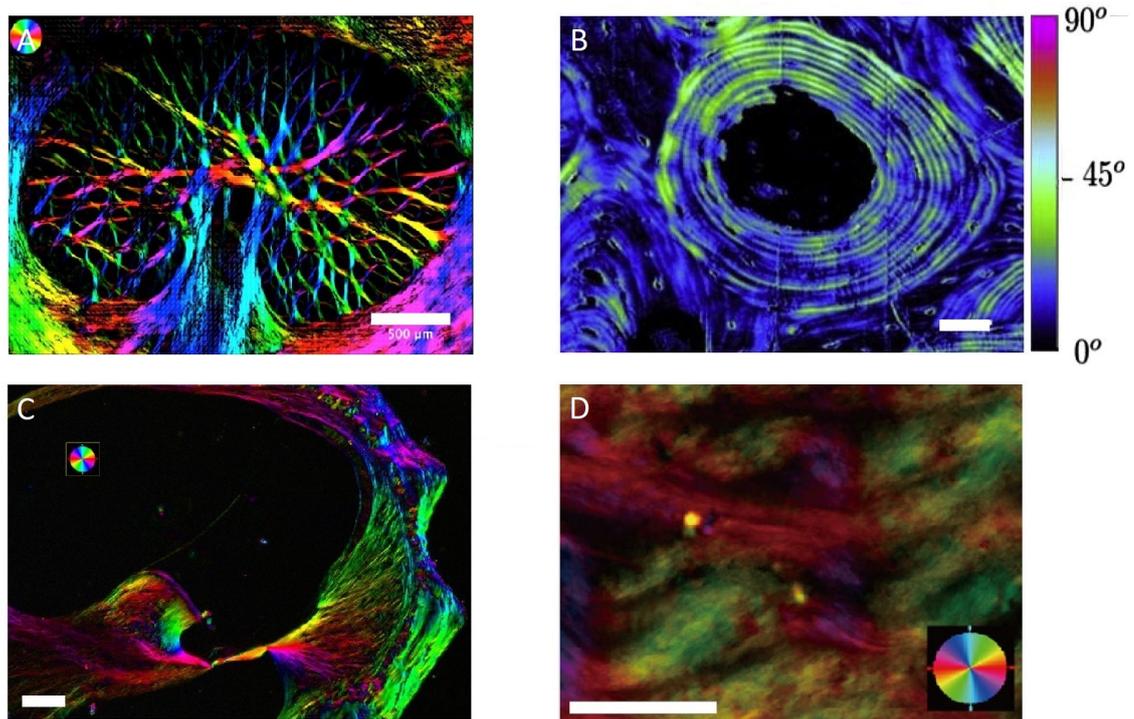


FIGURE I.1.1 – Images de retard optique et azimuth de collagène dans différents tissus : A, lame criblée de la sclère (*Lamina cribrosa*) d'un œil humain. La barre d'échelle correspond à $500 \mu m$ [43]. B, ostéon d'un fémur humain. La barre d'échelle correspond à $100 \mu m$ [31]. C, coupe de la tour basal cochléaire d'une souris C57BL/6J. La barre d'échelle correspond à $100 \mu m$ [36]. D, coupe d'une aorte thoracique de porc. La barre d'échelle correspond à $50 \mu m$ [42]

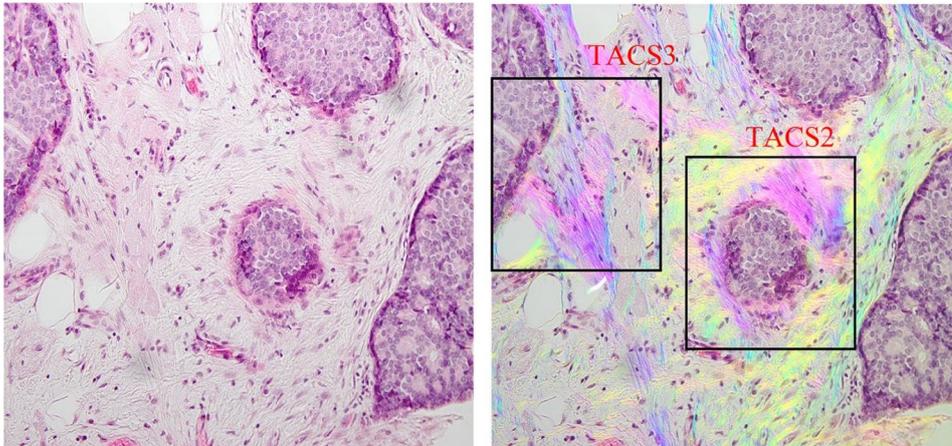


FIGURE I.1.2 – Image d'un carcinome canalaire in situ (*DCIS, Ductal Carcinoma In Situ*, type courant de cancer du sein), coloration *HE* (Hématoxyline et Éosine). Le champ de l'image est de $692 \times 519 \mu m$. A gauche, image en transmission; à droite, image en transmission avec l'image de biréfringence et azimuth surimposée. Les cadres indiquent des zones présentant des fibres de collagène typiques des tumeurs TACS-2 et TACS-3 (*TACS, Tumor Associated Collagen Signatures*) [45]

I.1.1.2 Filaments d'actine

Les filaments d'actine sont des constituants essentiels du cytosquelette des cellules eucaryotes, ainsi que des fibres musculaires. L'actine représente environ 10% du total des protéines d'une cellule animale typique, la moitié étant assemblée en filaments d'actine alors que l'autre moitié est libre dans le cytosol sous forme de monomères d'actine. L'actine sous forme de filaments est parfois appelée actine F (Fibrillaire), tandis que la forme monomérique est appelée actine G (Globulaire). L'actine F a été observée en microscopie de biréfringence dans les cellules épithéliales U2OS [50] ou encore certains fibroblastes (figure I.1.3) [51].

L'actine F dans le cytosquelette des cellules non musculaires joue un rôle primordial dans la migration et l'adhésion cellulaire grâce à sa capacité à se contracter, et l'imagerie de biréfringence présente donc un potentiel intérêt dans la compréhension de ces processus.

En effet, les travaux de W. Wang et al. [23] et de S. Sugita et al. [24] ont montré qu'il était possible de mesurer la force de traction associée aux filaments d'actine F à l'échelle cellulaire (figure I.1.4), en associant la mesure de la biréfringence avec la microscopie à force de traction, qui permet de mesurer les forces de traction s'exerçant au niveau cellulaire (*TFM, Traction Force Microscopy*) [52].

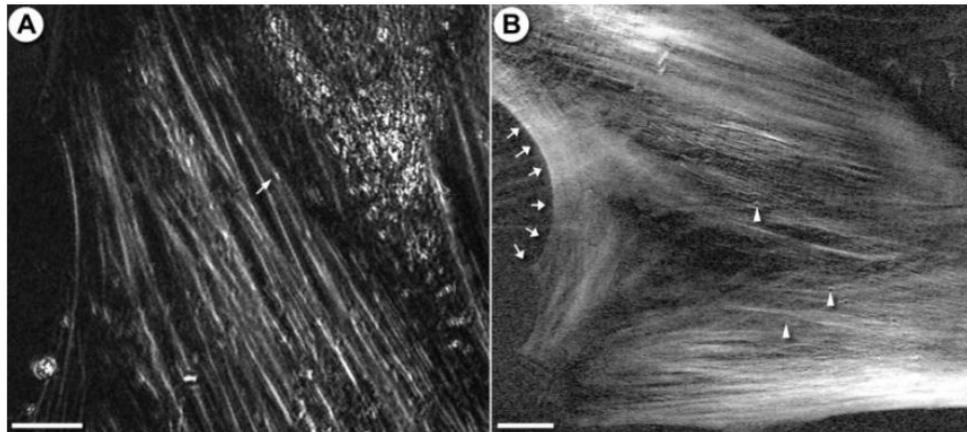


FIGURE I.1.3 – Images de fibroblastes vivants en biréfringence. La barre d'échelle correspond à $10\ \mu\text{m}$. A, fibroblaste REF-52, la flèche blanche indique une vésicule (peut-être une mitochondrie) ; B, fibroblaste 3T3, les trois têtes de flèche indiquent également des vésicules [51]

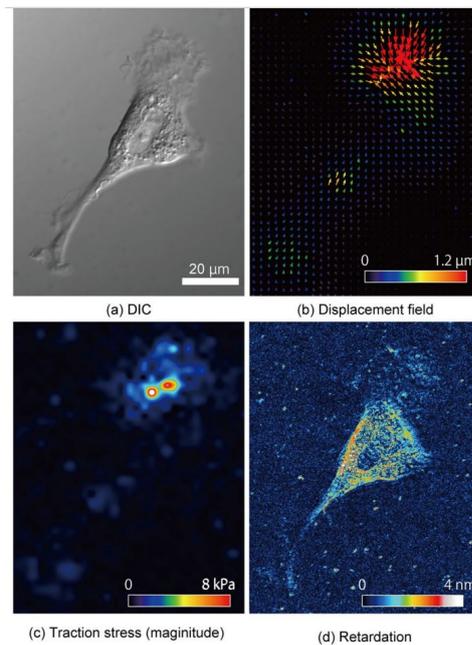


FIGURE I.1.4 – Images d'une Cellule Musculaire Lisse Vasculaire (CMLV ou en anglais *VSMC*, *Vascular Smooth Muscle Cell*) : (a) microscopie à contraste interférentiel (*DIC*, *Differential Interference Contrast*) ; (b) champ de déplacement des microbilles incluses dans le gel de polyacrylamide (μm) (c) amplitude des forces de traction (kPa) (d) retard optique (nm) [24]

I.1.1.3 Filaments de myosine

La famille des myosines regroupe 18 protéines différentes (numérotées de I à XVIII), qui sont notamment différenciées par le nombre de chaînes polypeptidiques qui les composent.

Les myosines sont des moteurs moléculaires convertissant l'énergie chimique de l'hydrolyse de l'ATP en mouvement dirigé le long des filaments d'actine. Ainsi avec l'actine, la myosine est au cœur du processus de contraction musculaire. En effet, la contraction musculaire découle du glissement des myofilaments d'actine sur des myofilaments de myosine.

Les sarcomères, qui sont l'unité fonctionnelle et structurelle du muscle strié, sont constitués de filaments épais de myosine et de filaments d'actine minces organisés de manière complexe. Du fait de cette organisation, ces structures sont très biréfringentes et ont donc fait l'objet d'étude en polarisation dès les années 1940 [26, 53-58].

La biréfringence produite par la myosine (filaments épais) dans les muscles striés est supérieure à celle produite par les filaments d'actine (filaments fins). Cela a d'ailleurs justifié l'appellation bande A (pour Anisotrope) et bande I (pour Isotrope). La bande A est celle qui contient les filaments épais de myosine et apparaît en clair en microscopie en lumière polarisée. L'image de biréfringence d'un muscle strié est donc constituée d'une alternance de bandes de biréfringence plus importante avec des bandes de biréfringence plus faible, telle que le montre la figure I.1.5.

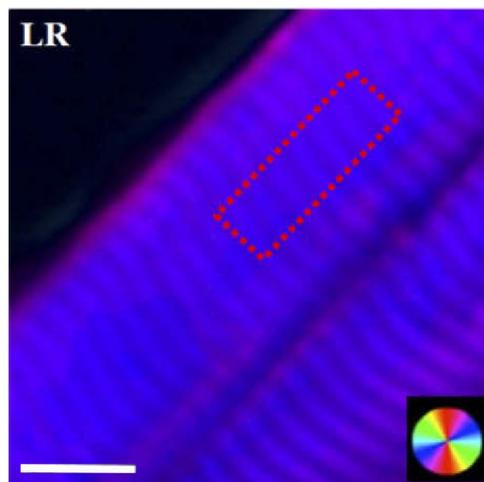


FIGURE I.1.5 – Image en retard optique et orientation de muscle strié de rat. La barre d'échelle correspond à $10 \mu m$ [26]

L'imagerie de biréfringence a ainsi été utilisée pour étudier différentes pathologies musculaires, par exemple la myopathie de Duchenne (figure I.1.6) [58].

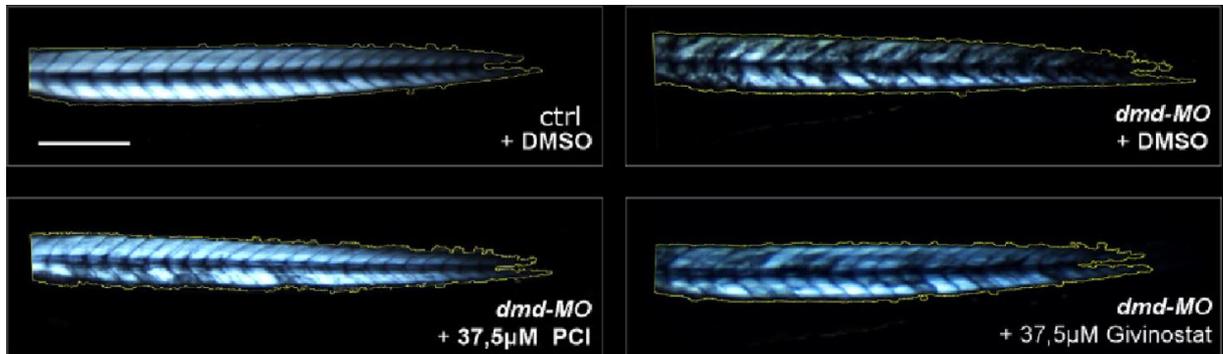


FIGURE I.1.6 – Image en biréfringence des lésions du muscle squelettique (dégradations des fibres de myosine) de la queue dans des embryons de poisson zèbre (*zebrafish*), 72 heures post-fécondation, pour différents traitements : *Contrôle + DMSO*, *dmd – MO + DMSO*, *dmd – MO + PCI* et *dmd – MO + Givinostat*. La barre d'échelle correspond à $100 \mu m$ [58]

I.1.1.4 Microtubules

Le fuseau mitotique est un système mis en place par les cellules eucaryotes pour permettre la migration des chromatides lors de la division cellulaire dès le stade de la prophase. Il est constitué de microtubules et de protéines associées et forme un véritable fuseau entre les pôles opposés d'une cellule. Il assure une bonne répartition des chromosomes dans les cellules lors de la division. Il est donc indispensable à un bon développement cellulaire. Il a été reporté dès les années 1950 qu'il était possible d'observer de la biréfringence lors de la division cellulaire, lié à la nature filamenteuse des microtubules [21]. En effet, la formation d'un faisceau dense de microtubules bien alignés se traduit par une augmentation notable de la biréfringence lors de la division cellulaire.

Pour cette raison, la microscopie de biréfringence fait aujourd'hui l'objet d'un large usage pour les recherches en biologie de la reproduction et du développement [59-68]. Ceci est illustré par la commercialisation d'un microscope de biréfringence (LC-PolScope, version OOsight) par la société Hamilton Thorne¹, qui permet d'identifier le fuseau mitotique à l'intérieur d'ovocytes lors des processus de fertilisation ou de clonage.

1. <https://www.hamiltonthorne.com/index.php/oosight-overview>

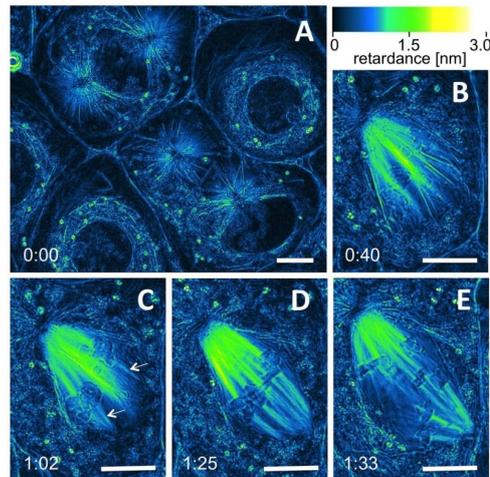


FIGURE I.1.7 – Images de retard optique (nm) en fonction du temps pour des spermatoocytes de cousins *tipulidae*. La barre d'échelle correspond à $10\ \mu m$. En vert, les microtubules; les flèches blanches sur l'image C. indiquent des fibres kinétochores naissantes (temps représenté au format *heure : minute*) [59]

I.1.1.5 Cellules nerveuses

La myéline est une membrane plasmique qui s'enroule en spirale autour des axones des neurones. Cette gaine de myéline permet aux impulsions électriques, appelés *potentiels d'action* (ou *influx nerveux*) de se transmettre rapidement et efficacement le long des cellules nerveuses, notamment par le phénomène de conduction saltatoire [69].

La myéline est composée majoritairement de lipides qui lui donne une teinte blanche, d'où la référence à la *matière blanche* (substance blanche) du cerveau. La myéline forme une structure multilamellaire faite de multiples feuilletts membranaires, présentant de la biréfringence. L'imagerie de la biréfringence a donc été utilisée pour visualiser à différentes échelles les structures cérébrales (voir figure I.1.8) [70-73]

La myélinisation déficiente d'un nerf est la principale cause de maladie neurologique. La démyélinisation fait référence aux dommages et à la perte des gaines de myéline qui entouraient auparavant les nerfs, ce qui entraîne un dysfonctionnement nerveux important et ralentit ou bloque la conduction nerveuse entre le cerveau et le reste du corps. Parmi les maladies les plus connues provoquant une démyélinisation, nous pouvons citer la sclérose en plaques.

Il y a donc un enjeu important pour l'étude du processus de démyélination. Aussi en 2021, M. L. Morgan et al. ont montré la robustesse de l'imagerie de biréfringence pour

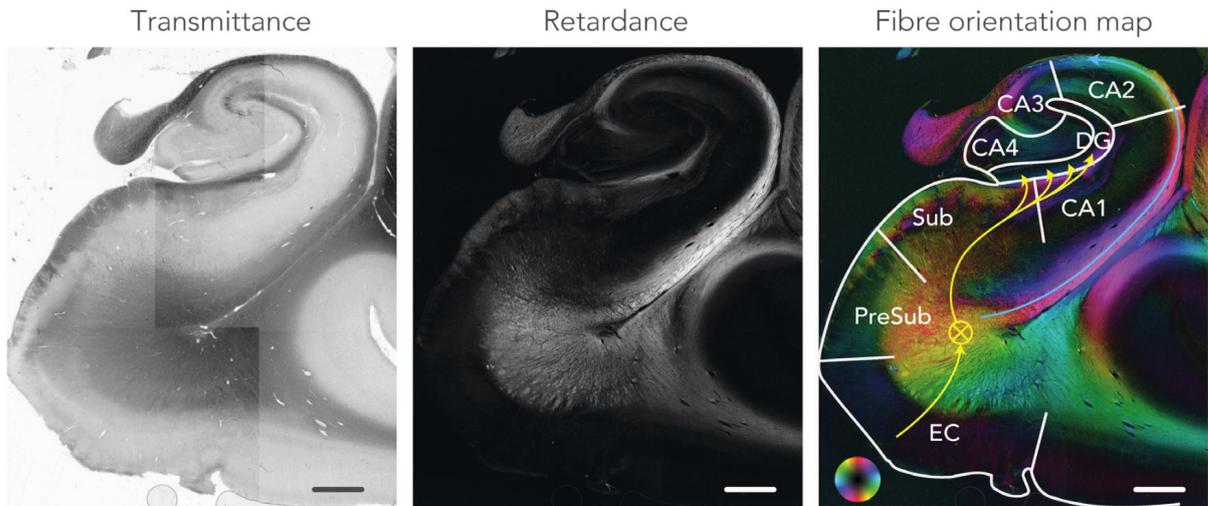


FIGURE I.1.8 – Images d’une coupe de cerveau humain, atteint de sclérose latérale amyotrophique (maladie de Charcot), en transmission, retard optique, retard optique et azimut. La barre d’échelle correspond à 3 mm. CA, Hippocampe ; DG, Gyrus Dentelé ; EC, Cortex Entorhinal ; PreSub, Presubiculum and Sub, Subiculum[70]

l’étude de ce processus, dans des coupes histologiques de cerveaux de souris (figure I.1.9) [73].

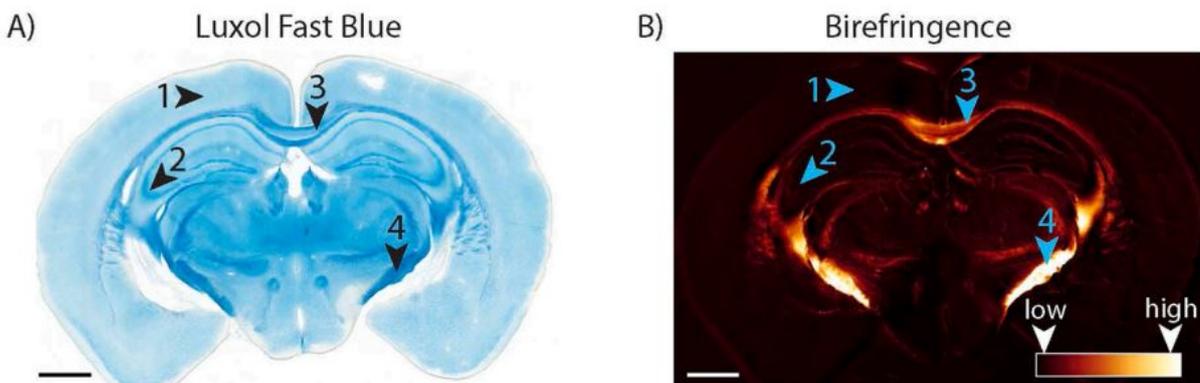


FIGURE I.1.9 – Images d’une coupe de cerveau de souris saine (100 μm d’épaisseur). La barre d’échelle correspond à 1 mm. A) image coloration LFB (*Luxol Fast Blue*) ; B) image de retard optique, dont la valeur maximale est d’environ 60 nm. Les flèches indiquent : 1, le cortex ; 2, l’hippocampe ; 3, le corps calleux ; 4, le pédoncule cérébral [73].

En outre il a été montré que la propagation des potentiels d’action (influx nerveux)

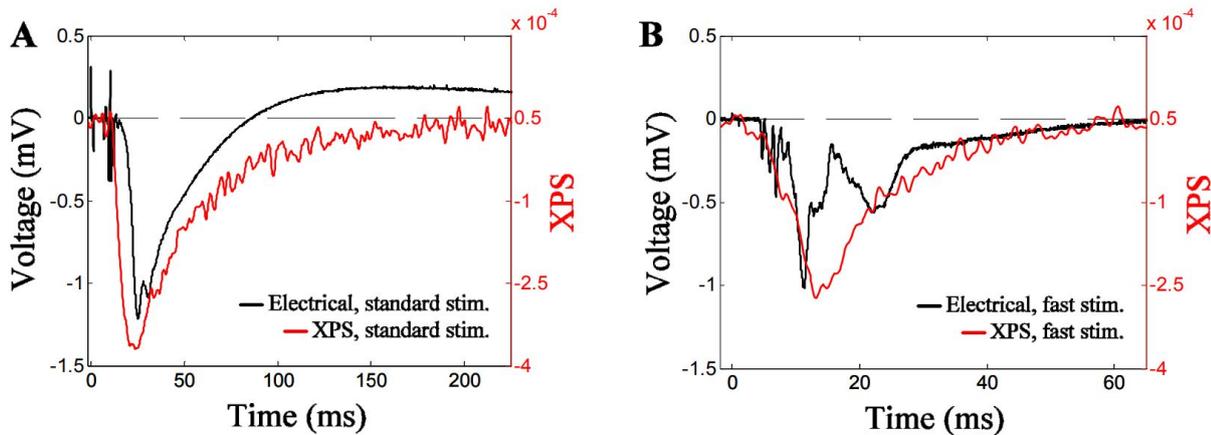


FIGURE I.1.10 – En noir, signal électrique transmis par le nerf (mV) ; en rouge, variation relative de la biréfringence XPS , mesurée entre polariseurs croisés, représentés en fonction du temps (ms). A, fréquence de stimulation de $2 Hz$; B, fréquence de stimulation de $14 Hz$ [76].

provoque des changements locaux de biréfringence, observables tant à l'échelle d'un seul axone que d'un nerf [71, 74-76]. Ces changements semblent être induits par effet Kerr par les fluctuations du champ électrique autour des membranes axonales [74, 76].

Aussi plusieurs auteurs ont proposé d'utiliser la mesure de la biréfringence afin d'étudier la propagation des potentiels d'action [71, 74-76]. Ainsi en 2016, A. Badreddine et al. ont montré par exemple une corrélation entre le signal électrique transmis par un nerf et la variation relative de sa biréfringence (figure I.1.10).

I.1.1.6 Autres types de structures présentant de la biréfringence

Il existe encore de nombreuses structures présentant de la biréfringence dans les milieux biologiques, telles que les fibres d'élastine [26, 77], les gouttelettes lipidiques [78], les amyloïdes [79], les membranes de lipides [80], etc. Dans le règne végétal, nous pouvons également ajouter les fibres de cellulose [81, 82] ou encore les chaînes d'amylopectine dans l'amidon [48, 83, 84].

Il est également possible de mesurer de la biréfringence au niveau de l'interface d'une structure délimitée par un milieu d'indice de réfraction différent. Cette biréfringence, dite *de bord*, est d'autant plus notable que la variation d'indice est importante [85]. Bien qu'encore peu comprise dans le cas des structures biologiques, la biréfringence de bord a été mentionnée comme étant une source de contraste au niveau des membranes [86].

I.1.2 Intérêt de l'imagerie multimodale

La microscopie de polarisation n'est pas sensible à la nature chimique des constituants moléculaires des structures biologiques, mais signe plutôt l'aspect structural et anisotrope de ces structures. Cette modalité d'imagerie manque donc par nature de spécificité et il est parfois pertinent de réaliser de l'imagerie multimodale faisant intervenir d'autres contrastes. La combinaison et la comparaison de ces différents contrastes va ainsi permettre de révéler et d'identifier plus facilement les différentes structures présentes dans les milieux biologiques.

I.1.2.1 Contraste de phase et fluorescence

Le contraste de phase et la fluorescence sont usuellement utilisées en microscopie pour l'observation de milieux biologiques, notamment des cellules. La microscopie en contraste de phase va apporter un contraste lié à l'épaisseur et à la densité de matière alors que la microscopie de fluorescence va permettre de révéler de manière quantitative la distribution de biomolécules spécifiques.

En 2022, I. Ivanov et al. ont proposé un microscope permettant de réaliser à la fois une mesure en fluorescence (intensité, anisotropie et orientation), en contraste de phase ainsi qu'en retard optique et azimut.

Cette technique multimodale a été appliquée à divers milieux d'étude dont des cellules épithéliales humaines d'ostéosarcome *U2OS* (figure I.1.11) et des coupes de cerveau de souris (figure I.1.12) [50].

Pour les cellules U2OS, l'image de fluorescence fait ressortir les fibres d'actine (qui ont été marquées à la *SiR-actin*, près de la membrane basale de la cellule. L'image en contraste de phase permet de visualiser la membrane de la cellule, des nucléotides ainsi que des vésicules. L'image de retard optique et azimut révèle quant à elle les bords de la cellule et des organelles ainsi que les filaments épais du cytosquelette.

Pour la coupe de cerveau de souris, la matière blanche apparaît plus opaque que la matière grise sur l'image en transmission, alors que l'image en contraste de phase de la même zone ne permet pas de distinguer la matière blanche et la matière grise. L'image en retard optique et orientation quant à elle fait ressortir la matière blanche (riche en myéline biréfringente) et permet d'obtenir une information sur l'orientation des fibres.

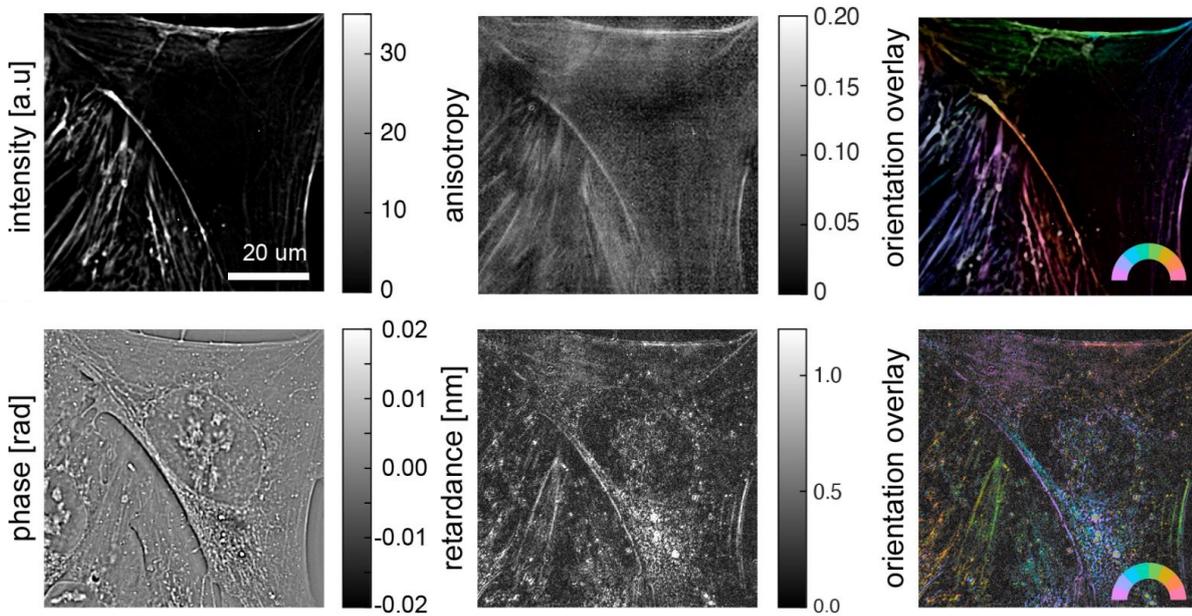


FIGURE I.1.11 – Images de cellules épithéliales humaine d'ostéosarcome *U2OS* ; en haut, à gauche, intensité de la fluorescence ; en haut, au milieu, anisotropie de la fluorescence ; en haut, à droite, intensité et orientation de la fluorescence ; en bas, à gauche, contraste de phase (*rad*) ; en bas, au milieu, retard optique (*nm*) ; en bas, à droite, retard optique et son orientation [50]

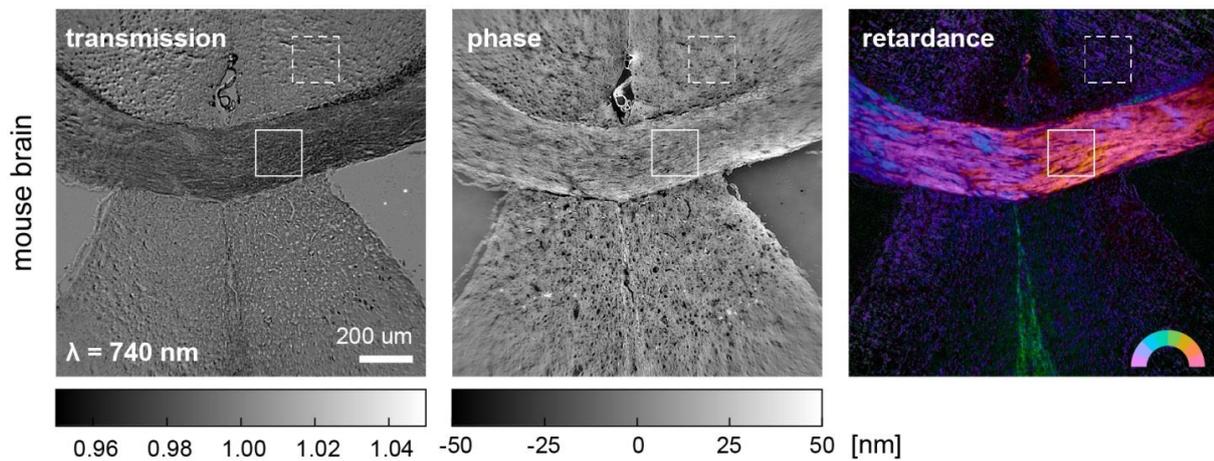


FIGURE I.1.12 – Images d'une coupe de cerveau de souris autour du corps calleux ($12 \mu\text{m}$ d'épaisseur). A gauche, image en transmission, ; au milieu, image en contraste de phase ; à droite, image de retard optique, dont la valeur maximale est d'environ 23 nm , et son orientation. La zone encadrée en trait continu correspond à la matière blanche et la zone encadrée en trait discontinu correspond à la matière grise [50].

I.1.2.2 Génération de seconde harmonique et fluorescence à deux photons

Les modalités de microscopies non-linéaires, telles que la génération de seconde harmonique (*SHG*) et fluorescence à deux photons (*TPEF*), permettent de réaliser des images sans marquage [29]. De plus ces modalités peuvent être résolues en polarisation, par exemple la P-SHG (*Polarization-resolved Second Harmonic Generation*) [28].

Aussi plusieurs études combinent et comparent les modalités de microscopie non-linéaire avec la microscopie de polarisation [26, 48, 87-89].

Le laboratoire OPTIMAG ayant une expertise à la fois en microscopie polarimétrique et en microscopie non-linéaire [25, 27], des travaux de ce type y ont été menés. Citons par exemple, la publication en 2021 par M. Dubreuil et al. d'un article comparant une modalité de microscopie polarimétrique, permettant de réaliser une mesure complète de la matrice de Mueller [30, 48], avec la microscopie SHG, TPEF et P-SHG, pour un muscle strié de rat et pour la paroi d'une aorte de lapin *WHHL* (*Watanabe Heritable Hyper-Lipidemic*) [90] (figure I.1.13) [26].

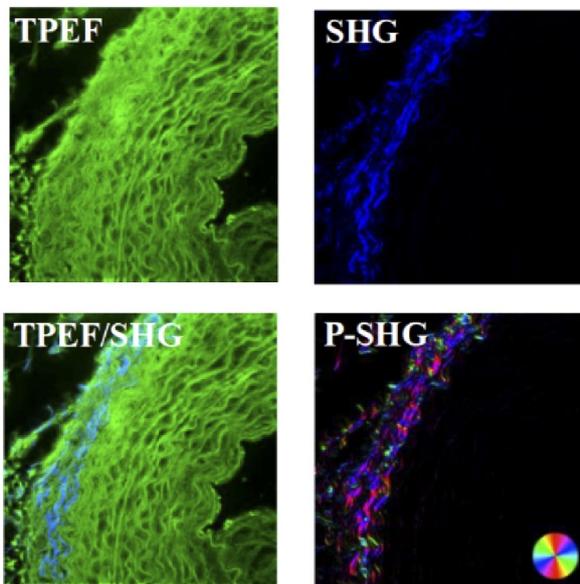
Pour les modalités non-linéaires, l'image en fluorescence à deux photons (autofluorescence, sans marquage) de l'aorte de lapin met en évidence une structure lamellaire dans le milieu de la paroi de l'aorte, associé à la fluorescence de l'élastine. La SHG est quant à elle principalement localisée dans la couche externe de l'aorte, révélant ainsi une forte densité en collagène de type I. Les orientations obtenues par l'image en P-SHG sont associées à l'orientation des fibres de collagène.

Pour la modalité de mesure de la matrice de Mueller, nous ne représentons ici que l'image de biréfringence et son orientation.

La biréfringence est significativement plus forte au niveau de la couche externe de l'aorte, même si la zone lamellaire en présente également, à un niveau moins fort. En effet, les fibres de collagène sont biréfringentes ainsi que l'élastine dans une moindre mesure. L'orientation de la biréfringence est associée à l'orientation des fibres de collagène et correspond à celle obtenue par l'image en P-SHG.

Là où la réponse de la TPEF n'est pas spécifique, faisant apparaître à la fois élastine et collagène, la réponse SHG est spécifique aux fibres de collagène. L'image de biréfringence n'a pas cette spécificité mais permet d'obtenir une information d'orientation sur l'ensemble de l'aorte, là où la P-SHG ne donne une information d'orientation qu'au niveau des fibres de collagène.

(a) Multiphoton images



(b) Mueller matrix image

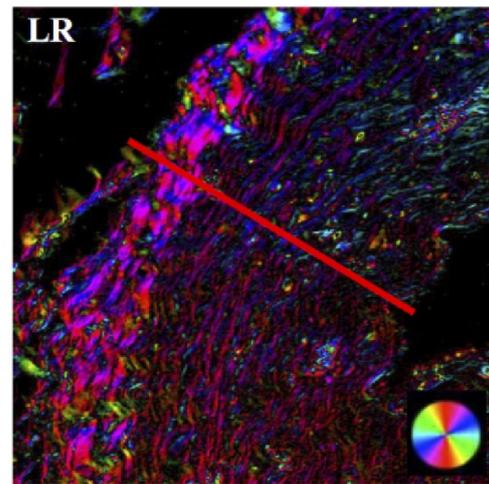


FIGURE I.1.13 – Images de la paroi d'une aorte de lapin *WHHL* ($5\ \mu\text{m}$ d'épaisseur). (a) images avec les modalités non linéaires : TPEF, fluorescence à deux photons ; SHG, génération de seconde harmonique ; P-SHG, génération de seconde harmonique résolue en polarisation. (b) image de biréfringence et de son orientation, obtenue avec la modalité de mesure complète de la matrice de Mueller [26]

Conclusion

Au travers de ces quelques exemples récents issus de la littérature, nous avons montré l'intérêt de la microscopie de polarisation pour l'étude de milieux d'intérêt biomédical. Nous avons également évoqué les potentialités offertes par les approches multimodales.

RAPPELS SUR LA POLARISATION DE LA LUMIÈRE ET LES ANISOTROPIES OPTIQUES

Dans le premier chapitre, nous avons évoqué pour différentes applications en biologie et en médecine l'intérêt de la microscopie polarimétrique.

Nous devons donc maintenant introduire les formalismes nécessaires pour traiter de la polarisation et des anisotropies optiques.

Après avoir rappelé les notions de polarisation de la lumière et d'états de polarisation, nous présenterons les formalismes permettant de traiter de la modification des états de polarisation par un milieu en commençant par le formalisme de Jones. Nous décrirons ensuite le formalisme de Stokes-Mueller et la représentation graphique appelée sphère de Poincaré. Enfin, nous présenterons quelques anisotropies optiques simples.

I.2.1 Polarisation de la lumière

I.2.1.1 Nature vectorielle de la lumière

La polarisation de la lumière est liée à sa nature vectorielle. Celle-ci correspond en effet à l'évolution temporelle de la direction du vecteur champ électrique \vec{E} d'une onde lumineuse qui se propage.

Considérons le cas d'une onde plane monochromatique, de vecteur d'onde \vec{k} et de pulsation ω se propageant dans le vide selon l'axe Oz dans le sens des z positifs (repère

cartésien $Oxyz$). Le champ électrique de cette onde peut s'écrire :

$$\vec{E} = \begin{bmatrix} E_x(z, t) \\ E_y(z, t) \\ E_z(z, t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E_{0x} \cdot \cos(\omega.t - k.z + \phi_x) \\ E_{0y} \cdot \cos(\omega.t - k.z + \phi_y) \\ 0 \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.1})$$

Avec E_{0x} et E_{0y} , les amplitudes réelles positives des composantes du champ électrique, \vec{k} , le vecteur d'onde (tel que $|k| = 2\pi/\lambda$, où λ est la longueur d'onde) ainsi que ϕ_x et ϕ_y , des phases définies à 2π près.

De manière plus précise, la polarisation de l'onde décrit la trajectoire de l'extrémité du vecteur champ électrique \vec{E} dans le temps.

En considérant la projection de la trajectoire dans le plan d'onde Oxy , orthogonal à la direction de propagation ($z = 0$) et en éliminant la variable temporelle dans la représentation donnée par l'équation I.2.1, les composantes du champ électrique E_x et E_y vérifient alors l'équation d'une ellipse d'équation :

$$\frac{E_x^2}{E_{0x}^2} + \frac{E_y^2}{E_{0y}^2} - 2 \frac{E_x E_y}{E_{0x} E_{0y}} \cos \phi = \sin^2 \phi \quad (\text{I.2.2})$$

Avec $\phi = \phi_y - \phi_x$.

I.2.1.2 États de polarisation

Dans le cas général, l'état de polarisation d'une onde lumineuse est elliptique et la connaissance des grandeurs E_{0x} , E_{0y} et ϕ permettent de déterminer entièrement ses caractéristiques. La Figure I.2.1 donne une représentation de cette ellipse dans le plan Oxy .

Les grandeurs α , ε et ν sont appelées respectivement azimuth, ellipticité et angle diagonal de l'ellipse, et les grandeurs a et b sont les grand et petit axes de l'ellipse. Ces grandeurs sont reliées entre elles par les relations :

$$\begin{aligned} \cos 2\varepsilon \cos 2\alpha &= \cos 2\nu \\ \cos 2\varepsilon \sin 2\alpha &= \sin 2\nu \cos \phi \\ \sin 2\varepsilon &= \sin 2\nu \sin \phi \end{aligned} \quad (\text{I.2.3})$$

Ces grandeurs sont également reliées aux grandeurs E_{0x} , E_{0y} et ϕ par les relations :

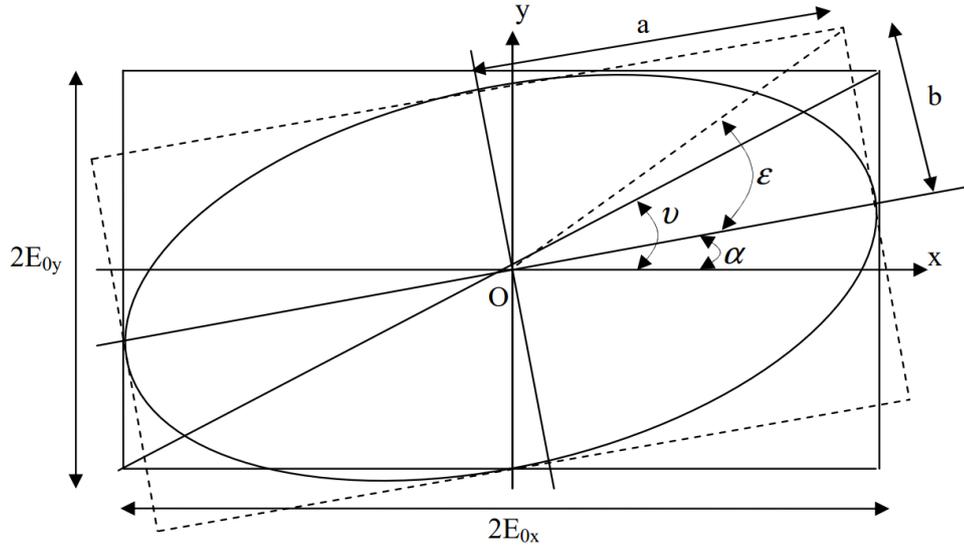


FIGURE I.2.1 – Ellipse de polarisation

$$\begin{aligned}
 \tan \nu &= \frac{E_{0y}}{E_{0x}} \\
 \tan 2\alpha &= 2 \frac{E_{0x} E_{0y}}{E_{0x}^2 - E_{0y}^2} \cos \phi \\
 \sin 2\varepsilon &= 2 \frac{E_{0x} E_{0y}}{E_{0x}^2 + E_{0y}^2} \sin \phi
 \end{aligned} \tag{I.2.4}$$

Pour des valeurs particulières des amplitudes E_{0x} , E_{0y} et du déphasage ϕ , l'ellipse peut se décliner sous des formes particulières conduisant à des états de polarisation spécifiques, telles que représentées sur la figure I.2.2.

Par exemple lorsque $\phi = 0$, les deux composantes du champ électrique sont en phase et ce dernier oscille dans une direction fixe. Cet état de polarisation est dit linéaire (ou rectiligne, cf. figure I.2.2, b. et c.). Lorsque $\phi = \pm\pi/2$ et $E_{0x} = E_{0y}$, nous parlerons alors de polarisation circulaire, gauche (cf. figure I.2.2, d.) ou droite, selon le signe de ϕ .

Lorsque les grandeurs E_{0x} , E_{0y} et ϕ sont indépendantes du temps, la lumière est dite complètement polarisée.

Au contraire, si ces grandeurs évoluent de manière aléatoire (c'est-à-dire complètement non-déterministe), la lumière est dite non-polarisée, à l'instar de la lumière naturelle (cf. figure I.2.2, a.).

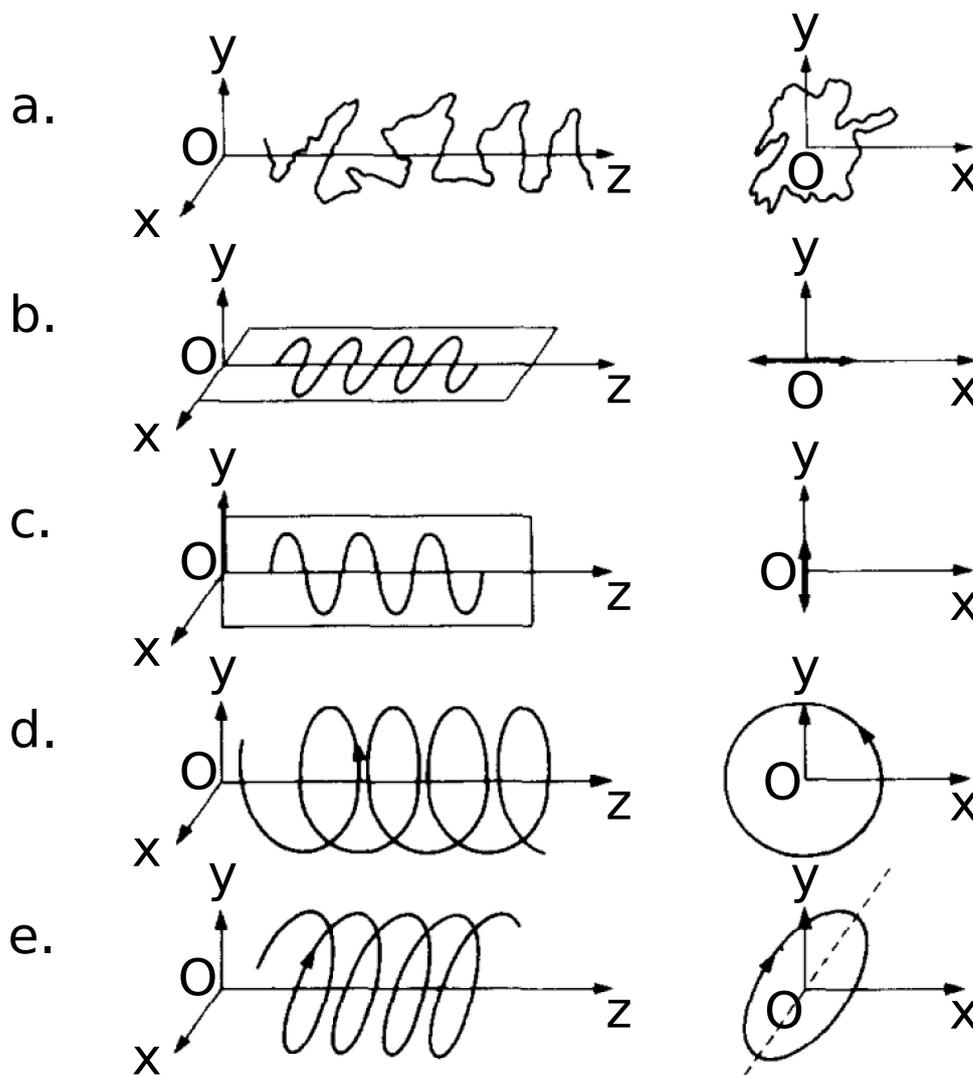


FIGURE I.2.2 – Etats de polarisation [91] : a. lumière non polarisée ; b. polarisation rectiligne horizontale ; c. polarisation rectiligne verticale ; d. polarisation circulaire gauche ; e. polarisation elliptique droite

De manière générale, une onde polarisée (ou partiellement polarisée) peut être décrite comme une combinaison linéaire d'une onde non polarisée et d'une onde complètement polarisée.

La polarisation de l'onde peut être modifiée par un milieu anisotrope, par transmission ou réflexion. Aussi pour traiter de la modification des états de polarisation par un milieu, plusieurs formalismes mathématiques ont été développés et nous allons à présent introduire les plus utilisés¹.

I.2.2 Formalisme de Jones

I.2.2.1 Vecteurs de Jones

Dans une série d'articles parue entre 1941 et 1956, R.C. Jones a introduit un formalisme qui permet d'appréhender les modifications de la lumière polarisée après interaction avec un milieu donné [96-103].

Il introduit un vecteur \vec{J} , de dimension 2×1 , appelé vecteur de Jones de l'onde, à coefficients complexes entièrement définis à partir des grandeurs E_{0x} , E_{0y} et ϕ , tel que :

$$\vec{J} = \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E_{0x} e^{j(\omega.t - k.z + \phi_x)} \\ E_{0y} e^{j(\omega.t - k.z + \phi_y)} \end{bmatrix} \propto \begin{bmatrix} E_{0x} \\ E_{0y} e^{j\phi} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.5})$$

avec j est le nombre complexe tel que $j^2 = -1$.

Le vecteur de Jones est défini à une phase près d'où la relation de proportionnalité dans l'équation I.2.5. Le plus souvent, le vecteur de Jones est donc écrit sous sa forme normalisée, soit pour une polarisation quelconque :

$$\vec{J} = \frac{1}{\sqrt{E_{0x}^2 + E_{0y}^2}} \begin{bmatrix} E_{0x} \\ E_{0y} e^{j\phi} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.6})$$

Le vecteur de Jones contient ainsi toutes les informations caractérisant l'état de polarisation de l'onde lumineuse (E_{0x} , E_{0y} et ϕ). Il est par ailleurs possible d'écrire ce vecteur

1. Il existe d'autres représentations des états de polarisation et de leurs modifications que celles présentées ici, telles que celle basée sur les quaternions [92], la représentation dans un plan complexe [93] ou encore les matrices de cohérence [94, 95].

en fonction des paramètres α et ε de l'ellipse de polarisation, tel que :

$$\vec{J} = \begin{bmatrix} \cos \alpha \cos \varepsilon - j \sin \alpha \sin \varepsilon \\ \sin \alpha \cos \varepsilon + j \cos \alpha \sin \varepsilon \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.7})$$

L'Annexe A.I présente quelques exemples de vecteurs de Jones pour différents états de polarisation.

I.2.2.2 Matrices de Jones

Considérons à présent l'interaction linéaire d'une onde totalement polarisée avec un système optique transformant la polarisation (non dépolarisant). Il est possible de décrire la transformation produite par ce système sous une forme matricielle.

Le milieu est ainsi décrit par une matrice 2×2 à coefficients complexes, appelée matrice de Jones $[T]$. La relation entre un vecteur de Jones incident \vec{J}_i et le vecteur de Jones \vec{J}_s après interaction avec le milieu s'écrit alors :

$$\vec{J}_s = [T] \cdot \vec{J}_i \quad (\text{I.2.8})$$

La section I.2.4 présente quelques exemples de matrices de Jones pour différents éléments de référence.

L'intérêt principal de ce formalisme réside dans sa capacité à décrire de manière relativement simple l'interaction d'une onde polarisée avec un système optique complexe (composé de n éléments transformateurs de polarisation en cascade, voir figure I.2.3).

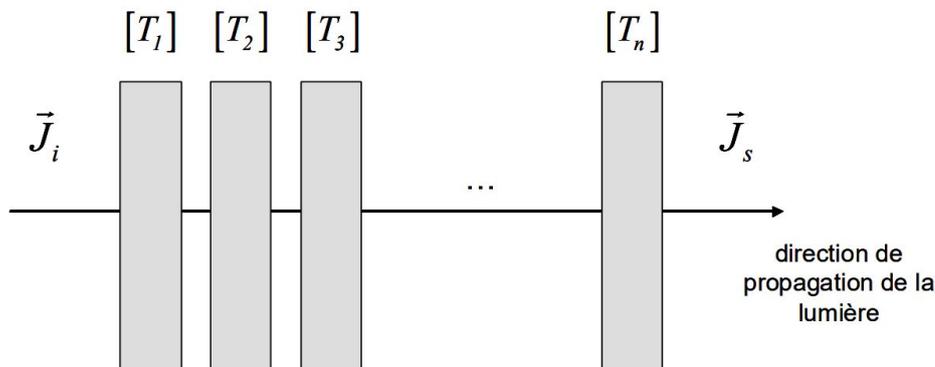


FIGURE I.2.3 – Succession de n éléments optiques transformateurs de polarisation

Pour cela, il suffit simplement de faire le produit matricielle des n matrices de Jones décrivant chacun des éléments optiques en cascade, tel que :

$$\vec{J}_s = [T_n] \dots [T_3] \cdot [T_2] \cdot [T_1] \cdot \vec{J}_i \quad (\text{I.2.9})$$

Il s'agit du formalisme qui sera utilisé principalement dans la suite de ce manuscrit.

Cependant, ce formalisme est limité à la description des ondes complètement polarisées et est donc peu adapté pour traiter des ondes partiellement polarisées ou non polarisées.

I.2.3 Formalisme de Stokes-Mueller et sphère de Poincaré

I.2.3.1 Vecteur de Stokes

Introduite par G.G. Stokes en 1852 [104], le formalisme mathématique de Stokes est basé sur des intensités lumineuses (directement mesurables) et non sur des champs électriques.

La polarisation de la lumière est représentée sous la forme d'un vecteur \vec{S} de dimension 4×1 à coefficients réels, appelé vecteur de Stokes, tel que :

$$\vec{S} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \langle E_x E_x^* + E_y E_y^* \rangle \\ \langle E_x E_x^* - E_y E_y^* \rangle \\ \langle E_x E_y^* + E_y E_x^* \rangle \\ j \langle E_x E_y^* - E_y E_x^* \rangle \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \langle E_{0x}^2 \rangle + \langle E_{0y}^2 \rangle \\ \langle E_{0x}^2 \rangle - \langle E_{0y}^2 \rangle \\ 2 \langle E_{0x} E_{0y} \cos \phi \rangle \\ 2 \langle E_{0x} E_{0y} \sin \phi \rangle \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.10})$$

avec $\langle \cdot \rangle$, la moyenne d'ensemble c'est-à-dire la moyenne temporelle sur le temps d'intégration du détecteur et la moyenne spatiale sur la section du faisceau vue par le détecteur. Ainsi sont pris en compte les cas où les grandeurs E_{0x} , E_{0y} et ϕ dépendent du temps pendant la durée de la mesure et/ou sont inhomogènes spatialement au sein du faisceau détecté. Pour alléger la notation, cette dépendance spatio-temporelle a volontairement été omise par la suite.

Les quatre composantes du vecteur de Stokes sont homogènes à des intensités lumineuses et peuvent être écrites pour une onde complètement polarisée de la manière

suivante :

$$\vec{S} = \begin{bmatrix} I_0 \\ I_{0^\circ} - I_{90^\circ} \\ I_{+45^\circ} - I_{-45^\circ} \\ I_D - I_G \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.11})$$

avec :

- I_0 , l'intensité totale du faisceau lumineux,
- $I_{0^\circ} - I_{90^\circ}$, la différence d'intensité entre les polarisations linéaires horizontale (0°) et verticale (90°),
- $I_{+45^\circ} - I_{-45^\circ}$, la différence d'intensité entre les polarisations linéaires à $+45^\circ$ et à -45° ,
- $I_D - I_G$, la différence d'intensité entre les polarisations circulaires droite et gauche

Les composantes du vecteur de Stokes pour une onde totalement polarisée vérifient la relation :

$$S_0^2 = S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 \quad (\text{I.2.12})$$

Dans ce cas, le vecteur de Stokes normalisée par S_0 peut également s'écrire en fonction des paramètres α , ε , ν et ϕ de l'ellipse de polarisation, tel que :

$$\vec{S} = S_0 \begin{bmatrix} 1 \\ S_1/S_0 \\ S_2/S_0 \\ S_3/S_0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ \cos 2\varepsilon \cos 2\alpha \\ \cos 2\varepsilon \sin 2\alpha \\ \sin 2\varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ \cos 2\nu \\ \sin 2\nu \cos \phi \\ \sin 2\nu \sin \phi \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.13})$$

Les relations suivantes peuvent alors être posées :

- L'azimut α :

$$\tan 2\alpha = \frac{S_2}{S_1} \quad (\text{I.2.14})$$

- L'ellipticité ε :

$$\sin 2\varepsilon = \frac{S_3}{S_0} \quad (\text{I.2.15})$$

— L'angle diagonal v :

$$\cos 2v = \frac{S_1}{S_0} \quad (\text{I.2.16})$$

— Le déphasage (moyen) ϕ :

$$\tan \phi = \frac{S_3}{S_2} \quad (\text{I.2.17})$$

L'Annexe A.I présente quelques exemples de vecteurs de Stokes pour différents éléments de référence.

I.2.3.2 Sphère de Poincaré

Les relations I.2.13 reliant les paramètres de Stokes normalisés S_1 , S_2 et S_3 ainsi que les paramètres de l'ellipse α , ε , v et ϕ suggèrent une représentation sphérique des états de polarisation.

Cette sphère (voir figure I.2.4) sur laquelle sont représentés les états de polarisation est appelée sphère de Poincaré, introduite par H. Poincaré en 1892 [105].

Considérons les angles 2α et 2ε comme les angles polaires en représentation sphérique dans un trièdre $(\Omega, \vec{\xi}, \vec{\eta}, \vec{\zeta})$, l'état de polarisation est représenté par un point M sur la sphère de rayon unité Σ , caractérisé par l'inclinaison α du grand axe de l'ellipse et l'ellipticité ε de celle-ci. Le vecteur \vec{P} de composantes $\{S_1, S_2, S_3\}$ est alors le vecteur normé $\Omega\vec{M}$, dont les coordonnées sphériques sont $\{1, 2\alpha, 2\varepsilon\}$.

D'après la définition du vecteur \vec{P} , chaque parallèle de la sphère correspond à des états de polarisation d'ellipticité fixe (ε est constant sur un parallèle) et chaque méridien correspond à des états de polarisation d'azimut fixe (α est constant sur un méridien).

États linéaires

L'équateur de la sphère représente l'ensemble des états de polarisation linéaires ($\varepsilon = 0$). Les états polarisés suivant Ox (0°) et Oy (90°) sont représentés par les points O et O' respectivement. L'origine des longitudes sur la sphère est prise sur le cercle méridien (C_0) passant par O et le sens positif sur l'équateur est le sens direct.

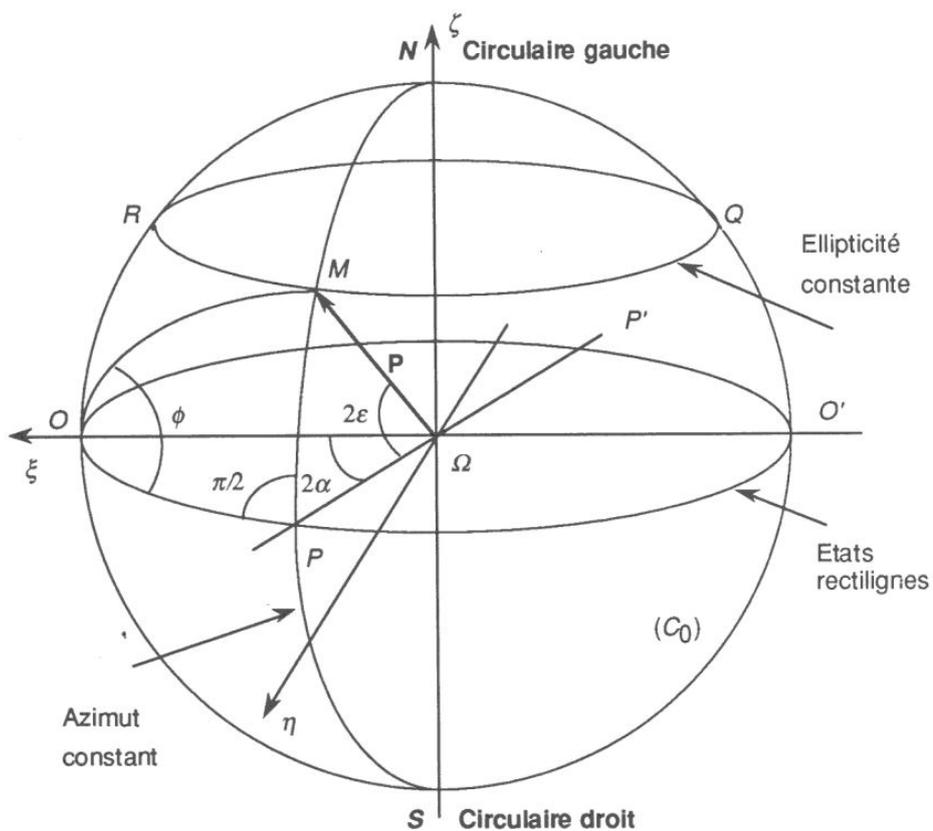


FIGURE I.2.4 – Représentation des états de polarisation sur la sphère de Poincaré [93]

États circulaires

Les deux pôles N et S de la sphère représentent les deux états de polarisation circulaires orthogonaux respectivement gauche ($\varepsilon = +\pi/2$) et droit ($\varepsilon = -\pi/2$).

États elliptiques

Un point qui n'est situé ni sur l'équateur ou aux pôles de la sphère de Poincaré représente l'état de polarisation le plus général, c'est-à-dire elliptique. Le sens de rotation étant donné par le signe de ε , l'hémisphère nord correspond aux états gauches tandis que l'hémisphère sud correspond aux états droits.

Lumière partiellement polarisée

La sphère de Poincaré permet également de représenter la lumière partiellement polarisée.

Lorsque la lumière est entièrement polarisée, l'état de polarisation est représenté par un point M sur la sphère Σ (figure I.2.5, a.).

En revanche, lorsque la lumière est entièrement dépolarisée, nous pouvons considérer que la lumière contient tous les états de polarisation. Conséquemment tous les points de la sphère sont équiprobables (figure I.2.5, b.).

Enfin, lorsque la lumière est partiellement polarisée, les points représentant les états de polarisation ne sont plus uniformément distribués sur la sphère mais se regroupent au voisinage d'un point M , point de probabilité maximum de l'état de polarisation (figure I.2.5, c.). Plus cette distribution est étroite autour du point M , plus la lumière se comporte comme une lumière entièrement polarisée caractérisée par l'état M . Nous pouvons quantifier cela en introduisant une grandeur statistique appelée degré de polarisation.

I.2.3.3 Degré de polarisation

Dans le cas d'une onde complètement dépolarisée (E_{0x} , E_{0y} et ϕ évoluent de manière aléatoirement), le vecteur de Stokes normalisé par rapport à S_0 devient :

$$\vec{S} = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.18})$$

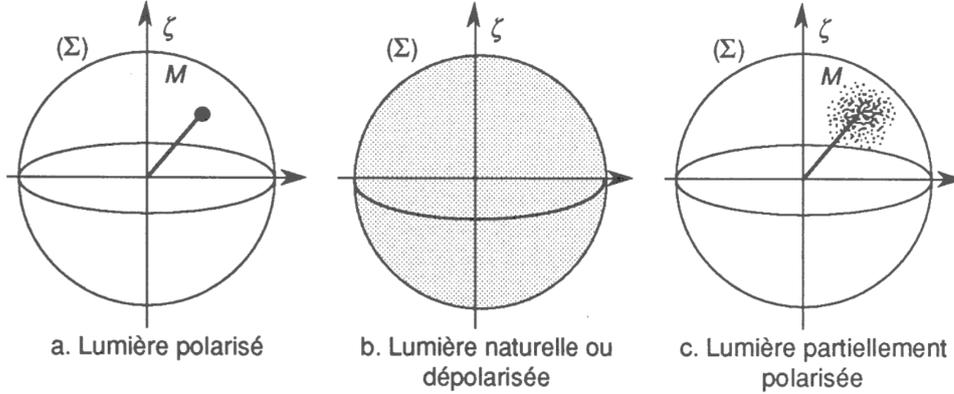


FIGURE I.2.5 – Représentation des différents types de lumière sur la sphère de Poincaré [93]

Dans le cas d'une onde partiellement polarisée, le vecteur de Stokes peut être décomposé en la somme d'une onde complètement polarisée et d'une onde complètement dépolarisée :

$$\vec{S} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sqrt{S_1 + S_2 + S_3} \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} S_0 - \sqrt{S_1 + S_2 + S_3} \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.19})$$

La relation I.2.12 devient alors l'inégalité suivante :

$$S_0^2 \geq S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 \quad (\text{I.2.20})$$

Nous pouvons alors définir le degré de polarisation P_p d'une onde optique, tel que :

$$P_p = \frac{I_{pol}}{I_0} = \frac{\sqrt{S_1 + S_2 + S_3}}{S_0} \quad (\text{I.2.21})$$

Ainsi le degré de polarisation prend les valeurs $P_p = 1$ pour une onde complètement polarisée, $P_p = 0$ pour une onde complètement dépolarisée et $0 < P_p < 1$ pour une onde partiellement polarisée.

Nous pouvons également définir le degré de dépoliarisation tel que : $P_d = 1 - P_p$.

I.2.3.4 Matrice de Mueller

Pour traiter des modifications polarimétriques engendrées par un système optique dans le formalisme de Stokes, un formalisme matriciel a été suggéré par Soleillet en 1929 [106] puis développé par F. Perrin [107] et H. Mueller [108]. La matrice appelée matrice de Mueller $[M]$ d'un échantillon, relie le vecteur de Stokes incident \vec{S}_i et le vecteur de Stokes S_s après interaction avec le milieu. Cette relation linéaire s'écrit :

$$\vec{S}_s = [M].\vec{S}_i \quad (\text{I.2.22})$$

avec $[M]$, la matrice de Mueller, matrice de dimension 4×4 , contenant l'information polarimétrique relative au système optique. Elle est composée de 16 coefficients réels et directement reliés à la mesure², notés m_{ij} ($i, j = 0, \dots, 3$), tels que :

$$[M] = \begin{bmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{10} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{20} & m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{30} & m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.23})$$

Comme pour le formalisme de Jones (équation I.2.9), il est possible de décrire l'évolution de la polarisation d'une onde à travers un système optique complexe (composé de n-éléments transformateurs de polarisation en cascade) par le produit matricielle des n-matrices de Mueller décrivant chacun des éléments optiques en cascade, tel que :

$$\vec{S}_s = [M_n] \dots [M_3]. [M_2]. [M_1]. \vec{S}_i \quad (\text{I.2.24})$$

Ce formalisme permet ainsi de caractériser de manière exhaustive les propriétés polarimétriques d'un système optique quelconque³.

Cependant, la matrice de Mueller contenant toute l'information polarimétrique de l'échantillon, l'extraction et la séparation des différents effets (dichroïsme, biréfringence et dépolarisation) à partir des coefficients m_{ij} de la matrice nécessitent d'employer des méthodes de décomposition [30, 112-114].

2. Ces coefficients ne sont pas nécessairement interprétables en termes physiques de manière immédiate

3. A noter qu'il est toujours possible de transformer une matrice de Jones en une matrice de Mueller, mais l'inverse n'est pas nécessairement vrai (notamment dans le cas des milieux dépolarisant) [109-111]

I.2.4 Représentations des éléments optiques simples

Lorsqu'une onde optique va traverser un élément optique, sa polarisation peut être modifiée par celui-ci de plusieurs manières, nous parlons alors d'anisotropies optiques. Les états propres (orthogonaux) de l'onde incidente peuvent être affectés suivant :

- l'amplitude : l'élément optique est dit *diatténuateur* (ou polariseur) et la grandeur mesurée est la diatténuation
- la phase : l'élément optique est dit *retardateur* (ou déphaseur) et la grandeur mesurée est la retardance
- la direction : l'élément optique est dit *rotateur* (il s'agit d'un cas particulier de retardateur) et la grandeur mesurée est le pouvoir rotatoire (ou la retardance circulaire)
- la dépolarisation : le milieu est dit *dépolariseur*

Il est possible d'extraire toutes ces informations polarimétriques à partir de la mesure de la matrice de Mueller.

I.2.4.1 Diatténuateur

Définition

Un diatténuateur (ou polariseur, ou dichroïque) est un élément optique comportant une anisotropie de transmittance, dont l'origine peut être l'absorption, la diffusion ou la réflectance. L'intensité transmise dépend alors de l'état de polarisation de l'onde incidente. Sa matrice Jones prend la forme, dans la base des états linéaires ou des états circulaires, selon qu'il s'agisse de diatténuation linéaire ou circulaire :

$$J_D = \begin{bmatrix} P_1 & 0 \\ 0 & P_2 \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.25})$$

où P_1 et P_2 sont les valeurs propres.

Nous pouvons définir T_{max} et T_{min} , les transmittances énergétiques maximum et minimum de l'élément diatténuateur, correspondant à la transmission selon ses deux états propres (orthogonaux) et reliées aux valeurs propres P_1 et P_2 de la matrice de Jones de l'élément diatténuateur par les relations : $T_{max} = P_1^2$ et $T_{min} = P_2^2$.

Ainsi, nous pouvons caractériser un diatténuateur par sa transmittance pour une onde

non polarisée T_0 , qui se définit comme :

$$T_0 = \frac{1}{2}(T_{max} + T_{min}) \quad (\text{I.2.26})$$

et par son taux d'extinction τ_{ext} , définit par :

$$\tau_{ext} = \frac{T_{max}}{T_{min}} \quad (\text{I.2.27})$$

Dans le cas d'un diatténuateur circulaire, nous avons $P_1 = e^{-\mu_{CG}L/2}$ et $P_2 = e^{-\mu_{CD}L/2}$ où μ_{CG} et μ_{CD} sont respectivement les coefficients d'atténuation d'intensité pour une lumière polarisée circulaire gauche et circulaire droite, avec $\mu_{CG} > \mu_{CD}$ et L , l'épaisseur du milieu. En posant la diatténuation circulaire comme $CD = (\mu_{CD} - \mu_{CG})L$, sa matrice de Jones J_{CD} s'écrit alors dans la base des états circulaires :

$$J_{CD} = \sqrt{P_1 P_2} \begin{bmatrix} e^{CD/4} & 0 \\ 0 & e^{-CD/4} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.28})$$

De la même manière, pour un diatténuateur linéaire, nous avons $P_1 = e^{-\mu_{LH}L/2}$ et $P_2 = e^{-\mu_{LV}L/2}$ où μ_{LV} et μ_{LH} sont respectivement les coefficients d'atténuation d'intensité pour une lumière polarisée linéaire verticale et linéaire horizontale, avec $\mu_{LH} > \mu_{LV}$ et L , l'épaisseur du milieu. En posant la diatténuation linéaire comme $LD = (\mu_{LV} - \mu_{LH})L$, sa matrice de Jones $J_{LD,\alpha}$ dans la base des états propres s'écrit alors :

$$J_{CD} = \sqrt{P_1 P_2} \begin{bmatrix} e^{LD/4} & 0 \\ 0 & e^{-LD/4} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.29})$$

Dans la base (x, y) , où les axes propres du diatténuateur linéaire sont orientés d'un angle α , appelé *azimut*, la matrice de Jones s'écrit :

$$J_{LD,\alpha} \propto J_{rot}(-\alpha) \cdot \begin{bmatrix} e^{LD/4} & 0 \\ 0 & e^{-LD/4} \end{bmatrix} \cdot J_{rot}(\alpha)$$

$$J_{LD,\alpha} \propto \begin{bmatrix} e^{LD/4} \cos^2 \alpha + e^{-LD/4} \sin^2 \alpha & j \sinh(LD/4) \sin(2\alpha) \\ j \sinh(LD/4) \sin(2\alpha) \sin^2 \alpha & e^{LD/4} \cos^2 \alpha + e^{-LD/4} \sin^2 \alpha \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.30})$$

avec la matrice de rotation $J_{rot}(\alpha)$:

$$J_{rot} = \begin{bmatrix} \cos \alpha & \sin \alpha \\ -\sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.31})$$

Polariseur linéaire parfait

Lorsque les états propres sont linéaires et que $P_2 = 0$ (soit $T_{min} = 0$), nous parlons alors de polariseur linéaire parfait. Dans le cas du polariseur linéaire parfait, dont l'axe est orienté d'un angle α avec l'axe horizontal, tel que représenté figure I.2.6, celui-ci transmet sans atténuation la composante de l'onde incidente parallèle à sa direction de polarisation et bloque totalement la composante orthogonale.

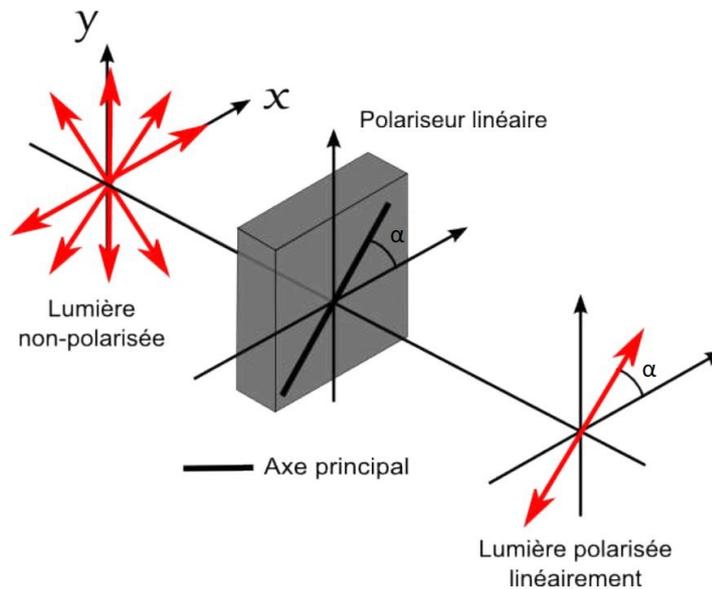


FIGURE I.2.6 – Action d'un polariseur linéaire parfait, orienté d'un angle α , sur une onde non-polarisée

Sa matrice de Jones $J_{parfait}$ s'écrit alors dans la base (x, y) :

$$J_{parfait}(\alpha) = J_{rot}(-\alpha) \cdot \begin{bmatrix} P_1 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \cdot J_{rot}(\alpha)$$

$$J_{parfait}(\alpha) = P_1 \begin{bmatrix} \cos^2 \alpha & \cos \alpha \sin \alpha \\ \cos \alpha \sin \alpha & \sin^2 \alpha \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.32})$$

Polariseur linéaire partiel

Dans le cas du polariseur linéaire non-parfait (partiel), c'est à dire $P_2 \neq 0$ (et donc $T_{min} \neq 0$), dont l'axe est aligné avec l'axe horizontal ($\alpha = 0$), la matrice de Jones $J_{partiel}$ peut s'écrire dans la base des états propres :

$$J_{partiel} = \begin{bmatrix} P_1 & 0 \\ 0 & P_2 \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.33})$$

Notons $T_{pol} = P_1^2 + P_2^2$ et réécrivons la matrice I.2.33, telle que :

$$\begin{aligned} J_{partiel} &= \sqrt{T_{pol}} \begin{bmatrix} P_1/(P_1^2 + P_2^2)^{1/2} & 0 \\ 0 & P_2/(P_1^2 + P_2^2)^{1/2} \end{bmatrix} \\ J_{partiel} &= \sqrt{T_{pol}} \begin{bmatrix} 1/(1 + (P_2/P_1)^2)^{1/2} & 0 \\ 0 & 1/(1 + (P_1/P_2)^2)^{1/2} \end{bmatrix} \end{aligned} \quad (\text{I.2.34})$$

En posant $\epsilon^2 = 1/\tau_{ext}$, avec le taux d'extinction τ_{ext} , ceci donne alors :

$$J_{partiel} = \sqrt{T_{pol}} \begin{bmatrix} (1 + \epsilon^2)^{-1/2} & 0 \\ 0 & (1 + 1/\epsilon^2)^{-1/2} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.35})$$

En faisant un développement de Taylor à l'ordre 2, les éléments de la matrice J_{pol} peuvent être approximés par :

$$\begin{aligned} (1 + \epsilon^2)^{-1/2} &\approx 1 - \epsilon^2/2 \\ (1 + 1/\epsilon^2)^{-1/2} &\approx \epsilon \end{aligned} \quad (\text{I.2.36})$$

Ainsi la matrice de Jones d'un polariseur linéaire non-parfait $J_{partiel}$ peut se mettre sous la forme :

$$J_{partiel} = \sqrt{T_{pol}} \begin{bmatrix} 1 - \epsilon^2/2 & 0 \\ 0 & \epsilon^2 \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.37})$$

I.2.4.2 Retardateur

Définition

Un retardateur (ou déphaseur, ou biréfringent) est un élément optique comportant une anisotropie de phase. Une des composantes du champ électrique subit un retard de phase par rapport à l'autre composante orthogonale. Nous avons alors une modification de l'état de polarisation incident mais l'intensité transmise reste constante.

Sa matrice Jones J_R prend la forme, dans la base des états linéaires ou des états circulaires, selon qu'il s'agisse de retardance linéaire ou circulaire :

$$J_R = \begin{bmatrix} e^{-j\phi_1} & 0 \\ 0 & e^{-j\phi_2} \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.38})$$

avec ϕ_1 et ϕ_2 , les déphasages associés aux états propres orthogonaux de l'élément retardateur.

Aussi, nous pouvons caractériser un retardateur par sa retardance (ou retard, ou déphasage), définie pour un milieu biréfringent⁴ comme :

$$R = |\phi_1 - \phi_2| = \frac{2\pi e}{\lambda_0} \Delta n \quad (\text{I.2.39})$$

avec $0 < R < 180^\circ$. Δn et e sont respectivement la biréfringence du milieu traversé à la longueur d'onde λ_0 et son épaisseur. Nous désignons (Δne) , le retard optique.

Pour un retardateur linéaire, nous avons $LR = |\phi_1 - \phi_2|$, avec ϕ_1 et ϕ_2 , les déphasages associés à une lumière polarisée linéaire verticale et linéaire horizontale. Nous pouvons alors écrire sa matrice de Jones $J_{LR,\alpha}$ dans la base des états linéaires ($|H\rangle$, $|V\rangle$) :

$$J_{LR,\alpha} = J_{rot}(-\alpha) \cdot \begin{bmatrix} e^{jLR/2} & 0 \\ 0 & e^{-jLR/2} \end{bmatrix} \cdot J_{rot}(\alpha)$$

$$J_{LR,\alpha} = \begin{bmatrix} e^{jLR/2} \cos^2 \alpha + e^{-jLR/2} \sin^2 \alpha & j \sin(LR/2) \sin(2\alpha) \\ -j \sin(LR/2) \sin(2\alpha) & e^{jLR/2} \sin^2 \alpha + e^{-jLR/2} \cos^2 \alpha \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.40})$$

4. Par abus de langage, il arrive d'employer indifféremment les termes de retardance et de biréfringence. En toute rigueur, la biréfringence est une propriété physique du matériau (il possède deux indices de réfraction différents) alors que la retardance est l'effet induit sur le champ électrique ainsi que la grandeur physique que nous mesurons. Cependant la retardance peut être provoquée par d'autres effets physiques, notamment par réflexion (équations de Fresnel).

avec α , l'azimut, c'est à dire l'orientation, des axes neutres du retardateur linéaire par rapport au repère ($|H\rangle, |V\rangle$).

Lame quart d'onde

Une lame de phase (ou lame à retard) peut être une lame à faces parallèles taillées de façon adéquate dans un matériau biréfringent où les rayons dits *ordinaire* et *extraordinaire* sont colinéaires et de telle sorte que la vitesse de propagation de la lumière soit différente selon la polarisation. Elles sont généralement caractérisées par leurs axes rapide et lent (lignes neutres).

Dans le cas particulier de la lame dite quart d'onde (nous noterons dans la suite de ce manuscrit $\lambda/4$), le retard optique généré par sa traversée est égale à $\Delta ne = \lambda/4$. La retardance est alors de 90° .

Dans le cas où l'axe rapide de cette lame quart d'onde est orientée à 45° par rapport à l'axe horizontal et que l'état de polarisation incident est linéaire et à l'horizontale, l'état de polarisation en sortie de cette lame est circulaire (figure I.2.7).

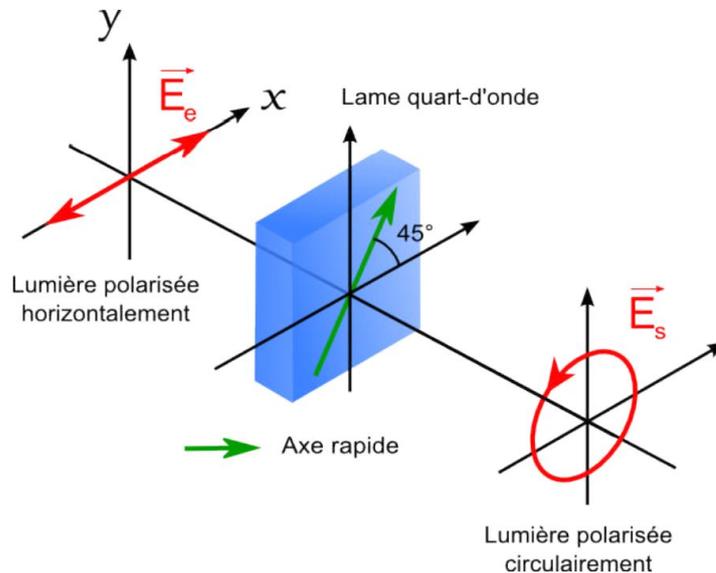


FIGURE I.2.7 – Action d'une lame quart d'onde, orienté à 45° , sur une onde polarisée linéairement

Rotateur

Dans le cas d'un retardateur circulaire, nous parlons de rotateur. Cet élément présente un pouvoir rotatoire θ (ou activité optique), relié à la retardance circulaire par la relation : $CR = \phi_1 - \phi_2 = 2\theta$, avec ϕ_1 et ϕ_2 , les déphasages associés à une lumière polarisée circulaire gauche et circulaire droite.

Sa matrice de Jones J_{rot} s'écrit :

$$J_{rot}(\theta) = P_1 \begin{bmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix} \quad (\text{I.2.41})$$

Comme son nom l'indique, le rotateur fait tourner l'état de polarisation d'un angle θ (figure I.2.8)

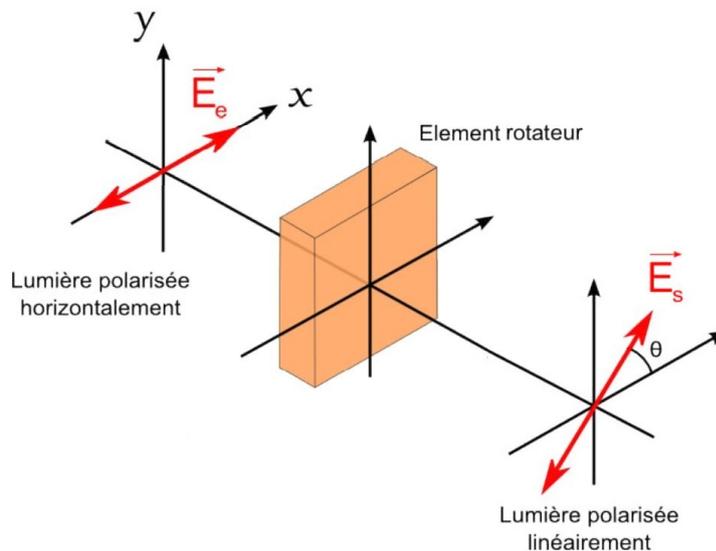


FIGURE I.2.8 – Action d'un élément rotateur, sur une onde incidente polarisée horizontalement

I.2.4.3 Dépolariseur

Les différents éléments optiques simples que nous avons présentés précédemment (diatténuateur, retardateur, rotateur) ont une action déterministe et sont donc représentables par une matrice de Jones.

Quand le milieu n'a pas d'action déterministe, il présente de la dépolarisation, qui peut être définie comme la transformation d'une lumière polarisée en lumière non-polarisée (figure I.2.9). Pour représenter ces milieux, le formalisme de la matrice de Mueller est le plus adapté.

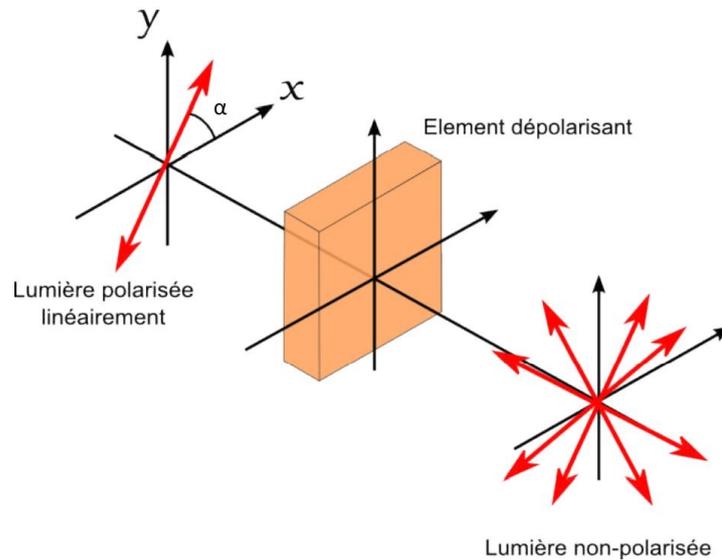


FIGURE I.2.9 – Action d'un élément dépolarisant, sur une onde incidente polarisée linéairement

Pour qu'un milieu occasionne de la dépolarisation, il faut par exemple :

- que la lumière subisse des phénomènes de diffusion
- que le milieu fluctue pendant le temps d'intégration du détecteur
- que le milieu ne soit pas homogène spatialement sur la surface du détecteur

Conclusion

Nous disposons à présent de tous les formalismes nécessaires pour traiter des états de polarisation et de leurs modifications par un milieu anisotrope.

De nombreuses techniques ont été développées pour mesurer le vecteur de Stokes d'une lumière incidente ou la matrice de Jones/Mueller d'un échantillon (entièrement ou partiellement). Le chapitre suivant de ce manuscrit présentera quelques unes de ces différentes techniques.

TECHNIQUES DE MESURE DES ANISOTROPIES OPTIQUES

Après avoir présenté l'intérêt de la mesure polarimétrique pour différentes applications en biologie et en médecine dans le chapitre I.1, nous avons introduit les formalismes nécessaires pour traiter de la polarisation et des anisotropies optiques dans le chapitre I.2.

L'objectif des travaux présentés dans ce manuscrit est de réaliser avec un microscope à balayage laser une mesure polarimétrique ultrasensible, en transmission et en temps réel, afin de pouvoir révéler sans marquage des structures d'intérêt biomédical dans des milieux d'étude fins tels que des coupes histologiques ou des cultures cellulaires.

Pour ce faire, nous allons tout d'abord présenter dans ce chapitre le principe général de la mesure polarimétrique. Puis nous aborderons la question de la sensibilité, de la résolution et de la précision de la mesure ainsi que du choix du type de mesure à faire en fonction des milieux à étudier, en expliquant notamment le principe de la mesure *sur fond noir*. Nous introduirons ensuite les différentes techniques existantes pour générer et analyser des états de polarisation et enfin nous nous focaliserons sur les techniques permettant de réaliser une mesure sur fond noir, intégrable dans un dispositif imageur.

I.3.1 Philosophie des mesures polarimétriques

I.3.1.1 Principe général

Les techniques de mesure polarimétrique peuvent être regroupées en deux grandes familles : celles qui mesurent la polarisation d'une onde, avec par exemple la polarimétrie de Stokes, appliquée notamment dans le domaine de la télédétection et celles qui mesurent la réponse polarimétrique d'un milieu en l'éclairant avec des états connus et en analysant leurs modifications.

Les dispositifs de mesure dédiés à la caractérisation de la réponse polarimétrique des

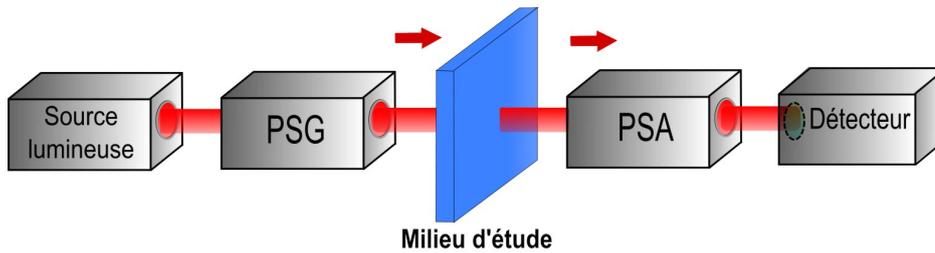


FIGURE I.3.1 – Schéma de principe d'une mesure de la réponse polarimétrique d'un milieu, en transmission

milieux sont tous basés sur l'architecture présentée sur la figure I.3.1.

Celui-ci comprend une source lumineuse ainsi qu'un générateur d'états de polarisation, noté PSG (*Polarization State Generator*), qui permet de générer des états de polarisation spécifiques afin de sonder le milieu d'étude. Après interaction avec le milieu, les états de polarisation modifiés sont analysés par un analyseur d'états de polarisation, noté PSA (*Polarization State Analyzer*). L'intensité lumineuse est enfin mesurée par un détecteur.

I.3.1.2 Critères pour qualifier un dispositif de mesure polarimétrique

Comme tout dispositif de mesure, un dispositif de mesure polarimétrique, mesurant une anisotropie optique notée A , est caractérisé par :

- sa sensibilité, soit la variation du signal mesuré I_A en fonction de la variation de l'anisotropie A
- sa résolution, soit la plus petite variation mesurable de l'anisotropie
- sa précision, soit l'écart entre la valeur mesurée et la valeur vraie de l'anisotropie
- sa rapidité, soit la durée nécessaire pour réaliser une mesure.

Par ailleurs, il convient d'ajouter également un critère d'exhaustivité selon la quantité d'informations extraites lors de la mesure. En effet, il est possible de réaliser une mesure :

- d'une seule information polarimétrique, par exemple l'amplitude de la diatténuation circulaire ou de la retardance circulaire
- de deux informations polarimétriques, par exemple l'amplitude et l'azimut de la diatténuation linéaire ou de la retardance linéaire
- de *Jones*, où est mesurée la matrice de Jones 2×2 , contenant les informations polarimétriques de la retardance et de la diatténuation.

- de *Mueller*, où l'ensemble des coefficients de la matrice de Mueller est mesuré, soit une matrice 4×4 contenant l'ensemble des informations polarimétriques (retardance, diatténuation et dépolarisation) du milieu d'étude.

Les techniques de Mueller ont l'intérêt de fournir la réponse polarimétrique exhaustive du milieu d'étude [48, 115]. Ces techniques sont donc particulièrement utiles pour étudier des milieux complexes, épais, où plusieurs anisotropies (biréfringence et dichroïsme ainsi que la dépolarisation) sont présentes ensemble. Toutefois elles nécessitent la génération et l'analyse d'au moins 16 états de polarisation différents.

Pour utiliser les techniques qui ne sont pas des techniques de Mueller, nous devons faire l'hypothèse que seuls certains effets polarimétriques sont présents dans le milieu d'étude. Elles ont néanmoins l'intérêt de pouvoir simplifier la génération et l'analyse des états de polarisation ainsi que l'extraction des informations polarimétriques [116-118].

Par ailleurs, parmi les techniques mesurant de manière ciblée une ou deux informations polarimétriques, soit la mesure de la diatténuation ou de la retardance, circulaire ou linéaire, il existe les techniques dites de mesure *sur fond noir*, qui comme nous le verrons ont l'avantage d'être les plus sensibles.

Enfin, puisque dans le cadre de ce manuscrit, nous souhaitons implémenter un dispositif de mesure polarimétrique dans un microscope à balayage laser, le critère de rapidité est essentiel. En effet, le temps de résidence (*pixel-dwell time*) typique est de quelques μs par pixel pour un microscope à balayage laser. Il est donc nécessaire de pouvoir réaliser une mesure à une cadence au moins de l'ordre de $100 kHz$, pour pouvoir faire de l'imagerie proche du temps réel.

Nous allons à présent aborder la question de la sensibilité, de la résolution et de la précision de la mesure, en introduisant le principe de la mesure *sur fond noir*.

I.3.2 Sensibilité, résolution et précision des techniques de mesure polarimétrique

I.3.2.1 Définitions

Notons I_A le signal mesuré par le détecteur en fonction d'une anisotropie A . La sensibilité de la mesure S_A est définie comme la variation dI_A du signal I_A en fonction d'une

variation dA de l'anisotropie A suivant :

$$S_A = \frac{dI_A}{dA} \quad (\text{I.3.1})$$

La résolution de la mesure ΔA est alors :

$$\Delta A = \frac{\Delta I_A}{S_A} \quad (\text{I.3.2})$$

où ΔI_A est la plus petite variation I_A mesurable par le détecteur.

La précision de la mesure se définit comme l'écart entre la valeur mesurée A_{mes} et la valeur vraie de l'anisotropie A :

$$\delta A = |A_{mes} - A| \quad (\text{I.3.3})$$

I.3.2.2 Sensibilité et résolution

Mesure sur fond clair

La mesure complète de la matrice de Mueller nécessite de générer et d'analyser des états de polarisation qui soient suffisamment différents les uns des autres, c'est-à-dire répartis sur toute la sphère de Poincaré, afin d'obtenir toute la réponse polarimétrique du milieu [30]. Il en résulte qu'il y a toujours parmi les états de polarisation générés au moins un qui sera aligné avec l'analyseur. Or dans ce cas, la puissance optique au niveau du détecteur est la même que celle au niveau du milieu d'étude. Nous parlons alors de mesure *sur fond clair*.

En outre de nombreuses techniques de mesure polarimétrique qui ne sont pas complètes sont également sur fond clair.

Nous détectons dans le cas d'une mesure sur fond clair un signal de la forme :

$$I_A \propto I_0 A + I_0 \quad (\text{I.3.4})$$

avec I_0 , la puissance optique au niveau du milieu d'étude.

Si le milieu n'est pas anisotrope, l'intensité au niveau du détecteur est I_0 et il ne doit pas dépasser le seuil de saturation du détecteur I_{sat} .

La sensibilité S_A est donc égale au mieux à :

$$S_A = \frac{dI_A}{dA} \propto I_0 \quad (\text{I.3.5})$$

Ce qui donne pour la résolution ΔA :

$$\Delta A \propto \frac{\Delta I_A}{I_{sat}} \quad (\text{I.3.6})$$

Ici, le niveau de puissance saturant le détecteur I_{sat} est le facteur limitant ultimement la résolution de la mesure.

Mesure sur fond noir

La mesure *sur fond noir* quant à elle, utilise pour sonder le milieu uniquement un état de polarisation orthogonal à celui de l'analyseur. Ici la puissance au niveau du détecteur est nulle en l'absence d'anisotropie optique, d'où le terme de *fond noir*. Nous détectons alors, pour une faible anisotropie, un signal de la forme :

$$I_A \propto I_0 A^2 \quad (\text{I.3.7})$$

Ce faisant, il est possible de travailler avec une puissance incidente I_0 beaucoup plus forte et ainsi d'améliorer grandement la sensibilité S_A , qui s'écrit alors :

$$S_A = \frac{dI_A}{dA} \propto 2 I_0 A \quad (\text{I.3.8})$$

Toutefois le signal mesuré I_A a une dépendance quadratique par rapport à l'anisotropie A . Ceci est problématique pour la mesure de faibles anisotropies, car lorsque la valeur de l'anisotropie tend vers 0, la sensibilité S_A tend également vers 0 et donc la résolution ΔA vers $+\infty$.

Par ailleurs une telle approche n'utilisant qu'un seul état de polarisation pour sonder le milieu d'étude ne permet d'obtenir qu'une seule information polarimétrique. C'est typiquement ce qui est utilisé pour la mesure du pouvoir rotatoire (recherche d'une extinction) ou avec la microscopie en lumière polarisée classique (les structures biréfringentes apparaissent en clair sur fond noir).

Mesure sur quasi-fond noir

D'autres méthodes proches du fond noir ont alors été développées, dans le but d'obtenir une réponse linéaire du signal par rapport à l'anisotropie. Par simplicité, elles sont souvent également désignées comme mesure sur fond noir et nous utiliserons cette formulation dans la suite de ce manuscrit, sauf mention contraire.

Dans ces méthodes, des états de polarisation proches de l'état de polarisation orthogonal à celui de l'analyseur sont utilisés pour sonder le milieu d'étude. Nous avons alors un signal de la forme :

$$I_A \propto I_0 \beta A + \beta^2 I_0 \quad (\text{I.3.9})$$

avec β , un angle de biais, qui peut avoir différentes implémentations expérimentales.

Si le milieu n'est pas anisotrope l'intensité au niveau du détecteur est égale $\beta^2 I_0$, qui peut être beaucoup plus faible que celle au niveau du milieu I_0 , en choisissant en angle de biais β faible.

La sensibilité S_A , s'écrit alors :

$$S_A = \frac{dI_A}{dA} \propto I_0 \beta \quad (\text{I.3.10})$$

Ici la sensibilité ne dépendant plus de A , nous avons linéarisé la mesure. Nous avons $I_{sat} = I_0 \beta_{sat}^2$, avec β_{sat} , l'angle de biais maximum avant la saturation détecteur. La résolution s'écrit donc :

$$\Delta A \propto \frac{\Delta I_A}{I_0 \beta} = \beta_{sat} \frac{\Delta I_A}{I_{sat}} \quad (\text{I.3.11})$$

Si nous comparons avec une mesure sur fond clair, la résolution est modifiée par le facteur β_{sat} . Ainsi nous pouvons gagner en résolution en ayant β_{sat} tout petit.

I.3.2.3 Précision

Déterminer la précision d'un dispositif de mesure nécessite de bien connaître ses erreurs systématiques ainsi que la réponse polarimétrique du milieu (modèle simplifié ou non).

Mesure Mueller (complète)

Dans le cas d'une mesure complète, puisque l'ensemble de la réponse polarimétrique du milieu d'étude est mesuré, il n'y a pas à faire d'hypothèses sur sa réponse polarimétrique, par exemple négliger la dépolarisation ou ne considérer qu'une anisotropie circulaire.

De plus il est possible d'évaluer de manière complète les erreurs associées au PSG et au PSA grâce à quelques étalons de référence et donc de les corriger de manière à garantir une bonne précision.

En effet, de nombreux travaux ont été menés sur le développement de méthodes de calibration [119-126] ainsi que sur l'optimisation du PSG et PSA afin de limiter l'influence des erreurs systématiques [127-130], basée par exemple sur le critère *EWV* (*Equally Weighted Variance*) [131, 132] ou le conditionnement [127, 133, 134].

Mesure non complète

Dans le cas d'une mesure non complète, il est nécessaire d'avoir un modèle simplifié du milieu d'étude. Si le milieu d'étude sort du modèle, la mesure peut être altérée.

Les erreurs systématiques du dispositif peuvent également altérer la précision de la mesure. L'utilisation d'un étalon de référence ou une mesure à vide (sans milieu d'étude) peut néanmoins permettre de corriger en partie le biais de la mesure associé au dispositif.

Enfin dans le cas des mesures sur fond noir se pose la question de la précision de l'étalon de référence. En effet, celle-ci doit être idéalement de l'ordre de grandeur de la résolution du dispositif. Or pour les techniques sur fond noir dont la résolution est très bonne, cela peut s'avérer difficile.

I.3.2.4 Choix entre mesure complète et mesure sur fond noir

Avec une configuration sur fond noir, les états de polarisation utilisés pour sonder le milieu d'étude ne permettent pas de retrouver l'ensemble des coefficients de la matrice de Mueller et d'avoir ainsi la réponse exhaustive du milieu d'étude.

Pour illustrer ce propos, nous représentons à titre d'exemple sur la sphère de Poincaré (figure I.3.2) les états de polarisation générés par le PSG du montage de mesure Mueller-complète développé par A. Le Gratiet lors de sa thèse [30] ainsi que les états de polarisation générés par le PSG du montage de mesure sur fond noir de la retardance linéaire développé dans ce manuscrit (chapitre II.3).

Il y a donc un choix à faire qui dépend de la nature du milieu à étudier. Si le milieu est épais, complexe et présente de fortes et multiples anisotropies optiques couplées, il faudra privilégier une mesure complète. En revanche, si le milieu est fin et ne présente qu'un seul type d'effet de manière prépondérante, alors une mesure sur fond noir sera la plus adaptée et permettra d'avoir une meilleure sensibilité de détection.

Notre objectif étant de réaliser une image polarimétrique afin de révéler des structures faiblement biréfringentes dans des milieux d'étude fins tels que des coupes histologiques ou des cultures cellulaires, une approche sur fond noir est la plus adaptée. En effet, nous

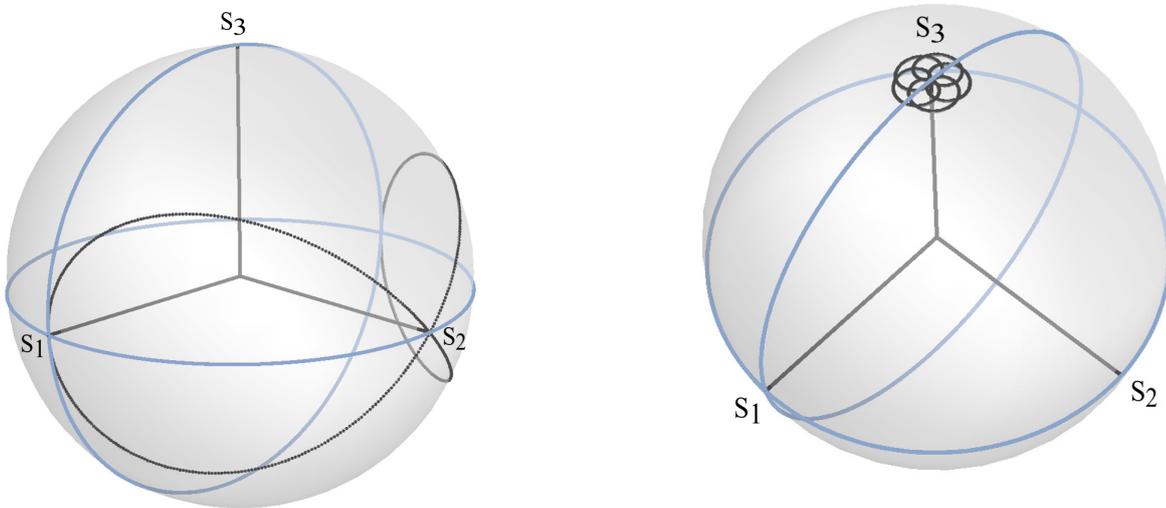


FIGURE I.3.2 – Sphères de Poincaré des états de polarisation en sortie du PSG : à gauche, pour le montage de mesure Mueller-complète [30] ; à droite, pour le montage de mesure sur fond noir de la retardance linéaire (chapitre II.3)

avons besoin de la meilleure sensibilité possible et puisque nous réalisons une image, où le contraste entre les pixels de l'image est plus important que la valeur exacte mesurée en chaque pixel, la question de la précision est moins cruciale.

Quelle que soit la philosophie de mesure choisie, elles nécessitent toutes de générer et d'analyser des états de polarisation. Nous allons donc dans la section suivante présenter les différentes approches possibles pour ce faire.

I.3.3 Génération et analyse des états de polarisation

Outre la technique classique de mesure entre deux polariseurs croisés, qui correspond à l'utilisation d'un état de polarisation fixe en PSG et d'un état de polarisation fixe orthogonal en PSA, il existe plusieurs façon de générer et d'analyser les différents états de polarisation nécessaires pour sonder le milieu d'étude. Ceux-ci peuvent se regrouper en différentes familles : spatial, temporel, spectral, selon l'espace dans lequel la modulation ou la séparation des différents états de polarisation est effectuée. Certains dispositifs basés sur l'interférométrie et faisant généralement intervenir plusieurs voies, permettent également de réaliser des mesures polarimétriques.

I.3.3.1 Domaine temporel

La façon la plus répandue de générer et d'analyser des états de polarisation est de procéder de manière séquentielle. Ces techniques ont connu un essor important à partir des années 1950.

Le critère essentiel pour ce type d'approche est la fréquence de modulation des états de polarisation car c'est elle qui détermine la rapidité de la mesure.

Plusieurs approches existent, utilisant par exemple :

- la rotation mécanique d'éléments optiques, tels qu'un analyseur tournant [135], des lames de phase tournantes [136, 137] ou encore des miroirs anisotropes [138]. Ici la fréquence de modulation est généralement limitée à quelques Hz
- des modulateurs de Faraday [51, 139-146]. Il s'agit de l'une des méthodes les plus courantes, notamment pour la mesure du pouvoir rotatoire. La fréquence de modulation peut ici atteindre quelques kHz . Toutefois pour atteindre ces hautes fréquences, il est nécessaire d'augmenter fortement le courant alimentant le solénoïde, ceci au prix d'un important échauffement par effet Joule.
- des modulateurs photoélastiques (*Photo-Elastic Modulator*, PEM) [147, 148]. La fréquence de modulation maximale est ici de l'ordre quelques dizaines de kHz mais les PEM requièrent une régulation précise en température.
- des cellules de Pockels [149, 150]. Les fréquences de modulation peuvent atteindre plusieurs dizaines de MHz mais la réponse des cellules de Pockels est très sensible à la température et elles nécessitent des tensions de commande très élevées (jusqu'à plusieurs kV).
- des cristaux liquides [151-160]. Les dispositifs d'imagerie polarimétrique les plus courants reposent sur cette technologie car elle présente de nombreux avantages, notamment un faible coût et l'utilisation de faibles tensions de commande (quelques volts). Il existe principalement deux technologies de cristaux liquides : les cristaux ferroélectriques, qui agissent comme des lames à retard avec un retard optique fixe mais dont l'orientation des lignes neutres est modulable à une fréquence pouvant aller jusqu'à quelques dizaines de kHz . [159, 161, 162], et les cristaux nématiques, qui agissent comme des lames à retard dont l'orientation des lignes neutres est fixe mais dont le retard optique est modulable à une fréquence de l'ordre de quelques dizaines de Hz . Ces derniers sont les plus utilisés [151-158, 160, 163].

Bien qu'elles aient fait leurs preuves pour l'imagerie plein champ, les méthodes de génération et d'analyse d'états de polarisation reposant sur une modulation temporelle

sont trop lentes (cristaux liquides, éléments optiques rotatifs) pour être employées dans un microscope à balayage ou présentent une mise en œuvre complexe (cellules de Pockels, modulateur de Faraday, etc.)

I.3.3.2 Domaine spatial

L'idée sous-jacente à l'exploitation du domaine spatial en polarimétrie est de paralléliser au maximum la génération et l'analyse des états de polarisation afin de réduire le temps de mesure. Pour ce faire, il a été développé différentes approches, telles que :

- la division d'amplitude (*division of amplitude*, DoA ou DoAM), qui utilisent plusieurs détecteurs ainsi que des cubes séparateurs pour paralléliser la génération et/ou l'analyse des états de polarisation [164-166]. De tels systèmes sont encombrants et nécessitent plusieurs détecteurs. La DoA a d'abord été développée en polarimétrie de Stokes. Un microscope à balayage utilisant un PEM pour la génération des états de polarisation avec la DoA pour leur analyse a été proposé [167]. Avec un tel système se pose toutefois la question de l'alignement et de la synchronisation des quatre détecteurs utilisés. Lorsque plusieurs caméras sont utilisées comme détecteur [50] se pose aussi la question du recalage des images obtenues.
- la division de l'ouverture (*division of aperture*, DoAP), qui utilisent un système imageur permettant d'obtenir sur un même détecteur plusieurs images correspondant à différents états de polarisation [168], ceci au prix d'une perte de résolution spatiale et/ou de champ de vue.
- la division du plan focal (*division of focal plane*, DoF ou DoFP), qui place au niveau d'une caméra des microgrilles de polariseurs créant des super-pixels. Ceux-ci permettent l'analyse simultanée de plusieurs états de polarisation, là encore au prix d'une perte de résolution spatiale [118, 169, 170].
- la division du front d'onde (*division of Wavefront*, DoWF), qui produit au sein d'un même faisceau une diversité d'états de polarisation, par exemple en utilisant des lentilles GRIN [171, 172].

De manière générale l'utilisation du domaine spatial implique des systèmes encombrants et complexes avec plusieurs détecteurs ou engendre une perte de résolution spatiale.

I.3.3.3 Interférométrie

Depuis les années 1990, de nouvelles méthodes de mesure basées sur des dispositifs interférométriques ont vu le jour. Il s'agit ici de faire interférer un champ *référence* avec le champ *mesure* afin de faire apparaître un signal, portant l'information de l'anisotropie, linéarisé et amplifié. Le champ de référence peut-être modulé en amplitude ou phase pour une détection homodyne ou décalé en fréquence optique pour une détection hétérodyne.

Ceci a été décliné en différentes architectures, par exemple des interféromètres de Sagnac [173-176], de Mach-Zender [177-181] ou encore de Fabry-Pérot [182-185]. Ces approches permettent d'atteindre des valeurs remarquables en terme de résolution mais sont difficilement intégrables dans un dispositif imageur.

Plus récemment une configuration d'interférométrie dite à chemin commun (*Common Path Interferometry*, CPI) a été proposée. Il s'agit de faire se propager selon le même chemin optique deux champs dont les états de polarisation sont orthogonaux, décalés en phase [186] ou en fréquence optique [68]. L'interaction de ces champs avec le milieu d'étude produit un signal, portant l'information de l'anisotropie, linéarisé et amplifié. L'intérêt de cette configuration est d'être compatible avec la microscopie à balayage.

I.3.3.4 Domaine spectral

En 1999, K. Oka et T. Kato [187] ainsi que P. L. Kebabian et al. [188, 189] ont introduit le principe du codage spectral de la polarisation pour la polarimétrie de Stokes.

Ce principe consiste à associer à chaque longueur d'onde un état de polarisation particulier en utilisant une combinaison de lames de phase d'ordre élevé dont les épaisseurs et les orientations sont judicieusement choisies.

Ces polarimètres de Stokes instantanés sont ainsi capables de mesurer les quatre paramètres de Stokes d'une lumière incidente à partir d'un seul spectre cannelé $I(\lambda)$.

Ce principe peut être vu comme une variante de l'interférométrie à chemin commun, où le déphasage entre les deux champs orthogonaux est piloté par la longueur d'onde (interférométrie spectrale).

Un des avantages de ce principe est qu'il ne nécessite aucun élément actif (les lames de phase sont fixes), contrairement à la modulation temporelle. Il est alors possible d'atteindre des temps d'acquisition beaucoup plus faibles, de l'ordre de quelques μs . Par ailleurs, il est plus aisé de garantir l'homogénéité de la réponse polarimétrique de lames de phase (cristal) que d'un composant actif. La limite de ce principe est que la réponse

polarimétrique du milieu d'étude doit être faiblement dépendante de la longueur d'onde dans la plage spectrale d'analyse considérée.

En 2007, N. A. Hagen et al. [190] et M. Dubreuil et al. [191] ont proposé parallèlement l'idée d'un polarimètre de Mueller instantané par codage spectral. La démonstration expérimentale de ce polarimètre a été réalisée par M. Dubreuil lors de ses travaux de thèse au sein du laboratoire OPTIMAG (anciennement LSOL), avec comme source une diode superluminescente et comme détecteur un spectromètre [132].

Cette approche est compatible avec la microscopie à balayage laser, même si l'utilisation d'un spectromètre comme détecteur impose une configuration en réflexion du fait des contraintes d'alignement. En 2015, C. Li et Y. Zhu en ont fait la démonstration pour une mesure sur fond clair de la retardance linéaire et de son azimut [192], en utilisant un spectromètre rapide.

Lors d'une thèse précédemment préparée au sein du laboratoire OPTIMAG, A. Le Gratiet a développé un microscope à balayage, utilisant le codage spectral pour réaliser la mesure complète de la matrice de Mueller [30, 48, 193]. Par rapport aux précédents travaux réalisés au sein du laboratoire par M. Dubreuil, la configuration développée par A. Le Gratiet comporte deux différences essentielles. En effet, la source utilisée n'est plus une source large bande (diode superluminescente) mais une source à balayage en fréquence optique (dite *swept-source*), dont la cadence de balayage est de 100 kHz, soit un temps de mesure de $10\ \mu\text{s}$, compatible avec la microscopie à balayage laser. Ceci permet notamment de remplacer le spectromètre par un détecteur monocanal (photodiode) dont la surface est compatible (suffisamment grande) avec une configuration de microscopie à balayage laser en transmission.

Par nature, une mesure complète ne peut pas être réalisée sur fond noir et la plupart des dispositifs cités ici ne le sont pas. Puisque nous souhaitons réaliser une mesure ultrasensible, nous allons à présent nous focaliser sur les dispositifs existants permettant de réaliser une mesure polarimétrique sur fond noir.

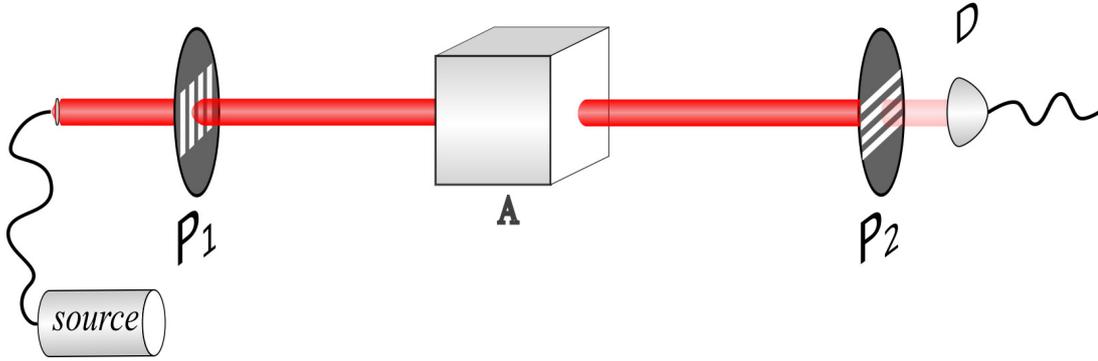


FIGURE I.3.3 – Schéma de la mesure avec polariseurs croisés

I.3.4 Exemples de dispositifs de mesures sur fond noir

I.3.4.1 Montage classique entre polariseurs croisés

Mesure sur fond noir

La manière la plus simple de réaliser la mesure d'une anisotropie optique est de placer le milieu d'étude entre deux polariseurs linéaires croisés P_1 et P_2 (le polariseur de sortie P_2 est généralement appelé *analyseur*), tel que représenté sur la figure I.3.3.

Le signal I mesuré par le détecteur D est alors proportionnel pour une faible anisotropie A au carré de celle-ci, ainsi qu'à la puissance lumineuse incidente I_0 et la transmission isotrope du milieu d'étude T_{samp} , soit :

$$I = I_0 \times T_{samp} \times A^2 \quad (\text{I.3.12})$$

Nous avons donc une mesure sur fond noir, quadratique. Classiquement pour le pouvoir rotatoire ($A = \theta$), la mesure est réalisée en tournant l'analyseur de manière à retrouver l'extinction, l'angle de rotation de l'analyseur étant alors égal au pouvoir rotatoire.

Cette méthode a été utilisée dès le *XIX*^{ème} siècle en microscopie [194] et est toujours très largement utilisée, par exemple en minéralogie [195, 196].

Mesure sur quasi-fond noir

Une manière de linéariser la mesure consiste à décroiser légèrement l'analyseur d'un faible angle de biais β . L'équation I.3.12 devient alors :

$$I = I_0 \times T_{\text{samp}} \times (A^2 + 2\beta A + \beta^2) \quad (\text{I.3.13})$$

Un terme βA linéaire par rapport à l'effet apparaît. Toutefois se pose le problème de le séparer des autres termes quadratiques, bien qu'il soit possible de négliger A^2 devant βA pour une faible anisotropie A . Par ailleurs, la mesure reste dépendante de l'intensité de la source et de la transmission isotrope du milieu d'étude.

De plus une telle méthode n'utilisant qu'un seul état de polarisation pour sonder le milieu d'étude ne permet pas d'obtenir plus qu'une seule information polarimétrique, généralement le pouvoir rotatoire θ . Dans le cas d'un milieu d'étude présentant une retardance linéaire LR d'azimut α , la grandeur mesurée est $A = LR \cos \alpha$, sans pouvoir mesurer indépendamment LR et α .

I.3.4.2 Dispositifs basés sur une modulation temporelle de la polarisation

Mesure ponctuelle

Une façon de pouvoir séparer les différents termes est de faire osciller l'analyseur de quelques degrés autour de la position croisée d'un angle de biais $\beta(t) = \beta_0 \sin(2\pi ft)$, à la fréquence f ou bien de manière équivalente, d'utiliser un élément optique actif, par exemple un modulateur de Faraday [139-146] ou un modulateur électro-optique [147, 150, 197] pour faire osciller de quelques degrés la polarisation de la lumière incidente autour de la position croisée, d'un angle $\beta(t) = \beta_0 \sin(2\pi ft)$, à une fréquence de modulation f . Ceci a classiquement été appliqué pour la mesure du pouvoir rotatoire θ (voir figure I.3.4).

L'équation du signal détecté pour un faible pouvoir rotatoire θ prend alors la forme :

$$I = I_0 \times T_{\text{samp}} \times [\beta_0^2 \sin^2(2\pi ft) + 2\theta\beta_0 \sin(2\pi ft)] \quad (\text{I.3.14})$$

En l'absence de milieu avec un pouvoir rotatoire, nous avons un signal présentant une seule modulation, à la fréquence $2f$ (correspondant au terme $\beta_0^2 \sin^2(2\pi ft)$). Lorsqu'un milieu avec un pouvoir rotatoire est présent, une modulation à la fréquence f apparaît dont l'amplitude est proportionnelle à θ , ainsi qu'un terme continu en θ^2 que nous négligeons car

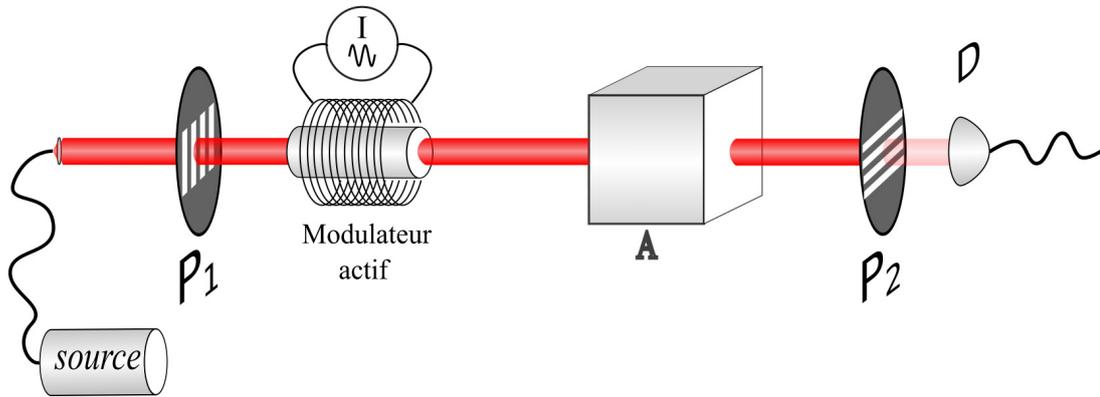


FIGURE I.3.4 – Schéma de la mesure sur fond noir avec modulateur actif

le pouvoir rotatoire θ est faible. Nous obtenons ainsi une mesure sur fond noir linéarisée du pouvoir rotatoire θ . En prenant la transformée de Fourier [198] du signal modulé obtenu puis en faisant le rapport des amplitudes des pics aux fréquences f et $2f$, nous pouvons de plus éliminer la dépendance à I_0 et à T_{samp} [142, 146, 147].

Ces méthodes ont ainsi de très bonnes résolutions, par exemple, autour de $\Delta\theta = 10^{-4}^\circ$ pour [140, 141, 145] et autour de $\Delta\theta = 10^{-6}^\circ$ pour [197].

Toutefois, elles sont limitées par la fréquence de modulation des éléments optiques actifs et d'autre part l'intégration de ces éléments actifs dans des systèmes imageurs n'est pas toujours aisée.

Microscopie plein champ avec modulateurs de Faraday

En 2001 J. Kuhn et al. ont proposé d'intégrer dans un microscope inversé Nikon Diaphot-TMD deux modulateurs de Faraday pour générer et analyser les états de polarisation (cf. figure I.3.5) afin de mesurer la retardance linéaire [51].

Le microscope est doté d'une source de lumière blanche et d'une caméra CCD comme détecteur. L'alimentation de chaque modulateur de Faraday requiert une alimentation capable de fournir des courants de $\pm 20 A$, avec une puissance de $400 W$. Ces valeurs de courant alimentant le solénoïde des modulateurs étant fortes, l'échauffement par effet Joule est très important et nécessite un système de refroidissement par eau.

Cela est d'autant plus dommageable que la réponse des modulateurs de Faraday varie avec la température. Il faut donc la mesurer en continu pour appliquer une correction adéquate au courant les alimentant. Enfin il est nécessaire d'attendre $20 min$ avant d'utiliser

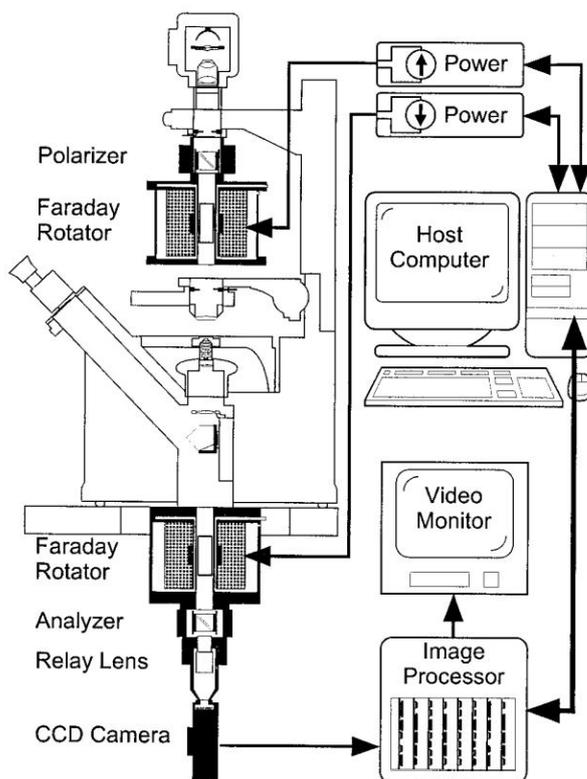


FIGURE I.3.5 – Schéma du microscope plein champ à modulateurs de Faraday développé J. Kuhn et al. [51]

le microscope, le temps que la température des modulateurs de Faraday se stabilise.

Ceci est une bonne illustration des difficultés expérimentales que peut soulever l'intégration d'éléments optiques actifs dans un microscope.

Microscopie plein champ avec cristaux liquides

La principale avancée en matière de microscopie polarimétrique utilisant une modulation par éléments optiques actifs a été l'introduction du LC-PolScope, développé à partir du milieu des années 1990 par R. Oldenbourg et M. Shribak et permettant la mesure de la retardance linéaire et de son azimut [151-155].

Celui-ci repose sur l'utilisation de retardateurs à cristal liquide agissant comme des lames de phase de retard variable. Celles-ci sont intégrées dans un microscope plein champ, doté d'une caméra CCD (cf. figure I.3.6).

L'acquisition de cinq images successives, avec pour chacune un état de polarisation différent piloté par les retardateurs à cristal liquide, permet de réaliser la mesure sur fond noir [155].

Pour une image de 640×480 pixels, la mesure prend environ $0.5 s$, avec une résolution spatiale de $0.2 \mu m$ et une résolution sur la mesure du retard optique de $(\Delta ne)_{min} = 0.02 nm$, pour une gamme allant de 0 à $\lambda/2$ [152].

Ce système est aujourd'hui commercialisé par CRi (groupe PerkinElmer), largement utilisé¹, notamment pour des applications en embryologie (version *Oosight*²), et a fait l'objet de très nombreuses publications dans différents domaines, par exemple [17, 59, 61, 81, 82, 199-201].

Toutefois, bien que les performances obtenues par le LC-PolScope soient intéressantes, l'utilisation de cristaux liquides ne permet pas de réaliser la mesure en moins de quelques dizaines de *ms*. Ceci ne permet pas de transposer ce principe sur un microscope à balayage, où le temps de résidence (*pixel-dwell time*) typique est de quelques μs par pixel.

Pour réaliser des mesures polarimétriques avec un microscope à balayage laser, il est donc nécessaire d'utiliser d'autres approches, permettant de réaliser des mesures en un temps compatible avec le temps de résidence par pixel typique d'un microscope à balayage laser.

1. Des ressources sont disponibles sur le site <https://openpolscope.org>.
2. <https://www.hamiltonthorne.com/index.php/oosight-overview>

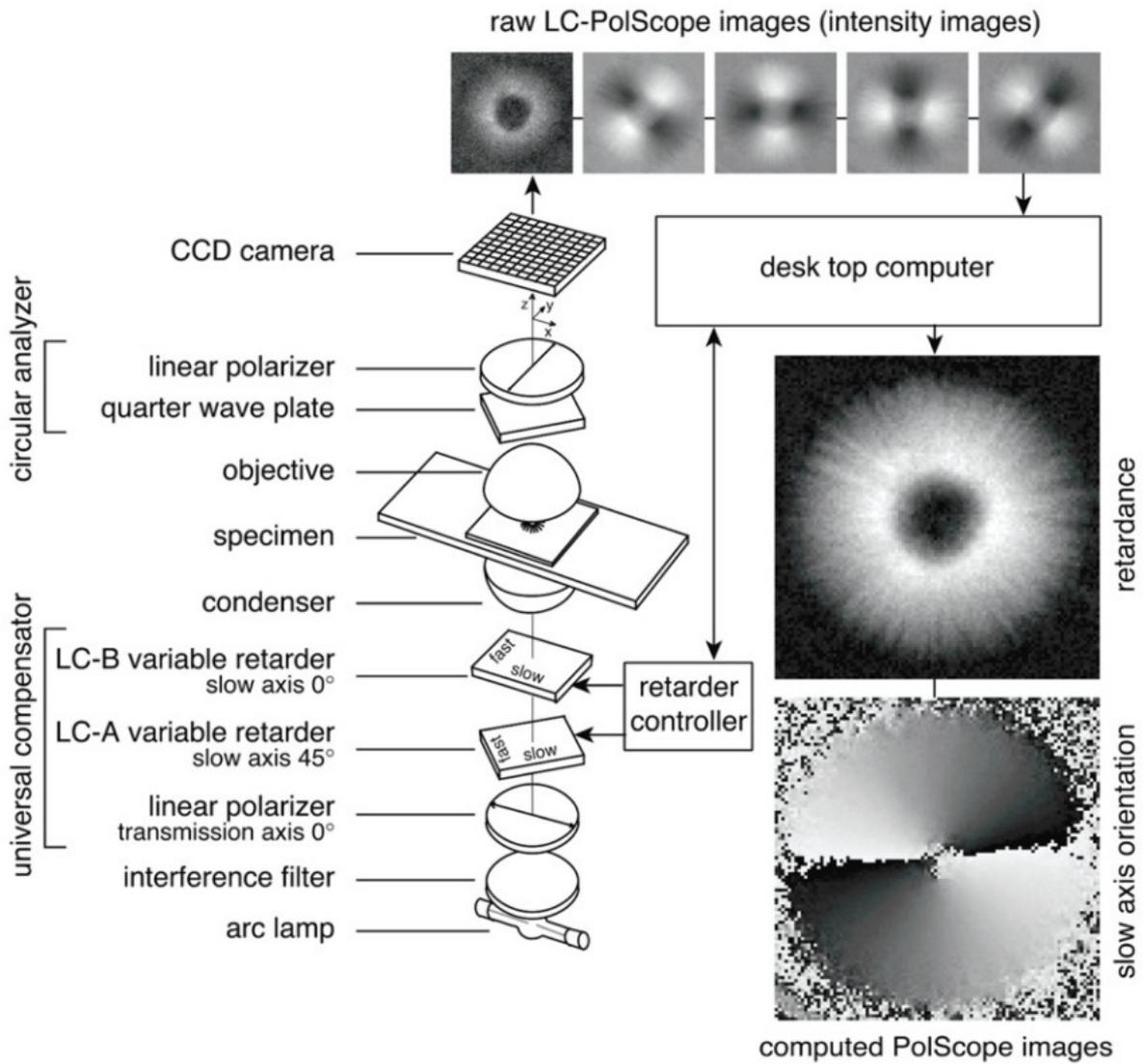


FIGURE I.3.6 – Schéma du LC-PolScope développé par R. Oldenbourg et M. Shribak [155]

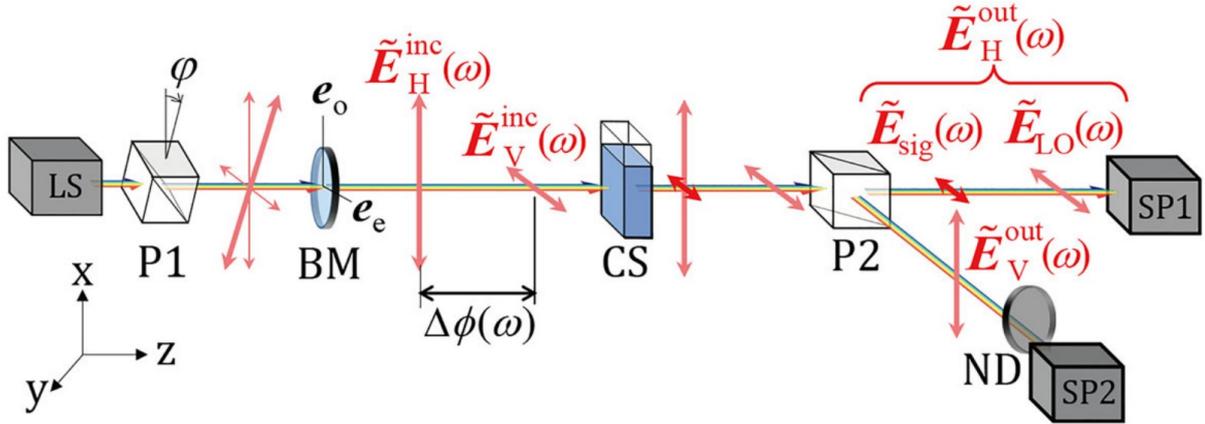


FIGURE I.3.7 – Schéma du dispositif sur fond noir développé par Y. Nishiyama et al. [202], avec LS, source de lumière; BM, lame biréfringente; P1 et P2, polariseur linéaire; CS, échantillon chiral; ND, densité neutre; SP1 et SP2, spectromètre CCD

I.3.4.3 Dispositifs basés sur une modulation spectrale de la polarisation

Mesure ponctuelle

En 2020, une configuration sur fond noir par codage spectral pour la mesure du pouvoir rotatoire a été implémentée par Y. Nishiyama et al. (figure I.3.7) [202].

Cette configuration utilise comme source lumineuse une lampe à arc au Xénon ou un laser générant des pulses supercontinuum et comme détecteur deux spectromètres. Ici l'angle de biais, permettant la linéarisation de la mesure sur fond noir, correspond au décroisement du polariseur $P1$ d'un petit angle, noté φ sur la figure I.3.7. La moyenne de 10 spectres, chacun acquis en 100 ms , permet d'obtenir une résolution $\Delta\theta = 10^{-2}^\circ$.

Cette approche pourrait être adaptée à la microscopie à balayage en réflexion, selon une configuration du genre de celle proposée par C. Li et Y. Zhu pour la mesure sur fond clair [192], avec un spectromètre rapide (cadence de mesure 78 kHz).

Microscopie plein champ avec lame de quartz

En 2015, M. Shribak a introduit une nouvelle approche de microscopie plein champ basée sur le codage spectral de la polarisation, qu'il a baptisée *Polychromatic polarization microscope (PPM)* et qui a été déclinée en différentes versions (figure I.3.8) [203, 204].

Ici la source utilisée est une source de lumière blanche et le détecteur une caméra

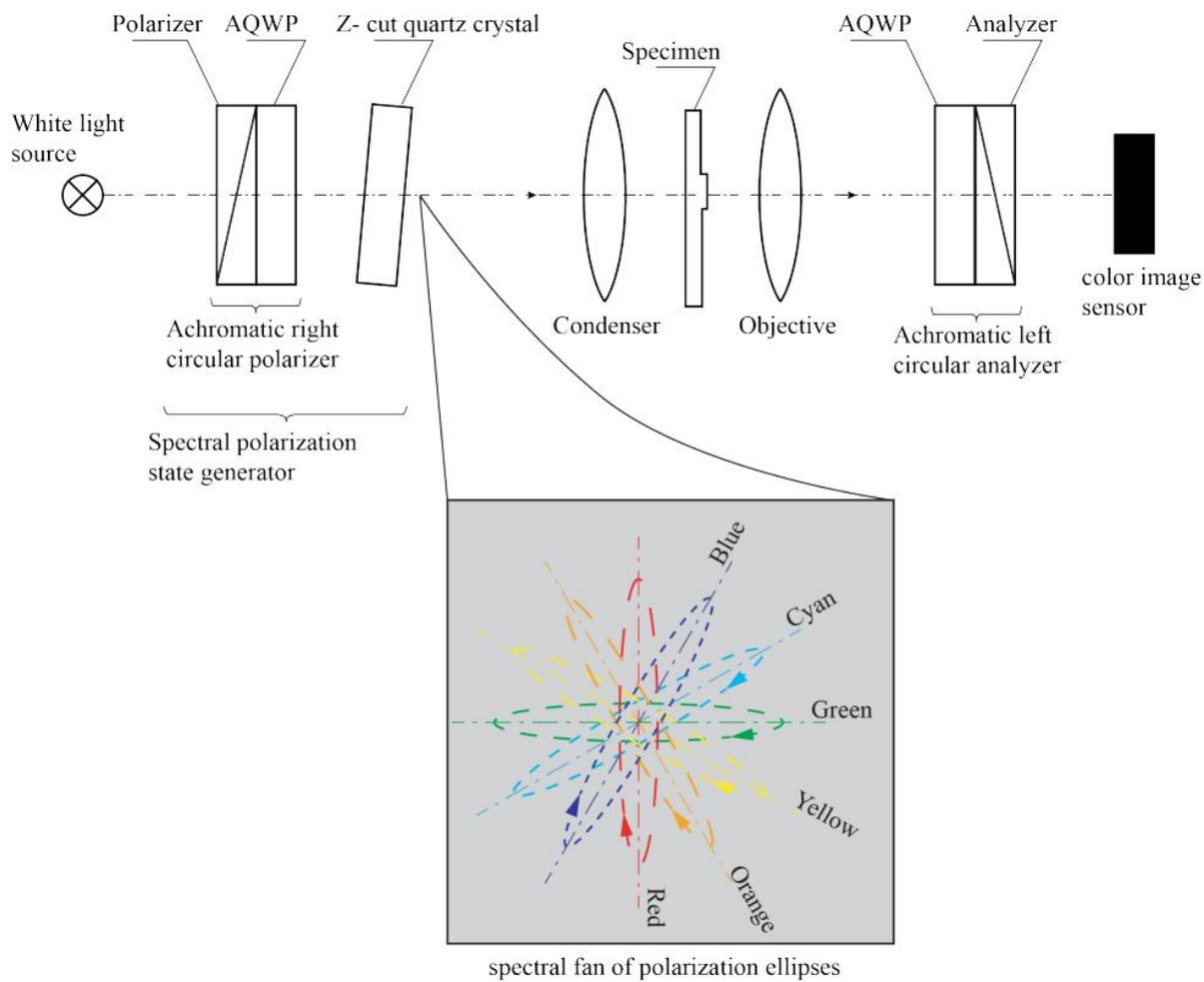


FIGURE I.3.8 – Schéma du *Polychromatic polarization microscope* développé par M. Shri-
bak [204]

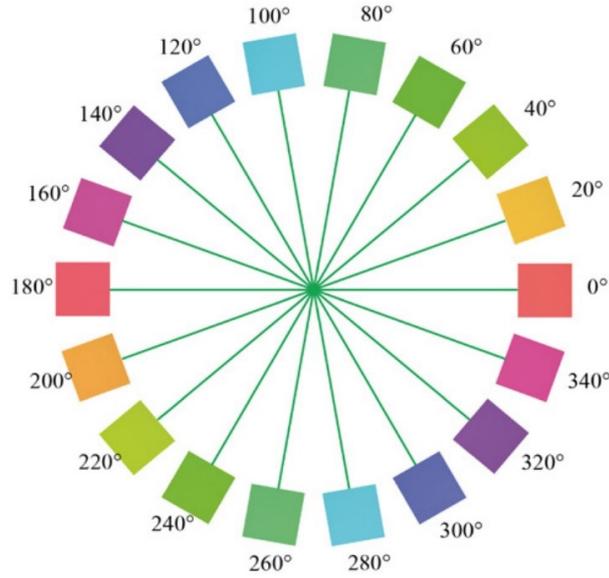


FIGURE I.3.9 – Couleurs associées à l’azimut de la retardance pour le PPM développé par M. Shribak [205]

CCD. Le PSG est formé d’un polariseur linéaire et d’une lame quart d’onde achromatique générant un état de polarisation circulaire droit et d’une lame de quartz épaisse, taillée de manière à ce que l’axe optique soit perpendiculaire aux faces de la lame, légèrement inclinée (ce qui correspond à l’angle de biais linéarisant la mesure), qui va permettre de faire tourner l’état de polarisation en sortie d’un angle de rotation qui va dépendre de la longueur d’onde. Le PSA est quant à lui constitué d’une lame quart d’onde achromatique et d’un analyseur linéaire, croisé par rapport au premier polariseur, formant ainsi un analyseur d’état de polarisation circulaire gauche.

Grâce à cette combinaison, les couleurs de l’image au niveau de la caméra sont associées à l’azimut de la retardance linéaire (telles que sur le schéma I.3.9) et l’intensité à la valeur de la retardance linéaire, en supposant toutefois qu’il n’y a pas de variation de la transmission isotrope du milieu d’étude.

Ceci permet de faire une image en temps réel sur une gamme de retards optiques (Δne) allant de 1 nm à 300 nm mais cette configuration est surtout conçue pour créer un contraste plutôt que de fournir une information quantitative [205]. Une variante permettant de réaliser des mesures quantitatives a été proposée en 2021 par B. Yang et al [206], mais celle-ci requiert de considérer le milieu d’étude comme achromatique sur une bande spectrale large de 300 nm .

Différentes applications ont été étudiées, telles que l’histologie [45, 207] ou la minéralogie [205]

Conclusion

Nous constatons qu’il n’existe pas à l’heure actuelle de microscope à balayage laser en transmission capable de réaliser une mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimut. Les travaux présentés dans ce manuscrit vont chercher à y parvenir.

Ce nouveau microscope reprendra donc l’approche mise en œuvre par Aymeric Le Gratiet lors de sa thèse pour mesurer la matrice de Mueller [30], à savoir : une source à balayage en fréquence optique et un détecteur monocanal. Cependant ce nouveau microscope sera basée sur une philosophie de mesure sur fond noir de la retardance linéaire, ceci afin de pouvoir réaliser l’imagerie de structures très faiblement biréfringentes dans les milieux biologiques, en deçà de la résolution accessible par la polarimétrie de Mueller.

DEUXIÈME PARTIE

**Développement sur table optique de
dispositifs de mesure sur fond noir
d'anisotropies optiques par codage
spectral de la polarisation**

PLAN DE LA DEUXIÈME PARTIE

Dans la première partie de ce manuscrit, nous avons présenté des exemples d'applications de l'imagerie polarimétrique pour la biologie et la médecine. Nous avons ensuite introduit le formalisme permettant de traiter de la polarisation et des anisotropies optiques. Puis nous avons décrit différentes philosophies permettant de réaliser une mesure polarimétrique.

Dans cette partie, nous allons décrire le développement de nouveaux dispositifs de mesure sur fond noir des anisotropies optiques basés sur le codage spectral de la polarisation, sur table optique.

Le chapitre II.1 introduira le principe de fonctionnement du codage spectral de la polarisation. Puis une manière d'utiliser ce principe pour réaliser une mesure sur fond noir des anisotropies optiques sera présentée dans le cas général. Un modèle du bruit permettant de caractériser cette mesure en terme de résolution sera ensuite développé.

Le chapitre II.2 présentera la déclinaison de cette méthode dédiée à la mesure du pouvoir rotatoire. Nous présenterons la mise en œuvre et la validation expérimentale du dispositif de mesure. Nous étudierons ensuite l'impact des erreurs systématiques sur la mesure. Enfin nous vérifierons le modèle de bruit introduit au chapitre précédent.

Le chapitre II.3 sera dédié au développement de la configuration pour la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth, qui sera ultérieurement intégrée dans un microscope à balayage. Nous porterons une attention particulière au choix des lames $\lambda/4$, utilisées dans cette configuration, et à l'impact de leurs défauts sur la mesure. Un modèle analytique permettant d'évaluer cet impact sera présenté ainsi que des méthodes permettant de compenser ces erreurs. Enfin l'efficacité de ces méthodes de correction sera validé expérimentalement.

PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT : MESURE D'UNE ANISOTROPIE SUR FOND NOIR PAR CODAGE SPECTRAL DE LA POLARISATION

Dans le présent chapitre, nous allons introduire le principe du codage spectral de la polarisation puis son application à la mesure sur fond noir d'une anisotropie optique. Un modèle du bruit sera également proposé, pour caractériser cette mesure en terme de résolution.

II.1.1 Principe du codage spectral de la polarisation

Les dispositifs de mesure des anisotropies optiques que nous allons développer reposent sur le principe du codage spectral de la polarisation. L'idée est de générer différents états de polarisation, en associant à une longueur d'onde un état de polarisation donné.

Considérons une lame de phase B d'épaisseur e et de biréfringence Δn . Le retard associé s'écrit (cf. équation I.2.39) :

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{c} \Delta n e \nu \quad (\text{II.1.1})$$

avec c , la vitesse de la lumière dans le vide et ν , la fréquence optique de la lumière incidente.

Nous négligeons dans un premier temps la dispersion chromatique, c'est à dire que nous considérons ici que la biréfringence $\Delta n(\lambda)$ est constante sur la bande spectrale considérée.

Chaque fréquence optique ν produisant un déphasage $\Delta\phi$ spécifique, cette lame a la capacité de modifier différemment les états de polarisation incidents selon la fréquence

optique.

Soit une source à balayage en fréquence optique, dont la fréquence optique balayaie dans le temps selon la relation $\nu(t) = \xi t + \nu_0$ avec ξ , la vitesse de balayage en fréquence optique de la source ($\text{Hz}\cdot\text{s}^{-1}$), avec $t[-T_{rep}/2, T_{rep}/2]$ et T_{rep} , la durée du balayage, ainsi qu'avec ν_0 , la fréquence optique centrale du spectre de la source.

Si nous éclairons la lame à l'aide de cette source à balayage en fréquence optique, l'équation II.1.1 peut se mettre sous la forme :

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{c} \Delta ne \nu(t) = \frac{2\pi}{c} \Delta ne (\xi t + \nu_0) \quad (\text{II.1.2})$$

Cette équation peut se réécrire sous la forme :

$$\Delta\phi = \phi_0 + 2\pi f_0 t \quad (\text{II.1.3})$$

en posant $\phi_0 = 2\pi \Delta ne / \lambda_0$, avec $\lambda_0 = c / \nu_0$, la longueur d'onde centrale du spectre de la source, et $f_0 = \Delta ne \xi / c$ (Hz), qui correspond à la fréquence fondamentale de modulation des états de polarisation.

Plus généralement la phase constante ϕ_0 peut également résulter de la position de la fenêtre d'analyse. Par la suite, nous appellerons ϕ_0 la *phase-fenêtre*, qui tient compte indifféremment de la fenêtre d'analyse et de la lame de phase.

Plaçons à présent la lame B entre deux polariseurs linéaires P_1 et P_2 croisés, dont les axes sont orientés respectivement à la verticale et à l'horizontale (tel que représenté sur la figure II.1.1, a.).

L'axe lent de B est orienté d'un angle β par rapport à l'axe du polariseur P_1 . La puissance mesurée dans le temps par le détecteur D est un signal périodique dont l'expression est :

$$I(t) = \frac{I_0(t)}{2} \sin^2(2\beta) (1 - \cos(2\pi f_0 t + \phi_0)) \quad (\text{II.1.4})$$

Ici le balayage temporel correspond à un balayage en fréquence optique de la source (figure II.1.1, b.). Le signal obtenu est un spectre cannelé (figure II.1.1, c.) dont l'intensité varie en fonction de la fréquence optique et dont l'amplitude est pilotée par $\sin^2(2\beta)$.

Ce spectre peut être interprété en termes d'états de polarisation. Ainsi dans le cas particulier où $\beta = 45^\circ$, nous obtenons le spectre cannelé représenté sur la figure II.1.2, à gauche, sur lequel nous avons représenté trois états de polarisation pour trois longueurs d'onde particulières.

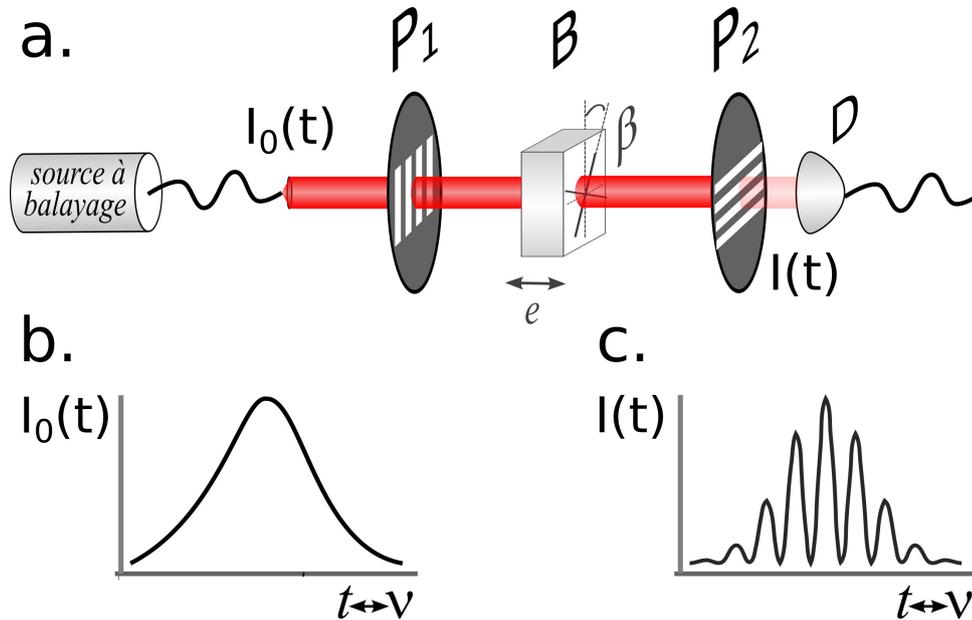


FIGURE II.1.1 – Schéma de principe du codage spectral de la polarisation : a., schéma du montage avec une source à balayage en fréquence optique, une lame de phase B d'épaisseur e et orienté d'un angle β par rapport à l'axe vertical entre deux polariseurs croisés P_1 et P_2 ainsi qu'un détecteur D ; b., spectre de la source lumineuse ; c., spectre cannelé mesuré par le détecteur.

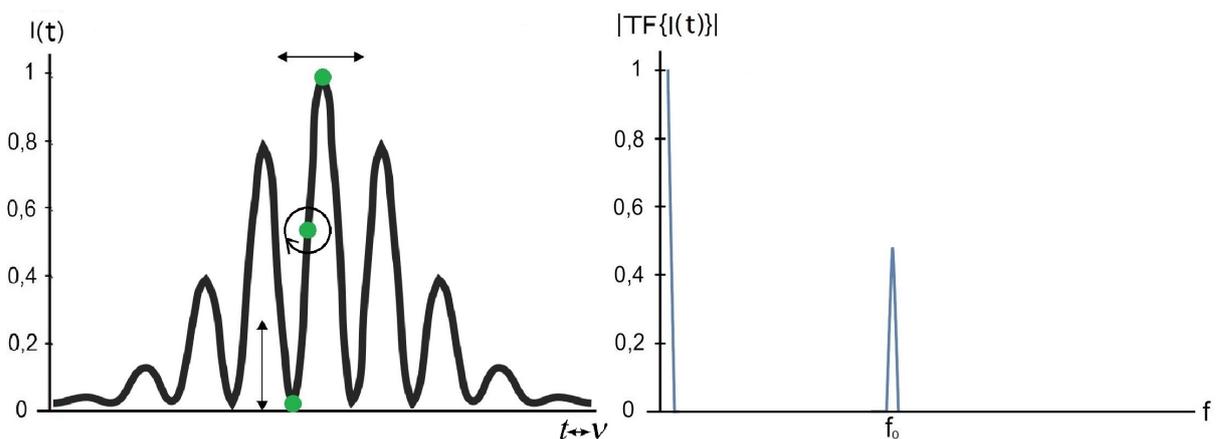


FIGURE II.1.2 – A gauche, spectre cannelé normalisé de fréquence f_0 , obtenu avec une lame de phase d'épaisseur e , orientée à 45° entre deux polariseurs croisés. Trois états de polarisation sont représentés pour trois longueurs d'onde particulières ; à droite, valeur absolue de la transformée de Fourier du signal $I(t)$, normalisée par la composante continue.

En effet, les longueurs d'onde pour lesquelles l'intensité mesurée est nulle correspondent, en sortie de la lame, à un état de polarisation linéaire, dont la direction est orthogonale à l'axe du polariseur de sortie P_2 . Au contraire pour les longueurs d'onde où l'intensité mesurée est maximale, nous avons en sortie de la lame un état de polarisation linéaire avec une direction alignée à l'axe du polariseur de sortie P_2 . Entre ces deux longueurs d'onde particulières, les états de polarisation à la sortie de la lame sont elliptiques. Hormis pour la longueur d'onde moyenne des deux précédentes, où les états de polarisations sont circulaires. Nous pouvons ainsi générer de multiples états de polarisation, sans utiliser d'éléments optiques actifs, hormis le balayage en fréquence optique de la source.

La transformée de Fourier du signal $I(t)$ comporte un pic à la fréquence f_0 tel qu'illustré par la figure II.1.2, à droite, où est tracée $|FT[I(t)]|$, la valeur absolue de la transformée de Fourier du signal. Cette fréquence de modulation des états de polarisation dépend de la biréfringence Δn et de l'épaisseur e , selon la relation $f_0 = \Delta n e \xi / c$, avec ξ , la vitesse de balayage en fréquence de la source. De ce fait, nous pouvons obtenir le nombre de cannelures désiré dans la bande spectrale de la source, en choisissant judicieusement le matériau et l'épaisseur de la lame de phase.

Par ailleurs il est possible de contrôler via l'angle de biais β quels états de polarisation seront générés par la lame de phase B . Pour illustrer ceci nous représentons sur la sphère de Poincaré les états de polarisations générés en sortie de la lame pour différentes valeurs de l'angle de biais β (figure II.1.3).

Ainsi avec une combinaison spécifique de lames de phase de matériau, d'épaisseur ainsi que d'orientation bien déterminée, nous pouvons générer les états de polarisation nécessaires à la mesure d'une anisotropie optique.

II.1.2 Principe de la mesure sur fond noir par codage spectral de la polarisation

Nous souhaitons mesurer avec la plus grande sensibilité possible une anisotropie optique de phase A dont la matrice de Jones est notée $[A]$. Cette anisotropie pourra être soit circulaire, soit linéaire. En l'absence d'anisotropie, la matrice de Jones $[A]$ sera égale à la matrice identité.

Le schéma général du dispositif de mesure est représenté sur la figure II.1.4. Il comporte deux polariseurs linéaires P_1 et P_2 , que nous considérons comme parfaits dans ce chapitre, dont les axes sont orientés respectivement à la verticale V et à l'horizontale H dans le

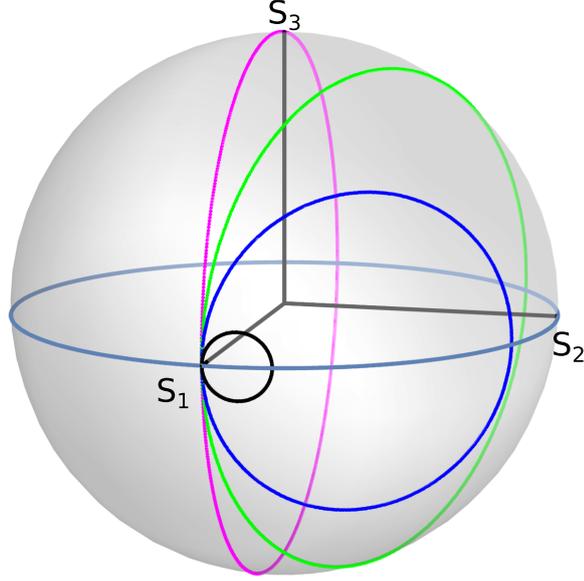


FIGURE II.1.3 – États de polarisation après une lame de retard B orienté à $\beta = 3^\circ$ (noir), $\beta = 15^\circ$ (bleu), $\beta = 30^\circ$ (vert) et $\beta = 45^\circ$ (magenta).

repère du laboratoire. Les vecteurs propres associés sont notés $|V\rangle$ et $|H\rangle$. Entre ces polariseurs sont placées deux lames de phase B_1 et B_2 d'épaisseurs respectives ae et be (avec a et b entiers), qui permettent le codage spectral. Nous les désignerons à présent *lames de codage*. Nous notons β l'angle de l'axe lent de la lame B_1 par rapport à l'axe du polariseur P_1 . L'axe lent de la lame B_2 est quant à lui aligné sur l'axe du polariseur P_1 . Après les lames de codage est placé le milieu d'étude présentant une anisotropie optique A .

Dans le cas où l'anisotropie à mesurer est une biréfringence, la matrice de Jones de l'anisotropie $[A]$ peut s'écrire dans le repère formé par les vecteurs $|H\rangle$ et $|V\rangle$:

$$[A] = \begin{bmatrix} a_{\parallel} & a_{\perp} \\ -a_{\perp}^* & a_{\parallel}^* \end{bmatrix} \quad (\text{II.1.5})$$

où a_{\perp}^* est le complexe conjugué de a_{\perp} .

Nous notons $a_{\perp} = \langle H|A|V\rangle$ et $a_{\parallel} = \langle H|A|H\rangle$, les éléments de la matrice de Jones $[A]$ mesurables entre deux polariseurs linéaires croisés ou parallèles.

En l'absence d'anisotropie, nous avons $a_{\parallel} = 1$ et $a_{\perp} = 0$. En présence d'une faible anisotropie, ces relations deviennent $a_{\parallel} \approx 1$ et $a_{\perp} \neq 0$. Mesurer l'anisotropie revient alors

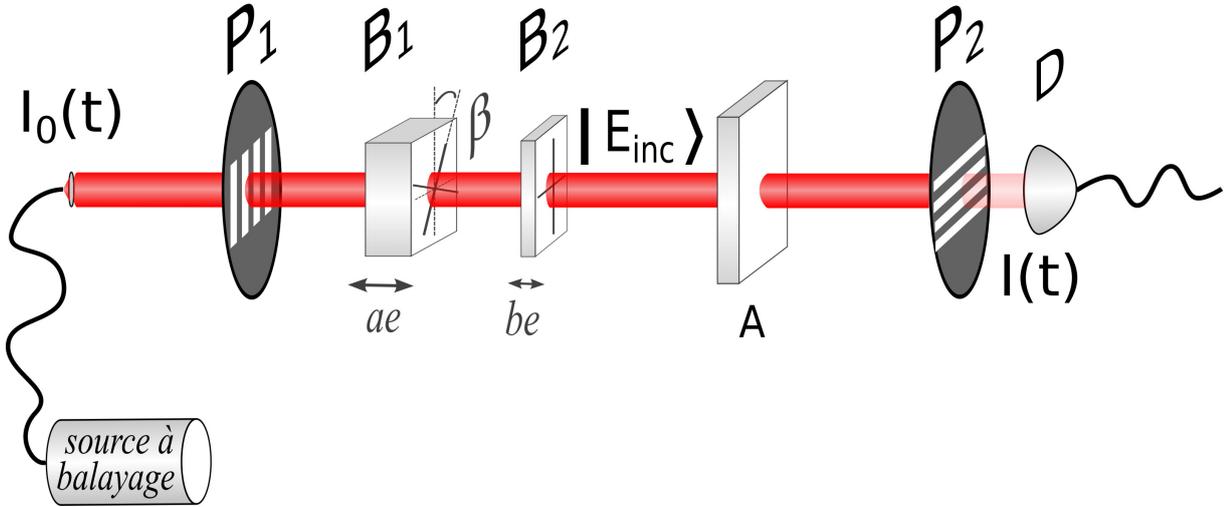


FIGURE II.1.4 – Schéma général du montage de mesure d'une anisotropie A , avec une source à balayage en fréquence optique, deux lames de phase, la lame B_1 d'épaisseur ae , orientée d'un angle β par rapport à l'axe vertical et la lame B_2 d'épaisseur be , alignée à l'axe vertical, deux polariseurs croisés P_1 et P_2 ainsi qu'un détecteur D .

à mesurer la valeur de a_{\perp}

Lorsque la lame B_1 est orientée d'un angle de biais β , le champ incident au niveau de l'anisotropie $[A]$ peut s'écrire à partir des matrices de Jones des lames B_1 et B_2 , notés respectivement $J_{B_1}(\beta)$ et $J_{B_2}(0^\circ)$:

$$|E_{inc}\rangle = J_{B_2}(0^\circ) \cdot J_{B_1}(\beta) \cdot |V\rangle \quad (\text{II.1.6})$$

Ceci donne :

$$|E_{inc}\rangle = E_0(t) \begin{bmatrix} \cos^2 \beta + \sin^2 \beta e^{ja\Delta\phi(t)} \\ \frac{1}{2} \sin 2\beta (e^{jb\Delta\phi(t)} - e^{j(a+b)\Delta\phi(t)}) \end{bmatrix} \quad (\text{II.1.7})$$

avec $E_0(t) = \sqrt{I_0}$, l'amplitude du champ incident et $\Delta\phi(t) = \frac{2\pi}{c} \Delta ne\nu(t)$. Nous omettrons les dépendances temporelles dans la suite de ce manuscrit afin d'alléger les notations.

Sur la sphère de Poincaré, les états de polarisation correspondants sont localisés autour de l'état de polarisation linéaire, orienté verticalement (aligné au polariseur d'entrée P_1). Ils forment une rosace dont la géométrie dépend des valeurs a et b , tel que représenté sur la figure II.1.5. A noter également que la taille de cette rosace est définie par un cône de révolution dont le sommet est le centre de la sphère et dont l'angle au sommet est égal à

4β .

Les états de polarisation sont ensuite modifiés par le milieu anisotrope A et projetés sur l'axe horizontal du polariseur P_2 . Le signal détecté va alors prendre la forme :

$$I(t) = T_{samp} | \langle H | A | E_{inc} \rangle |^2$$

$$I(t) = T_{samp} I_0 | a_{\perp} (\cos^2 \beta + \sin^2 \beta e^{ja\Delta\phi}) + a_{\parallel} \frac{1}{2} (\sin 2\beta (e^{jb\Delta\phi} - e^{j(a+b)\Delta\phi})) |^2 \quad (\text{II.1.8})$$

avec I_0 , la puissance optique au niveau du milieu d'étude et T_{samp} , sa transmission isotrope.

Ce signal est un spectre cannelé composé d'une combinaison de modulations portant chacune une information polarimétrique différente. Nous pouvons le décomposer en série de Fourier [198] afin de réécrire l'équation II.1.8 sous la forme :

$$I(t) = I_{DC} + F_a e^{j2\pi a f_0 t} + F_b e^{j2\pi b f_0 t} + F_{a-b} e^{j2\pi(a-b)f_0 t} + F_{a+b} e^{j2\pi(a+b)f_0 t} + c.c. \quad (\text{II.1.9})$$

avec $c.c.$, le complexe conjugué, F_a , F_b , F_{a-b} , F_{a+b} , les pics obtenus par transformée de Fourier du spectre $I(t)$ et I_{DC} , la composante continue.

En considérant des polariseurs parfaits, les expressions de ces pics et de la composante continue sont :

$$I_{DC} = \frac{1}{4} T_{samp} I_0 (|a_{\parallel}|^2 + 3|a_{\perp}|^2 + (|a_{\perp}|^2 - |a_{\parallel}|^2) \cos(4\beta))$$

$$F_a = -\frac{1}{4} T_{samp} I_0 (|a_{\parallel}|^2 - |a_{\perp}|^2) \sin^2(2\beta) e^{ja\phi_0}$$

$$F_b = \frac{1}{4} T_{samp} I_0 a_{\parallel} a_{\perp}^* \sin(4\beta) e^{jb\phi_0}$$

$$F_{a-b} = T_{samp} I_0 a_{\parallel} a_{\perp}^* \cos(\beta) \sin^3(\beta) e^{j(a-b)\phi_0}$$

$$F_{a+b} = -T_{samp} I_0 a_{\parallel} a_{\perp}^* \cos^3(\beta) \sin(\beta) e^{j(a+b)\phi_0} \quad (\text{II.1.10})$$

Nous faisons l'hypothèse que les éléments a_{\parallel} et a_{\perp} sont indépendants de la longueur d'onde sur la bande spectrale d'analyse, car les milieux d'étude avec lesquels nous travaillerons par la suite sont fins.

A partir de ces pics dans l'espace de Fourier, l'objectif est de réaliser la mesure de l'ani-

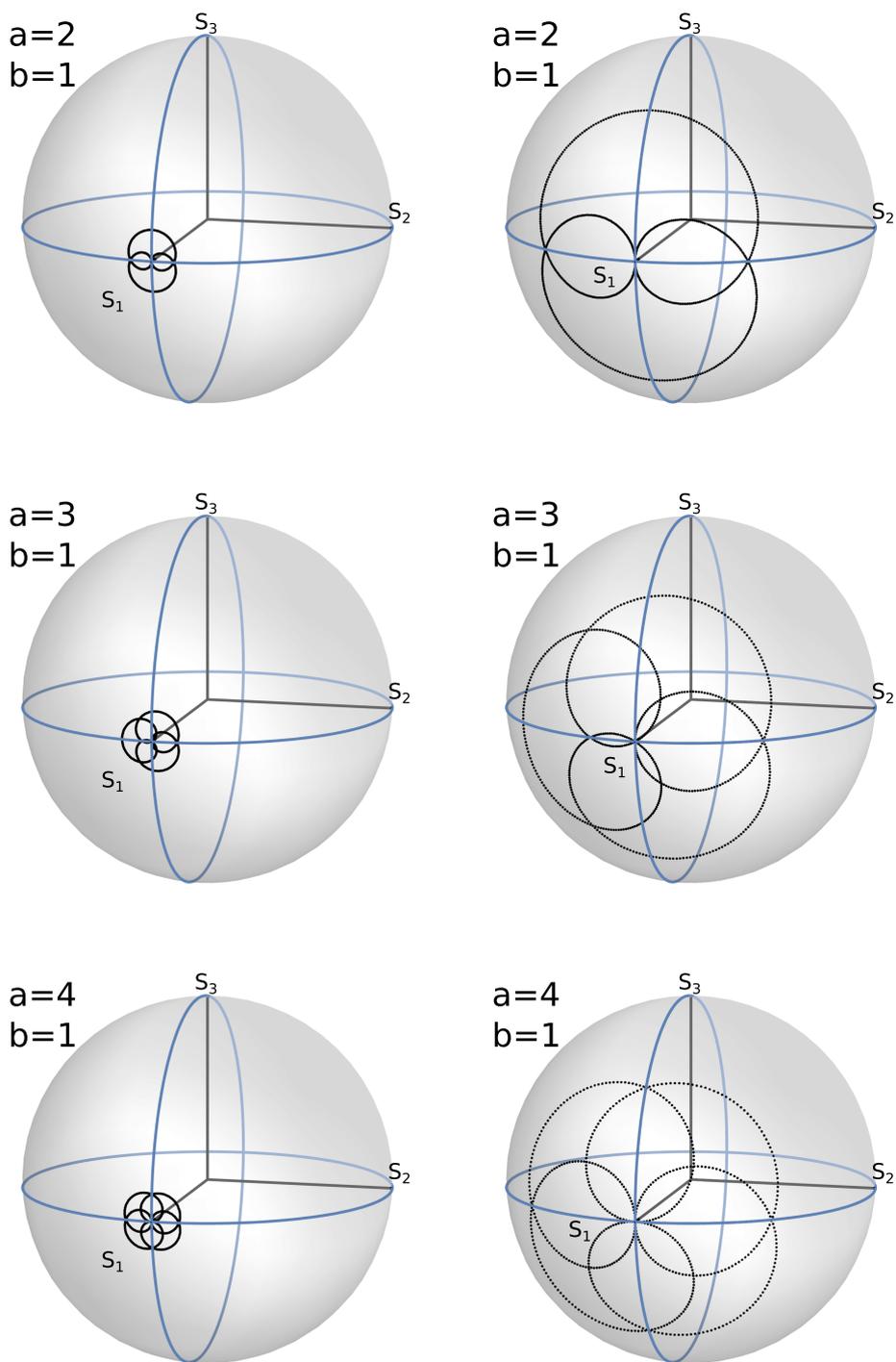


FIGURE II.1.5 – Représentation sur la sphère de Poincaré des états de polarisation en sortie des lames de codage pour $\beta = 2^\circ$, à gauche et $\beta = 10^\circ$ à droite, avec : en haut, $a=2$, $b=1$; au milieu, $a=3$, $b=1$; et en bas, $a=4$, $b=1$.

sotropie du milieu d'étude, ce qui revient à mesurer le paramètre a_{\perp} . Afin de comprendre le fonctionnement du dispositif, nous allons d'abord nous intéresser à une configuration avec $\beta = 0^{\circ}$ (configuration croisée) puis à une configuration avec un faible β , d'abord sans anisotropie puis avec un milieu d'étude faiblement anisotrope.

II.1.2.1 Configuration croisée

Dans un premier temps considérons le cas où les axes lents des lames B_1 et B_2 sont tous deux alignés sur l'axe du premier polariseur, soit $\beta = 0^{\circ}$. Le champ résultant en sortie des lames dans les directions V et H peut se mettre sous la forme :

$$|E_{inc}\rangle = E_0|V\rangle \quad (\text{II.1.11})$$

avec $E_0 = \sqrt{I_0}$, l'amplitude du champ incident. Dans ce cas le système est équivalent au montage classique avec deux polariseurs croisés.

L'intensité détectée s'écrit :

$$I(t) = T_{samp} |\langle H|P|E_{inc}\rangle|^2 = I_0 \times T_{samp} \times |a_{\perp}|^2 \quad (\text{II.1.12})$$

avec I_0 , la puissance optique incidente au niveau du milieu d'étude et T_{samp} , sa transmission isotrope.

Dans cette configuration, $I(t) = 0$ en l'absence d'anisotropie. Nous avons donc une configuration sur fond-noir. Lorsque le milieu d'étude présente une anisotropie A , un signal proportionnel à I_0 , T_{samp} et $|a_{\perp}|^2$ apparaît.

Cette configuration présente deux défauts majeurs. D'une part sa réponse est quadratique, ce qui est limitant pour la mesure de faibles anisotropies. En effet, lorsque la valeur de l'anisotropie a_{\perp} tend vers 0, la sensibilité $S_{a_{\perp}} = dI/da_{\perp} = 2 I_0 T_{samp} |a_{\perp}|$ tend également vers 0. D'autre part, elle est sensible aux fluctuations d'intensité de la source I_0 et de transmission isotrope du milieu d'étude T_{samp} . Ceci est particulièrement critique pour une application en microscopie.

Il convient donc de trouver une configuration qui présente une réponse linéaire et soit autoréférente, c'est-à-dire que le signal mesuré comporte une composante *référence* contenant l'information de I_0 et de T_{samp} afin de pouvoir normaliser la composante *mesure*, contenant la valeur de l'anisotropie, sans avoir à utiliser de référence externe, qui nécessiterait par exemple l'utilisation d'une seconde voie et d'un détecteur supplémentaire.

II.1.2.2 Configuration pour un faible angle de biais β

Lorsque la lame B_1 est orientée d'un faible angle de biais β , le champ incident au niveau du milieu d'étude devient avec l'approximation $\sin \beta \approx \beta$ et $\cos \beta \approx 1$:

$$|E_{inc}\rangle = E_0 \begin{bmatrix} 1 + \beta^2 e^{ja\Delta\phi} \\ \beta (e^{jb\Delta\phi} - e^{j(a+b)\Delta\phi}) \end{bmatrix} \quad (\text{II.1.13})$$

Sans anisotropie

En l'absence d'anisotropie, $a_{\perp} = \langle H|P|V\rangle = 0$ et $a_{\parallel} = \langle H|P|H\rangle = 1$. Ceci nous donne un signal :

$$I(t) = T_{samp} I_0 |\beta (e^{jb\Delta\phi} - e^{j(a+b)\Delta\phi})|^2 \quad (\text{II.1.14})$$

L'équation II.1.14 peut être vue comme l'interférence entre deux champs de phase respective $b\Delta\phi$ et $(a+b)\Delta\phi$. Le signal résultant de l'interférence donne un pic dans l'espace de Fourier, à la fréquence af_0 , dont l'amplitude est pilotée par β^2 et s'exprime :

$$F_a = -T_{samp} I_0 \beta^2 e^{ja\phi_0} \quad (\text{II.1.15})$$

Nous représentons le spectre cannelé résultant sur la figure II.1.6, en haut, à gauche et la valeur absolue de sa transformée de Fourier, en haut, à droite, qui présente un pic à la fréquence af_0 , d'amplitude F_a .

Avec une faible anisotropie

Lorsque le milieu d'étude présente une faible anisotropie, c'est à dire $a_{\parallel} \approx 1$ et $a_{\perp} \neq 0$, l'expression du signal devient :

$$I(t) = T_{samp} I_0 |a_{\perp} + \beta (e^{jb\Delta\phi} - e^{j(a+b)\Delta\phi})|^2 \quad (\text{II.1.16})$$

Nous représentons le spectre cannelé résultant sur la figure II.1.6, en bas, à gauche et la valeur absolue de sa transformée de Fourier, en bas, à droite.

Nous avons à présent dans l'espace de Fourier, en plus du pic F_a , plusieurs pics résultant de l'interaction de a_{\perp} avec les deux champs portés par $b\Delta\phi$ et $(a+b)\Delta\phi$, et l'équation

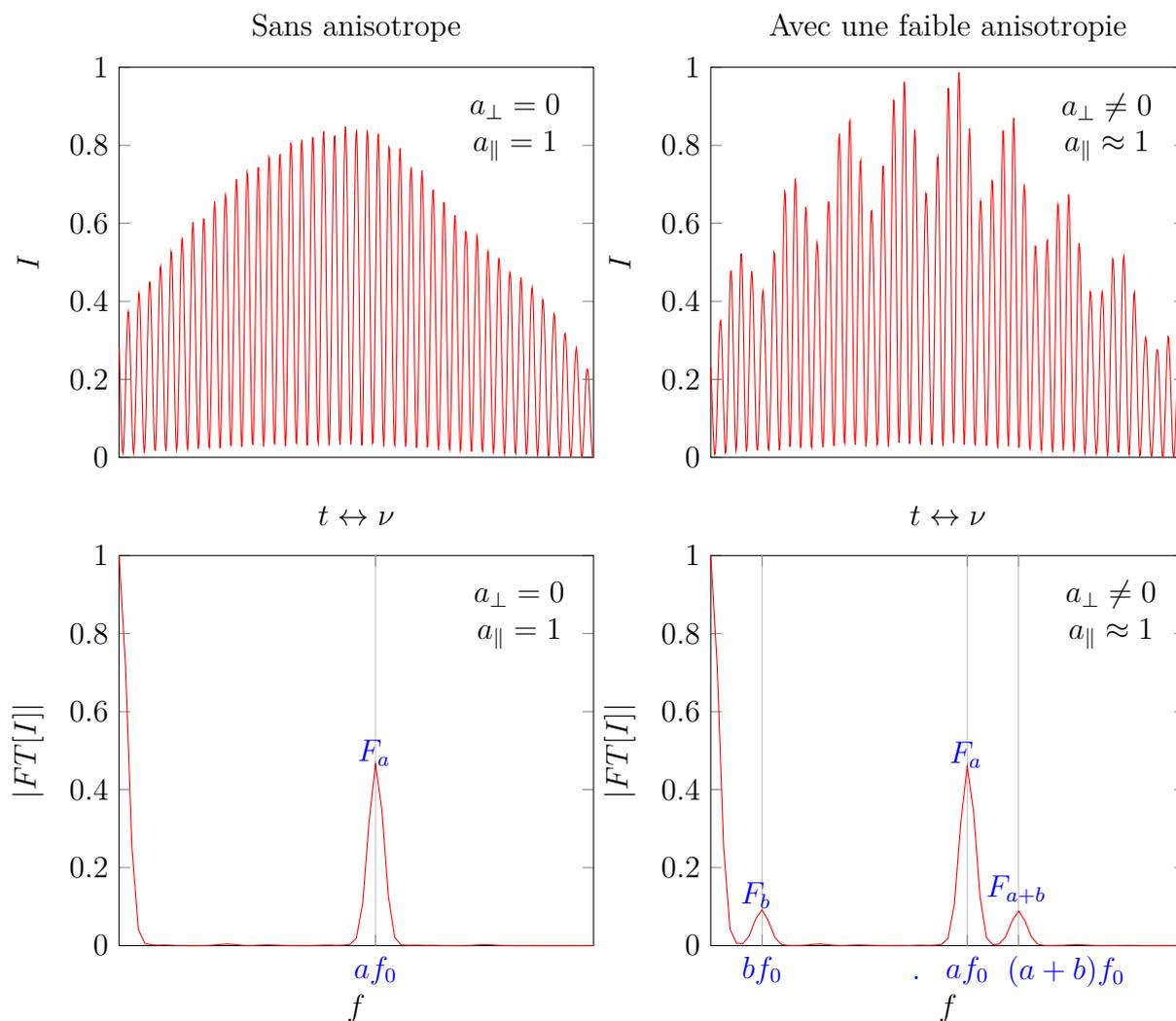


FIGURE II.1.6 – A gauche, en haut, spectre cannelé obtenu en l’absence d’anisotropie, pour un faible β ; en bas, valeur absolue de la transformée de Fourier associée. A droite, en haut, spectre cannelé obtenu en présence d’une anisotropie, pour un faible β ; en bas, valeur absolue de la transformée de Fourier associée.

II.1.16 peut alors se mettre sous la forme :

$$I(t) = I_{DC} + F_a e^{j2\pi a f_0 t} + F_b e^{j2\pi b f_0 t} + F_{a-b} e^{j2\pi(a-b)f_0 t} + F_{a+b} e^{j2\pi(a+b)f_0 t} + c.c. \quad (\text{II.1.17})$$

avec $c.c.$, le complexe conjugué et avec l'expression des pics, pour une faible anisotropie A et un faible β :

$$\begin{aligned} I_{DC} &= T_{samp} I_0 (|a_\perp|^2 + 2\beta^2) \\ F_a &= -T_{samp} I_0 \beta^2 e^{ja\phi_0} \\ F_b &= T_{samp} I_0 a_\perp^* \beta e^{jb\phi_0} \\ F_{a-b} &= T_{samp} I_0 a_\perp^* \beta^3 e^{j(a-b)\phi_0} \\ F_{a+b} &= -T_{samp} I_0 a_\perp^* \beta e^{j(a+b)\phi_0} \end{aligned} \quad (\text{II.1.18})$$

Ici dans le cas d'un faible β , le pic F_{a-b} est négligeable du fait de sa dépendance en β^3 .

L'équation II.1.17 peut se mettre sous la forme :

$$I(t) = \beta^2 I_0 U(t) + \beta I_0 |a_\perp| V(t) \quad (\text{II.1.19})$$

avec $U(t) = T_{samp}(2 - e^{ja\phi_0}) + c.c.$ et $V(t) = T_{samp} \frac{a_\perp^*}{|a_\perp|} (e^{jb\phi_0} - e^{j(a+b)\phi_0}) + c.c.$

Ceci permet de mettre en évidence deux termes : un terme indépendant de l'anisotropie du milieu et proportionnel à $\beta^2 I_0$ ainsi qu'un terme dépendant de l'anisotropie du milieu et proportionnel à $\beta I_0 |a_\perp|$.

Cette configuration est ainsi similaire aux dispositifs de mesure sur fond noir du pouvoir rotatoire basée sur un modulateur de Faraday [139-146] ou un modulateur électro-optique [147, 150, 197] et faisant osciller le champ incident de quelques degrés autour de la position croisée. La principale différence est que la fréquence de modulation f_0 est ici pilotée par la combinaison des lames de codage et du balayage en fréquence optique de la swept-source, ce qui permet de générer des fréquences de modulation très importantes ($\approx MHz$), comme nous le verrons par la suite.

Il est donc possible de travailler avec une puissance incidente I_0 au niveau du milieu d'étude beaucoup plus forte que l'intensité saturant le détecteur, de manière à amplifier le pic F_b ou F_{a+b} , tout en ajustant l'angle de biais β de manière à ne pas saturer le détecteur.

Nous utilisons le pic F_{a+b} comme pic *mesure*, que nous privilégions par précaution au pic F_b portant la même information mais étant potentiellement davantage affecté par la composante continue qui se trouve à proximité, et le pic F_a comme pic *référence*.

À l'instar de [142, 146, 147], nous pouvons faire le rapport du pic *mesure* sur le pic *référence*, afin de nous affranchir des fluctuations d'intensité de la source I_0 et de transmission isotrope du milieu d'étude T_{samp} .

Ce rapport complexe γ se définit comme :

$$\gamma = \frac{F_{a+b}}{F_a} e^{-j\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a]} \quad (\text{II.1.20})$$

avec $\text{Arg}[\]$, l'argument d'un nombre complexe.

Dans le cas d'une faible anisotropie cela revient à :

$$\gamma = \frac{T_{samp} I_0 \beta a_{\perp}^* e^{j(a+b)\phi_0}}{T_{samp} I_0 \beta^2 e^{ja\phi_0}} e^{-jb\phi_0} = \frac{a_{\perp}^*}{\beta} \quad (\text{II.1.21})$$

En mesurant les pics F_a et F_{a+b} dans l'espace de Fourier, puis en calculant le rapport γ , nous pouvons alors remonter à l'anisotropie A par la relation $a_{\perp}^* = \beta\gamma$, sans être affecté par les fluctuations d'intensité de la source I_0 et de transmission isotrope du milieu d'étude T_{samp} .

II.1.2.3 Généralisation

Après avoir traité le cas d'une faible anisotropie A et d'un faible angle β afin d'illustrer le fonctionnement du dispositif, nous allons décrire le cas général avec A et β quelconques.

En reprenant l'expression générale des pics F_{a+b} et F_a (équations II.2.2) :

$$F_a = -\frac{1}{4} T_{samp} I_0 (|a_{\parallel}|^2 - |a_{\perp}|^2) \sin^2(2\beta) e^{ja\phi_0}$$

$$F_{a+b} = -T_{samp} I_0 a_{\parallel} a_{\perp}^* \cos^3(\beta) \sin(\beta) e^{j(a+b)\phi_0}$$

le rapport complexe $\gamma = \frac{F_{a+b}}{F_a} e^{-j\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a]}$, s'écrit donc dans le cas général :

$$\gamma = \frac{a_{\parallel} a_{\perp}^*}{|a_{\parallel}|^2 - |a_{\perp}|^2} \frac{1}{\tan \beta} \quad (\text{II.1.22})$$

Nous pouvons donc quelles que soient les valeurs de l'anisotropie A et de l'angle de biais β , mesurer la valeur de l'anisotropie, indépendamment des fluctuations d'intensité

de la source I_0 et de transmission isotrope du milieu d'étude T_{samp} , à partir des pics F_a et F_{a+b} dans l'espace de Fourier et du calcul du rapport γ .

Nous expliciterons dans les prochains chapitres les termes a_{\parallel} et a_{\perp} pour des milieux présentant une anisotropie de phase, circulaire ou linéaire.

II.1.3 Modélisation du bruit

Afin d'estimer la résolution théorique de notre dispositif de mesure d'anisotropie optique, il convient de modéliser le bruit associé à la mesure en prenant en compte les bruits associés à la source, au détecteur et à la numérisation. Notre dispositif utilisant le même type de source, de détecteur et de carte d'acquisition que les techniques de SS-OCT (*Swept-Source Optical Coherence Tomography*), nous nous appuyons ici sur les études détaillées du bruit déjà réalisées pour ces techniques [208-210].

Le photocourant détecté par la photodiode peut s'écrire $i(t) = \rho I(t)$ avec ρ la sensibilité de la photodiode (A/W) et $I(t)$, la puissance optique au niveau du détecteur.

Le détecteur délivre un courant $i(t) = i_s(t) + i_n(t)$, avec i_s , le courant signal et i_n , le courant de bruit. Ceux-ci sont numérisés et échantillonnés sur un nombre fini de points N_S , correspondant à un temps d'acquisition du spectre cannelé T_{acq} et qui est inférieur à T_{rep} , la durée du balayage en fréquence optique de la swept-source.

Nous notons I_n la puissance de bruit associée à i_n . Sur une bande-passante de détection BP (que nous choisissons égale à la moitié de la fréquence d'échantillonnage, telle que définie par le théorème de Nyquist, soit : $BP = N_S/(2T_{acq})$), nous pouvons écrire l'écart-type de la puissance de bruit, de la manière suivante, pour une source monochromatique de puissance constante dans le temps :

$$\Delta I_n = \sqrt{NEP^2 BP + 2 \frac{q}{\rho} BP I_{RMS} + RIN BP I_{RMS}^2} \quad (\text{II.1.23})$$

avec ρ la sensibilité de la photodiode et $I_{RMS} = \sqrt{\langle I^2 \rangle}$, la racine carrée de la moyenne quadratique (*Root Mean Square*) de $I(t)$, la puissance optique au niveau du détecteur et où les trois termes de droite correspondent respectivement à : (1) la puissance équivalente de bruit (*Noise Equivalent Power, NEP*), comprenant entre autres le bruit thermique (*Johnson*) de la photodiode, ainsi que le bruit de grenaille associé au courant d'obscurité de la photodiode (2) le bruit de grenaille (*shot-noise*), qui dépend de la charge q et proportionnel à I_{RMS} (3) l'intensité relative de bruit (*Relative Intensity Noise, RIN*) et

proportionnelle à I_{RMS}^2 .

Nous négligeons le bruit de quantification de la carte d'acquisition car la quantification est réalisée sur un nombre suffisant de bits pour que le bruit associé soit bien plus faible que le bruit thermique, et le bruit de Flicker (en $1/f$), qui peut également être négligé à notre cadence de mesure $T_{acq} \ll 1 \text{ ms}$.

L'analyse du signal étant réalisée dans l'espace de Fourier, nous allons écrire également le bruit dans cet espace. La transformée de Fourier du courant numérisé $i(t_m)$, avec $t_m = m T_{acq}/N_s$, s'écrit :

$$\tilde{F}(f_l) = \sum_{m=0}^{N_s-1} i(t_m) e^{-j 2\pi l m/N_s} \quad (\text{II.1.24})$$

La réponse du détecteur dépend de la longueur d'onde. Or le signal est acquis par le détecteur au cours d'un balayage en fréquence optique, ce qui correspond à un balayage en longueur d'onde. La relation entre le photo-courant $i(t)$ et la puissance optique $I(t)$ peut alors ne pas être constante dans le temps. Toutefois pour simplifier, nous considérons $i(t)$ proportionnel à $I(t)$, tel que :

$$i(t) = \rho_{eff} I(t) \quad (\text{II.1.25})$$

avec ρ_{eff} , la sensibilité effective du détecteur sur la bande spectrale balayée par la swept-source.

En pratique le bruit est impacté par le fenêtrage des signaux utilisé pour la transformée de Fourier et les caractéristiques de la photodiode [211]. Aussi nous avons choisi de décrire le bruit par l'écart-type de la puissance effective de bruit $\Delta I_{n,eff}$:

$$\Delta I_{n,eff} = \sqrt{n_{receiver}^2 BP + 2 n_{shot} BP I_{RMS} + n_{excess} BP I_{RMS}^2} \quad (\text{II.1.26})$$

avec les coefficients $n_{receiver} (W/Hz^{1/2})$, $n_{shot} (W/Hz)$ et $n_{excess} (Hz^{-1})$, associés aux différentes origines du bruit, incluant les caractéristiques du détecteur.

La composante $n_{receiver}$ est indépendante de la puissance optique incidente. Cette composante correspond donc principalement au NEP (*Noise Equivalent Power*, puissance équivalente de bruit) de la photodiode.

La composante n_{shot} est associée à la racine carrée de I_{RMS} . Il s'agit du *shot noise* (bruit de grenaille), bruit quantique lié à la nature discrète des photons et électrons.

Enfin la composante n_{excess} est associée à I_{RMS} . Elle correspond à l'*excess noise* de la

photodiode ainsi qu'au RIN (*Relative Intensity Noise*, intensité relative du bruit), c'est-à-dire les fluctuations d'intensité, de la source. Nous faisons ici l'hypothèse que cette composante est négligeable, soit :

$$\Delta I_{n,eff} = \sqrt{n_{receiver}^2 BP + 2 n_{shot} BP I_{RMS}} \quad (\text{II.1.27})$$

Nous pouvons remonter aux amplitudes complexes F_a et F_{a+b} , en mesurant dans l'espace de Fourier les valeurs des pics \tilde{F}_a et \tilde{F}_{a+b} , aux fréquences af_0 et $(a+b)f_0$ respectivement, par les relations $\tilde{F}_a = N_s \rho_{eff} F_a$ et $\tilde{F}_{a+b} = N_s \rho_{eff} F_{a+b}$.

Il est alors possible d'écrire [209] que l'écart-type pour des pics non-corrélés dans l'espace de Fourier est égal à :

$$\Delta \tilde{F}_{n,eff} = \rho_{eff} \sqrt{N_s/2} \Delta I_{n,eff} \quad (\text{II.1.28})$$

A présent écrivons la résolution théorique du dispositif pour la mesure de a_\perp , pour un angle β faible et $a_\perp \ll \beta$. Ainsi le module du rapport des pics aux fréquences af_0 et $(a+b)f_0$, non-corrélés, nous donne $|\gamma| = |a_\perp|/\beta$. Nous pouvons écrire :

$$\left(\frac{\Delta |a_\perp|}{|a_\perp|}\right)^2 = \left(\frac{\Delta \tilde{F}_{n,eff}}{|\tilde{F}_{a+b}|}\right)^2 + \left(\frac{\Delta \tilde{F}_{n,eff}}{|\tilde{F}_a|}\right)^2 \quad (\text{II.1.29})$$

Nous négligeons le terme de droite car $\tilde{F}_a \gg \tilde{F}_{a+b}$, car nous avons supposé $a_\perp \ll \beta$. Aussi nous pouvons écrire d'après les équations II.1.18 : $|\tilde{F}_{a+b}| = N_s \rho_{eff} |F_{a+b}| = N_s \rho_{eff} T_{samp} I_0 \beta |a_\perp|$ et $I_{RMS} \approx \sqrt{I_{DC}^2 + 2|F_a|^2} = \sqrt{6} T_{samp} I_0 \beta^2$. Ce qui conduit à :

$$\Delta |a_\perp|^2 = \frac{n_{receiver}^2 + 2 \sqrt{6} n_{shot} T_{samp} I_0 \beta^2}{4 T_{acq} T_{samp}^2 I_0^2 \beta^2} \quad (\text{II.1.30})$$

La résolution Δa_\perp est optimale quand β est choisi de manière à saturer le détecteur, c'est-à-dire lorsque toute la dynamique du détecteur est exploitée, et nous notons alors $\beta = \beta_{sat}$. La valeur maximum du spectre cannelé $I_{max} = I_{DC} + 2|F_a|^2$ est alors égale à I_{sat} , la puissance optique saturant le détecteur, telle que $I_{max} = I_{sat} = T_{samp} I_0 (2\beta_{sat})^2$. L'équation II.1.30 peut alors être réécrite :

$$\Delta |a_\perp|^2 = \frac{n_{receiver}^2 + \sqrt{3/2} n_{shot} I_{sat}}{T_{acq} T_{samp} I_0 I_{sat}} \quad (\text{II.1.31})$$

Il apparaît qu'en augmentant I_0 , nous pouvons améliorer la résolution.

Nous pouvons également augmenter I_{sat} , c'est-à-dire travailler avec un détecteur pos-

sédant une plus grande dynamique, mais cela peut se traduire par un $n_{receiver}^2$ plus grand. Il faut alors veiller à ce que le rapport $n_{receiver}^2/I_{sat}$ diminue.

Enfin, il est également possible d'améliorer la résolution en moyennant de nombreuses mesures. Il convient alors de définir la résolution $\Delta|a_{\perp}|$ pour la durée d'une mesure :

$$\Delta|a_{\perp}/\sqrt{Hz}| = \sqrt{\frac{n_{receiver}^2 + \sqrt{3/2} n_{shot} I_{sat}}{(T_{acq}/T_{rep}) T_{samp} I_0 I_{sat}}} \quad (\text{II.1.32})$$

avec T_{rep} , la durée du balayage de la swept-source, c'est-à-dire le temps nécessaire pour réaliser une mesure.

Conclusion

Nous avons établi dans le présent chapitre le modèle théorique général des dispositifs de mesure sur fond noir d'anisotropie optique par codage spectral de la polarisation.

Dans les chapitres suivants nous allons d'abord décliner le dispositif dans une version dédiée à la mesure du pouvoir rotatoire (retardance circulaire), qui sera notamment utilisée pour valider le modèle du bruit. Puis nous développerons une version dédiée à la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth, qui sera intégrée dans un microscope à balayage laser dans la troisième partie de ce manuscrit.

Les termes a_{\parallel} et a_{\perp} de l'anisotropie A seront alors explicités pour chacune de ces configurations.

DISPOSITIF DE MESURE SUR FOND NOIR DU POUVOIR ROTATOIRE PAR CODAGE SPECTRAL DE LA POLARISATION

Dans le premier chapitre de cette partie, nous avons posé le modèle théorique d'un dispositif de mesure sur fond noir d'anisotropie optique par codage spectral de la polarisation.

Dans ce chapitre, nous allons présenter son implémentation expérimentale pour la mesure du pouvoir rotatoire (retardance circulaire). En effet, nous avons choisi de développer cette configuration en premier car celle-ci est plus simple à mettre en œuvre que la configuration dédiée à la mesure de la retardance linéaire et de son azimut, puisqu'il n'y a ici qu'une seule information polarimétrique à mesurer.

Le pouvoir rotatoire provient du déphasage entre les deux états de polarisation propres circulaires d'un milieu. Cela se traduit par exemple par la rotation d'un état de polarisation linéaire. Ceci est notamment provoqué par les milieux présentant une chiralité, soit au niveau cristallin, soit au niveau moléculaire.

Historiquement, la première application de la mesure du pouvoir rotatoire a été l'évaluation de la concentration en saccharose dans des solutions via la loi de Biot pour l'industrie sucrière (saccharimétrie) [212]. Aujourd'hui, un des grands enjeux de la mesure du pouvoir rotatoire est la séparation des énantiomères dans l'industrie pharmaceutique, à la suite des travaux de L. Pasteur [3]. En effet, les deux énantiomères d'une molécule chirale peuvent avoir des propriétés biomédicales radicalement différentes. Enfin le potentiel de la mesure du pouvoir rotatoire pour le contrôle non-invasif de la glycémie des personnes diabétiques suscite de nombreuses recherches [213-215].

Ici, le développement de la configuration permettant la mesure du pouvoir rotatoire va nous servir à valider le principe de la mesure sur fond noir d'anisotropie optique par codage spectral de la polarisation ainsi que le modèle du bruit proposé dans le chapitre

précédent.

II.2.1 Présentation de la configuration de mesure du pouvoir rotatoire

Nous présentons ici la configuration dédiée à la mesure d'une anisotropie circulaire de phase, c'est-à-dire la retardance circulaire, notée CR , ou le pouvoir rotatoire, noté θ , les deux étant reliés par la relation $\theta = CR/2$, telle que présentée sur la figure II.2.1. Ici l'anisotropie optique A du milieu d'étude correspond à la matrice de Jones de cette anisotropie circulaire de phase.

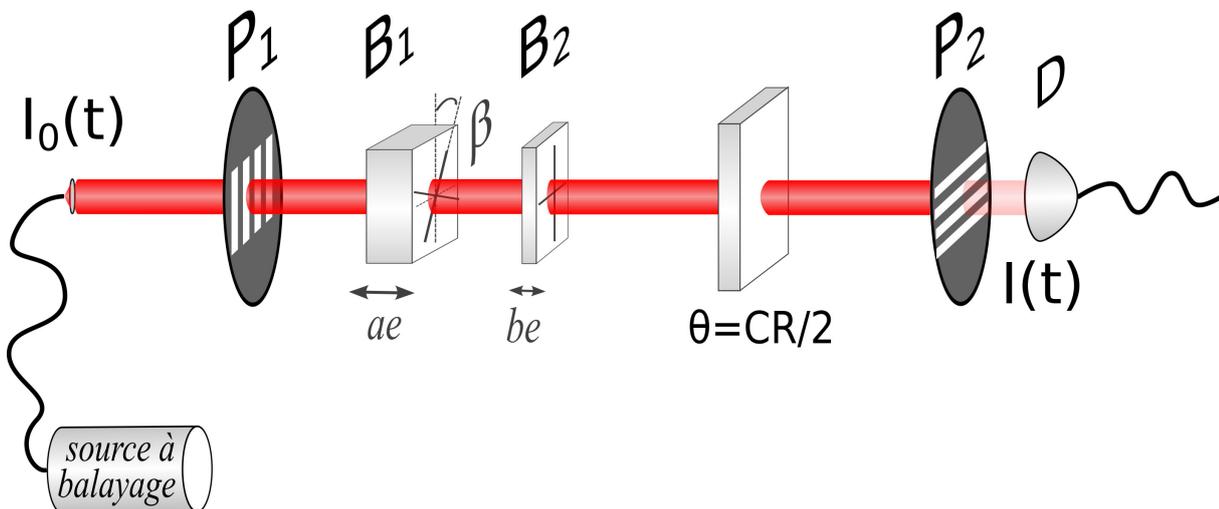


FIGURE II.2.1 – Dispositif de mesure sur fond noir du pouvoir rotatoire par codage spectral de la polarisation, avec une source à balayage en fréquence optique, deux lames de phase, la lame B_1 d'épaisseur ae , orientée d'un angle β par rapport à l'axe vertical et la lame B_2 d'épaisseur be , aligné à l'axe vertical, deux polariseurs croisés P_1 et P_2 ainsi qu'un détecteur D .

Afin de sonder un milieu présentant une anisotropie circulaire, il est nécessaire de générer des états de polarisation proches d'un état de polarisation linéaire, orthogonal à l'état de polarisation linéaire de l'analyseur. Ici, les états de polarisation en sortie des lames de codage, au niveau du milieu d'étude, représentés pour $a = 5$, $b = 1$ (configuration expérimentale) et $\beta = 3^\circ$ sur la sphère de Poincaré figure II.2.2, forment une rosace centrée sur l'état de polarisation linéaire vertical, orthogonal à l'état de polarisation linéaire

horizontal de l'analyseur.

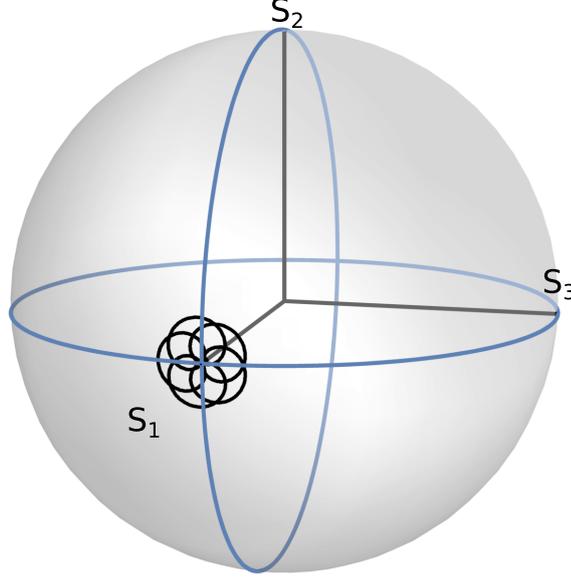


FIGURE II.2.2 – Représentation sur la sphère de Poincaré des états de polarisation pour le dispositif de mesure du pouvoir rotatoire, pour $a = 5$ et $b = 1$, avec $\beta = 3^\circ$, au niveau du milieu d'étude

Dans le cas d'un milieu d'étude présentant un pouvoir rotatoire θ , la matrice de Jones $[A]$, définie dans le chapitre précédent, s'écrit dans le repère formé par les vecteurs propres $|H\rangle$ et $|V\rangle$ des polariseurs P_1 et P_2 :

$$[A] = \begin{bmatrix} \cos(CR/2) & \sin(CR/2) \\ -\sin(CR/2) & \cos(CR/2) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos(\theta) & \sin(\theta) \\ -\sin(\theta) & \cos(\theta) \end{bmatrix} \quad (\text{II.2.1})$$

Ceci nous donne $a_\perp = \langle H|A|V\rangle = \sin(\theta)$ et $a_\parallel = \langle H|A|H\rangle = \cos(\theta)$. D'après les équations II.2.2, l'expression des pics F_{a+b} et F_a est dans ce cas :

$$\begin{aligned} F_a &= -T_{\text{samp}} I_0 \cos 2\theta \cos^2(\beta) \sin^2(\beta) e^{ja\phi_0} \\ F_{a+b} &= -\frac{1}{2} T_{\text{samp}} I_0 \sin 2\theta \cos^3(\beta) \sin(\beta) e^{j(a+b)\phi_0} \end{aligned} \quad (\text{II.2.2})$$

D'après la définition $\gamma = \frac{F_{a+b}}{F_a} e^{-j\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a]}$, il vient alors :

$$\begin{aligned}\gamma &= \frac{-\frac{1}{2} T_{samp} I_0 \sin 2\theta \cos(\beta)^3 \sin(\beta) e^{j(a+b)\phi_0}}{-T_{samp} I_0 \cos 2\theta \cos(\beta)^2 \sin(\beta)^2 e^{ja\phi_0}} e^{-jb\phi_0} \\ \gamma &= \frac{\tan 2\theta}{2 \tan \beta}\end{aligned}\quad (\text{II.2.3})$$

Nous pouvons ainsi déterminer le pouvoir rotatoire à partir de la mesure des pics F_{a+b} et F_b dans l'espace de Fourier et du calcul du rapport complexe γ par la relation :

$$\theta = CR/2 = \frac{1}{2} \arctan(2 \gamma \tan \beta) \quad (\text{II.2.4})$$

Lorsque θ et β sont petits, cette relation peut être approximée par :

$$\theta = \gamma \beta \quad (\text{II.2.5})$$

soit une relation linéaire entre le signal mesuré (le rapport γ) et la valeur de l'anisotropie θ .

II.2.2 Mise en œuvre expérimentale

La photographie II.2.3 illustre la mise en œuvre expérimentale du dispositif de mesure du pouvoir rotatoire sur table optique.

Le montage comporte une source à balayage en fréquence optique Axsun Tech Inc. SSOCT-1060, de largeur de spectre de 110 nm , centré autour de $\lambda = 1060 \text{ nm}$, à une cadence de 100 kHz , avec sa fibre et son collimateur, deux polariseurs Glan-Taylor croisés P_1 et P_2 , de taux d'extinction nominal $\tau_{ext} = 1/\epsilon^2 = 1 : 10^5$, deux lames de codage B_1 et B_2 , en YVO_4 , d'épaisseurs $5e = 2 \text{ mm}$ et $1e = 0.4 \text{ mm}$, orientées respectivement à β et à 0° par rapport à l'axe du polariseur P_1 , et une photodiode à avalanche Hamamatsu APD Module C12703SPL.

La lame B_1 est montée sur une platine motorisée Newport SR50PP (incrément minimal : 0.004° , précision : $\pm 0.02^\circ$, répétabilité uni-directionnelle : $\pm 0.0035^\circ$, répétabilité bi-directionnelle : $\pm 0.016^\circ$) afin de pouvoir ajuster précisément l'angle de biais β . Le second polariseur P_2 est également monté sur une platine motorisée Newport URS100PP (incrément minimal : 0.0002° , précision : $\pm 0.008^\circ$, répétabilité uni-directionnelle : $\pm 0.00035^\circ$, répétabilité bi-directionnelle : $\pm 0.0044^\circ$), ceci afin de pouvoir simuler un pouvoir rotatoire

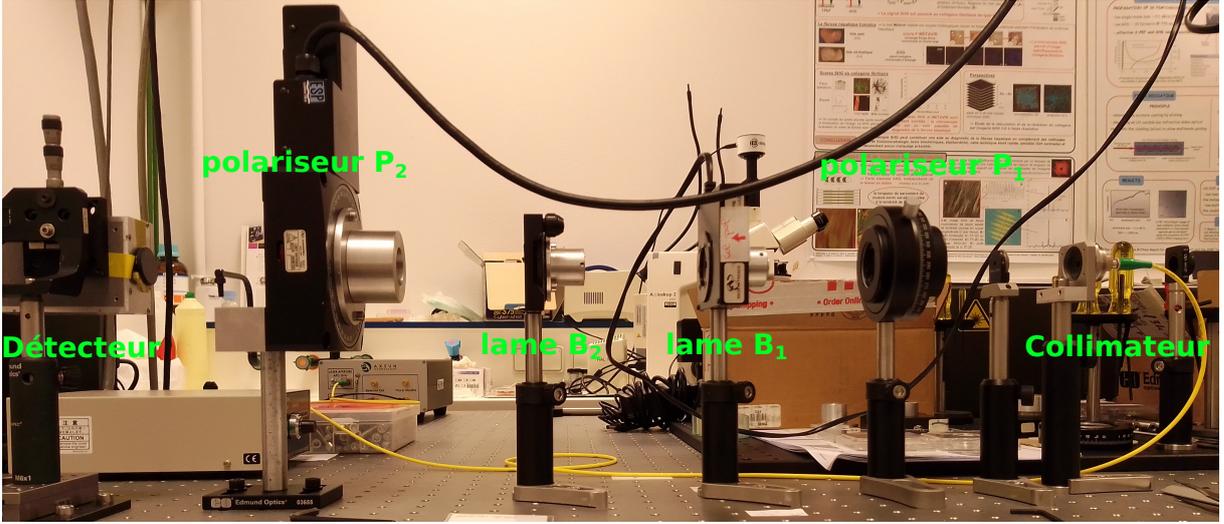


FIGURE II.2.3 – Mise en œuvre expérimentale du dispositif de mesure des anisotropies optiques circulaires

θ . En effet, la rotation du polariseur P_2 est équivalente en terme de signal à la présence d'un milieu d'étude comportant un pouvoir rotatoire. Nous aurons là un moyen simple de tester la réponse de notre dispositif [216].

II.2.2.1 Source à balayage en fréquence optique

Afin de réaliser le balayage des états de polarisations générés par les lames de codage, nous utilisons une source balayage en fréquence optique dite *swept-source* (SS), notamment utilisée pour des applications en tomographie optique cohérente (OCT) [217, 218] de chez Axsun Tech. Inc, modèle SSOCT-1060.

Ce type de source repose sur un système interférentiel Fabry-Perot [219] placé dans la cavité laser et permettant de balayer un spectre en longueur d'onde, tel que représenté sur la figure II.2.4.

Seules les longueurs d'onde respectant la relation II.2.6 sont transmises par la cavité Fabry-Perot.

$$\lambda_k = \frac{2L}{k} \quad (\text{II.2.6})$$

avec L , la distance entre les deux miroirs du Fabry-Perot et k , l'ordre d'interférence (k est un entier)

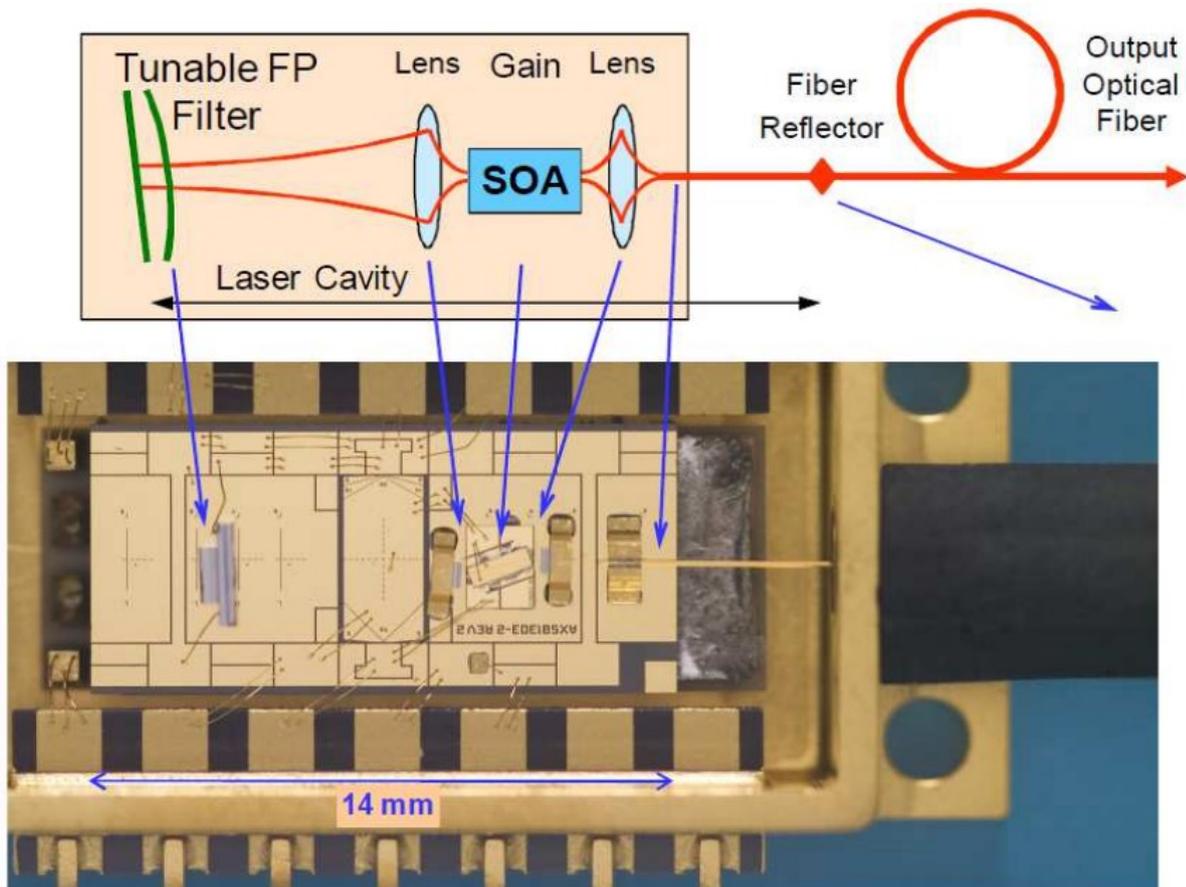


FIGURE II.2.4 – Schéma et photographie de la source à balayage de fréquence optique comportant notamment le système interférentiel Fabry-Perot (*Tunable FP Filter*) et un milieu amplificateur (*Semiconductor Optical Amplifier*).

Ainsi en faisant varier la distance entre les deux miroirs de la cavité Fabry-Pérot, les longueurs d'onde transmises vont pouvoir être sélectionnées. Pour chacune de ces distances, les modes de la cavité laser correspondant à la bande spectrale sélectionnée par le Fabry-Perot vont être ré-amplifiés par le milieu amplificateur formant ainsi une raie laser intense de 55 pm de large (soit une longueur de cohérence de $13,5\text{ mm}$ à -6 dB). Ainsi, à chaque nouvelle distance entre les miroirs de la cavité du Fabry-Perot, une raie laser unique à une nouvelle longueur d'onde est obtenue (voir figure II.2.5).

Le principal avantage de la swept-source est de pouvoir bénéficier de toute la puissance optique à chaque longueur d'onde d'une large bande spectrale (voir figure II.2.6, en haut) et de pouvoir réaliser un balayage en fréquence optique à une cadence très élevée ($> \text{kHz}$). Une telle source, associée à un détecteur monocanal permet ainsi de rendre compatible le principe du codage spectral de la polarisation avec une configuration de microscopie à balayage laser en transmission.

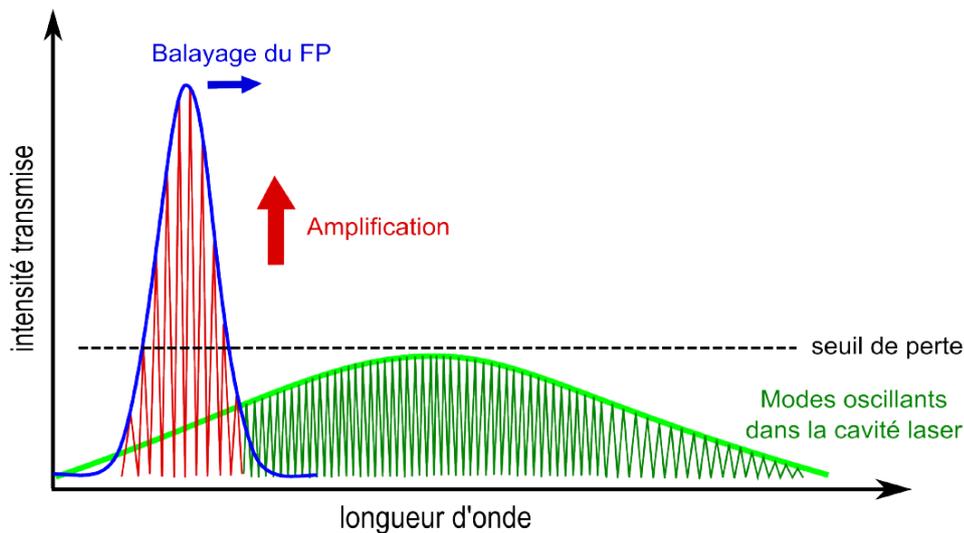


FIGURE II.2.5 – Balayage d'une raie laser en longueur d'onde [30]

La swept-source utilisée balaye un spectre d'une largeur de 110 nm , centré autour de $\lambda = 1060\text{ nm}$ à une cadence de 100 kHz , avec un balayage du spectre en environ $5\text{ }\mu\text{s}$ [220]. Sa puissance optique est d'environ 18 mW . Cette source est fibrée et est injectée dans une fibre optique monomode SMJ-3A3A-1060-6/125-3-2 avec deux connecteurs FC/APC (longueur : 2 m , diamètre de cœur : $6\text{ }\mu\text{m}$ et diamètre de gaine $125\text{ }\mu\text{m}$). En sortie de celle-ci est couplé un système de collimation ajustable (Thorlabs PAFA-X-4-C) produisant un faisceau d'environ 1 mm de diamètre.

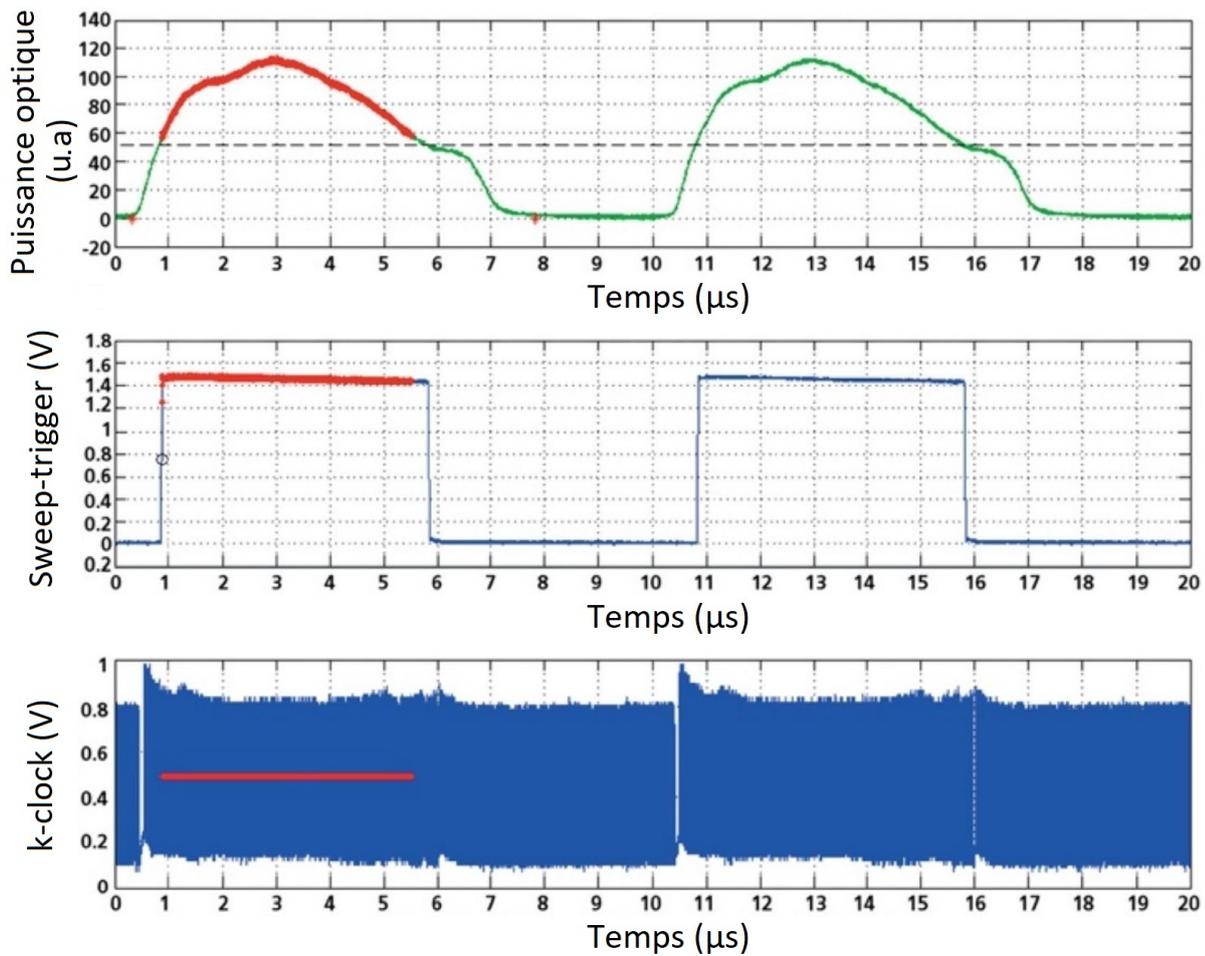


FIGURE II.2.6 – En haut, Puissance optique (mW); au milieu, signal *sweep-trigger* (V); et en bas, signal *k-clock* (V), représentés au cours du balayage, en fonction du temps (μs) [221].

Un signal appelé *sweep-trigger* est émis par la swept-source tous les $10\ \mu\text{s}$ marquant le début du balayage en longueur d'onde, tel que représenté sur figure II.2.6.

Par ailleurs, du fait des accélérations et de décélérations des miroirs de la cavité Fabry-Pérot, le balayage en fréquence optique n'est pas linéaire en fonction du temps. Cette non-linéarité dégrade fortement les pics du signal mesuré sur la photodiode dans l'espace de Fourier, telle qu'illustrée par la figure II.2.7.

Pour connaître l'évolution de la fréquence optique en fonction du temps, une partie de la source lumineuse passe par un interféromètre de Mach-Zender dont la différence de chemin optique ΔL est non-nulle. L'intensité lumineuse est alors mesurée au cours du balayage et est maximale à chaque fois que la fréquence optique est un multiple de $c/\Delta L$. Ce signal, transformé en TTL, est appelé *k-clock* et est représenté sur la figure II.2.6, en bas. Il va permettre d'échantillonner le signal mesuré par la photodiode de manière équidistante en fréquence optique (utilisation courante en imagerie OCT) [222], et ainsi d'améliorer grandement la qualité de la transformée de Fourier de ce signal (voir figure II.2.7, à droite), sans avoir à effectuer un ré-échantillonnage numérique.

II.2.2.2 Lames de codage

Pour réaliser le codage spectral, nous utilisons une combinaison de lames biréfringentes épaisses, que nous désignons lames de codage.

Les deux paramètres essentiels pour la réalisation des lames de codage sont le matériau (notamment sa biréfringence) et l'épaisseur.

Choix du matériau

Pour les dispositifs développés dans ce manuscrit, le matériau retenu pour les lames de codage est le vanadate d'yttrium YVO_4 pour sa biréfringence [223] plus élevée que celles d'autres matériaux couramment utilisés (calcite $CaCO_3$ [224], fluorure de magnésium MgF_2 [225], quartz SiO_2 [224], voir tableau II.2.1), permettant ainsi d'utiliser des lames plus fines. Par ailleurs la dureté (en échelle de Mohs) du vanadate d'yttrium est supérieure à celle de la calcite, ce qui facilite la coupe. Les différentes caractéristiques de ces matériaux sont présentées dans le tableau II.2.1.

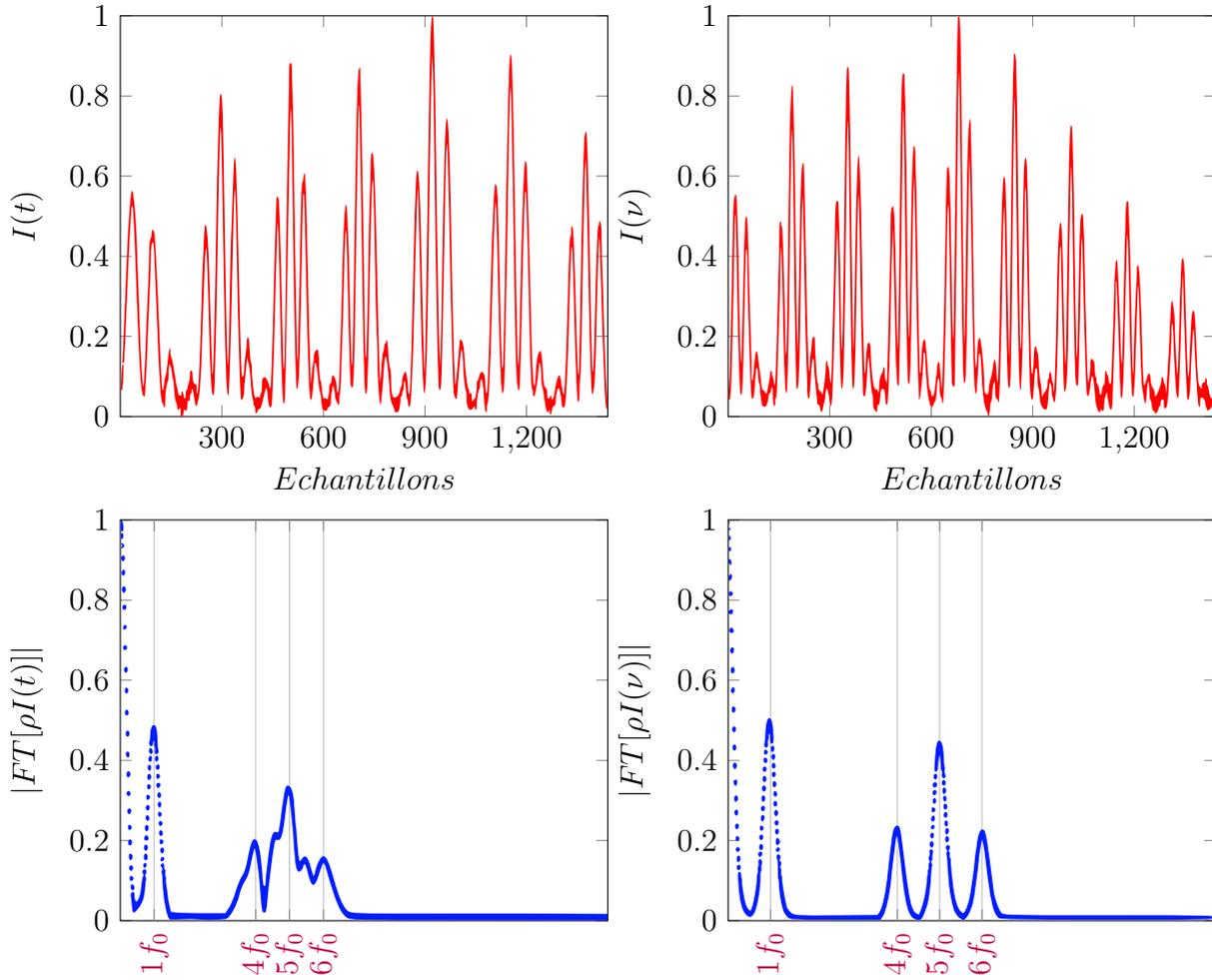


FIGURE II.2.7 – Spectres cannelés et leurs transformées de Fourier acquis : à gauche, sans k-clock ; à droite, avec k-clock [30]

Matériau	n_e	n_o	Δn	Dureté
$CaCO_3$	1.4797	1.6425	-0.1628	3
MgF_2	1.3848	1.3732	0.0116	6
SiO_2	1.5429	1.5342	0.0087	7
YVO_4	2.1661	1.9579	0.2082	5

TABLE II.2.1 – Caractéristiques de biréfringence, à la longueur d'onde centrale du spectre de la source à balayage ($\lambda_0 = 1060 \text{ nm}$), et de dureté des matériaux typiquement utilisés pour les lames de retard.

Choix de l'épaisseur

Les dispositifs développés dans ce manuscrit comportent deux lames pour le codage spectral d'épaisseur $5e$ et $1e$ (soit $a = 5$ et $b = 1$). Ces lames produisent notamment deux pics aux fréquences $5f_0$ et $6f_0$ qui seront utilisés pour réaliser notre mesure.

Les épaisseurs de ces lames doivent être suffisantes pour permettre la séparation des différents pics dans l'espace de Fourier, issus du calcul de la transformée de Fourier du signal $\rho I(t)$ délivré par le détecteur. D'autre part, il faut veiller à ce que les fréquences générées ne soient pas trop élevées pour éviter le problème du sous-échantillonnage (non-respect du critère de Nyquist) et le problème du *drop-off* (que nous noterons ϖ), c'est à dire l'atténuation des pics à haute fréquence, lié à la longueur de cohérence de la source ($13,5\text{mm}$), qui elle-même correspond à la largeur spectrale finie de la raie associée à chaque longueur d'onde du balayage (55pm).

Les épaisseurs des lames de codage (en YVO_4) sont de $5e = 2,0\text{mm} \pm 0.01\text{mm}$ et $1e = 0,4\text{mm} \pm 0.01\text{mm}$, soient des fréquences générées de $5f_0 \approx 9\text{MHz}$ et $6f_0 \approx 10.8\text{MHz}$, qui répondent bien aux critères énoncés ci-dessus.

La taille réduite ($\Phi = 0.5''$) de ces lames permet par ailleurs une intégration aisée au sein de montures dédiées réalisées au sein du laboratoire (voir figure II.2.8).

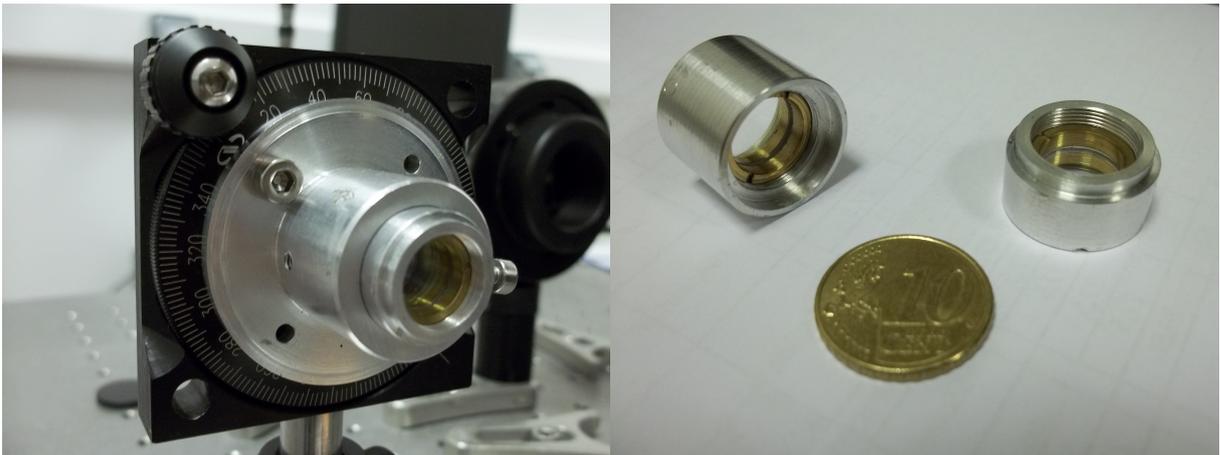


FIGURE II.2.8 – Lames de codage dans leurs montures dédiées, avec une pièce de 10 centimes d'euro pour l'échelle.

II.2.2.3 Acquisition et numérisation du signal

Détecteur

Le signal $I(t)$ est détecté par une photodiode à avalanche APD module C12703SPL de chez Hamamatsu, dont les caractéristiques essentielles sont indiquées dans le tableau II.2.2.

Paramètres	Valeurs	Unités
Surface active	ϕ 3	mm
Plage spectrale	600 à 1150	nm
NEP (à 1000 nm)	1	pW/\sqrt{Hz}
Sensibilité	175	kV/W
Puissance maximale	8.8	μW

TABLE II.2.2 – Caractéristiques de la photodiode à avalanche Hamamatsu APD module C12703SPL

Carte d’acquisition

Le signal est ensuite numérisé par une carte d’acquisition (DAQ) ATS9350 digitizer de chez AlazarTech. Cette carte a une bande passante $BP = 250 MHz$, une cadence d’échantillonnage maximale de 500 $éch./s$ et une résolution de 12 $bits$.

Le déclenchement d’une acquisition, dont la durée est de $T_{acq} = 4.8 \mu s$, est synchronisé sur le balayage de la swept-source par le signal *sweep-trigger*, injecté sur l’entrée *TRIG IN* de la carte, et l’échantillonnage (1440 points par acquisition) est piloté par le signal *k-clock*, injecté sur l’entrée *EXT CLOCK*. La fréquence d’échantillonnage varie au cours d’un balayage de la swept-source de 200 à 300 MHz .

Fenêtrage

Les dispositifs développés dans ce manuscrit se basant sur la mesure d’amplitudes complexes de pics dans l’espace de Fourier, il convient de s’assurer que ces pics y soient correctement résolus. Pour cela, il faut que le signal comporte un nombre entier de périodes dans la fenêtre d’analyse. Ainsi nous utilisons une fenêtre d’une largeur de 1328 points, soit 8 périodes entières pour la modulation à la fréquence f_0 .

Or le spectre numérisé est tronqué de manière abrupte (fenêtre rectangulaire), ce qui correspond dans l’espace de Fourier à une convolution par un sinus cardinal.

Pour éviter que les lobes secondaires du sinus cardinal viennent polluer les pics adjacents, nous appliquons au spectre numérisé une fenêtre de Blackmann-Harris [30, 226], avant d'effectuer la transformée de Fourier. Ceci assure une bonne résolution des pics dans l'espace de Fourier (voir figure II.3.21).

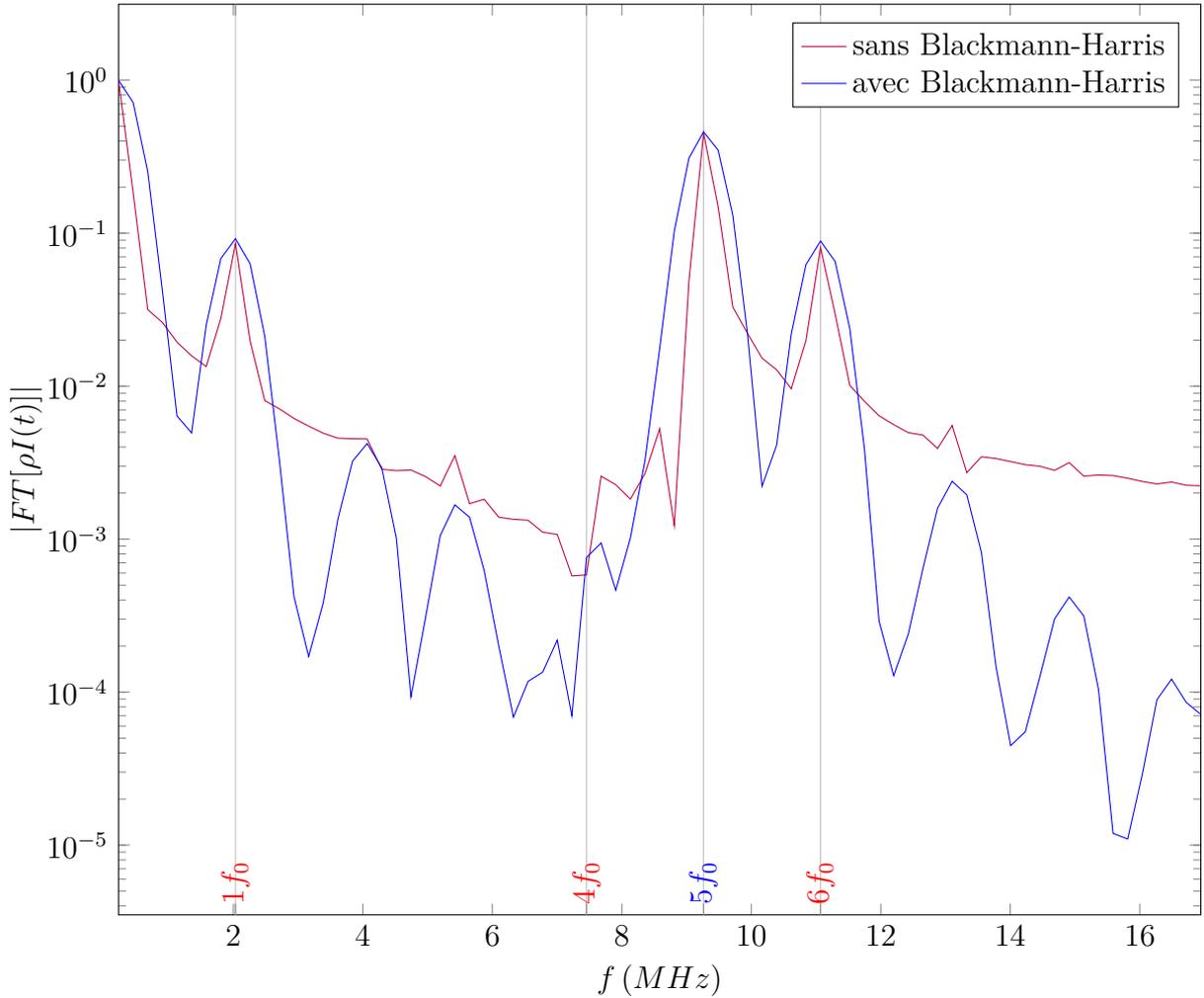


FIGURE II.2.9 – Valeur absolue de la transformée de Fourier d'un spectre cannelé, sans et avec fenêtre de Blackmann-Harris (acquisition réalisée avec notre dispositif de mesure du pouvoir rotatoire, pour $\theta = 0.07^\circ$)

Par ailleurs, lorsque nous calculons le rapport $\gamma = \frac{F_{a+b}}{F_a} e^{-j\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a]}$, le terme $e^{-j\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a]}$ sert à éliminer l'influence de la phase-fenêtre ϕ_0 , puisque $-\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a] = -b\phi_0$ et $\text{Arg}[F_{a+b}/F_a] = b\phi_0$.

Pour ne pas avoir de problèmes de changement de cadran, il faut veiller à ce que la valeur de ϕ_0 reste comprise dans l'intervalle $\pm\pi/a$ car $\text{Arg}[-F_a] = a\phi_0$. La position de la

fenêtre d'analyse est alors ajustée afin de minimiser ϕ_0 .

II.2.3 Validation expérimentale de la mesure du pouvoir rotatoire

II.2.3.1 Démonstration de la linéarité de la mesure du pouvoir rotatoire

Pour vérifier que la relation II.2.5 reliant le rapport γ et le pouvoir rotatoire θ est bien linéaire pour les faibles pouvoirs rotatoires, soit $\theta = \gamma\beta$, nous avons réalisé trois séries de mesures.

L'angle de rotation de l'analyseur P_2 est équivalent en terme de signal à la présence d'un milieu d'étude comportant un pouvoir rotatoire et nous allons donc utiliser ceci pour valider le principe de notre mesure [216]. L'analyseur étant placé sur une platine motorisée, nous l'avons orienté à différents angles successifs θ_{moteur} par pas $\delta\theta_{moteur}$ de 0.1° , de 0.01° puis de 0.001° respectivement, sans milieu d'étude, tel que représenté sur la figure II.2.10.

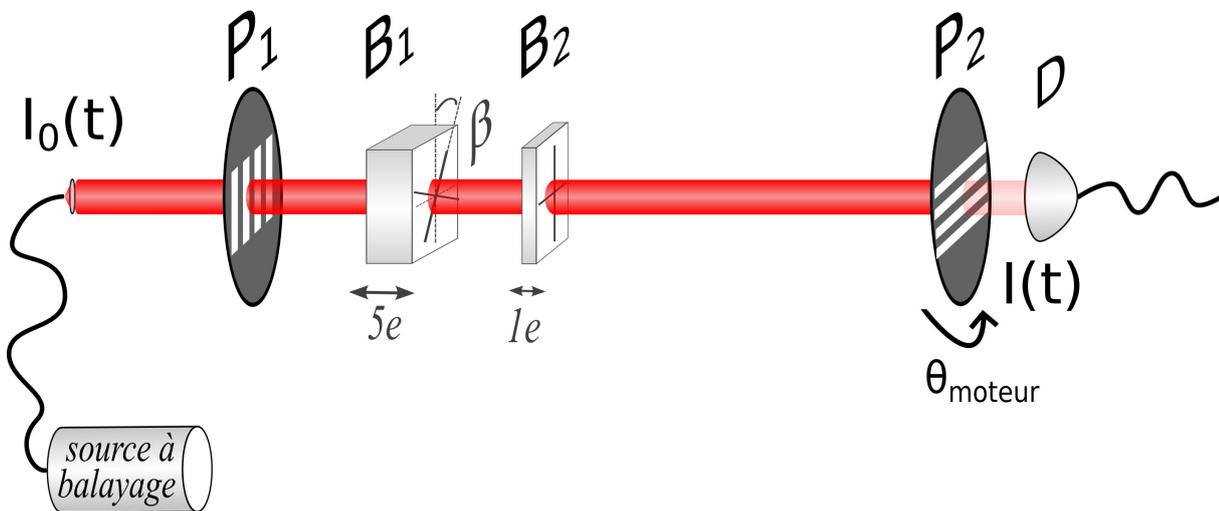


FIGURE II.2.10 – Expérience de validation du dispositif de mesure du pouvoir rotatoire avec l'analyseur P_2 placé sur une platine de rotation motorisée

Nous avons pris soin de faire tourner notre platine motorisée dans un seul sens pendant une même série de mesures car sa répétabilité unidirectionnelle est meilleure que

sa répétabilité bidirectionnelle. L'angle β est quant à lui fixé à 0.5° , proche de saturer le détecteur avec toute la puissance incidente de la swept-source.

La figure II.2.11 représente la moyenne de 1000 spectres pour différents θ_{moteur} , que nous notons $\bar{I}(t)$.

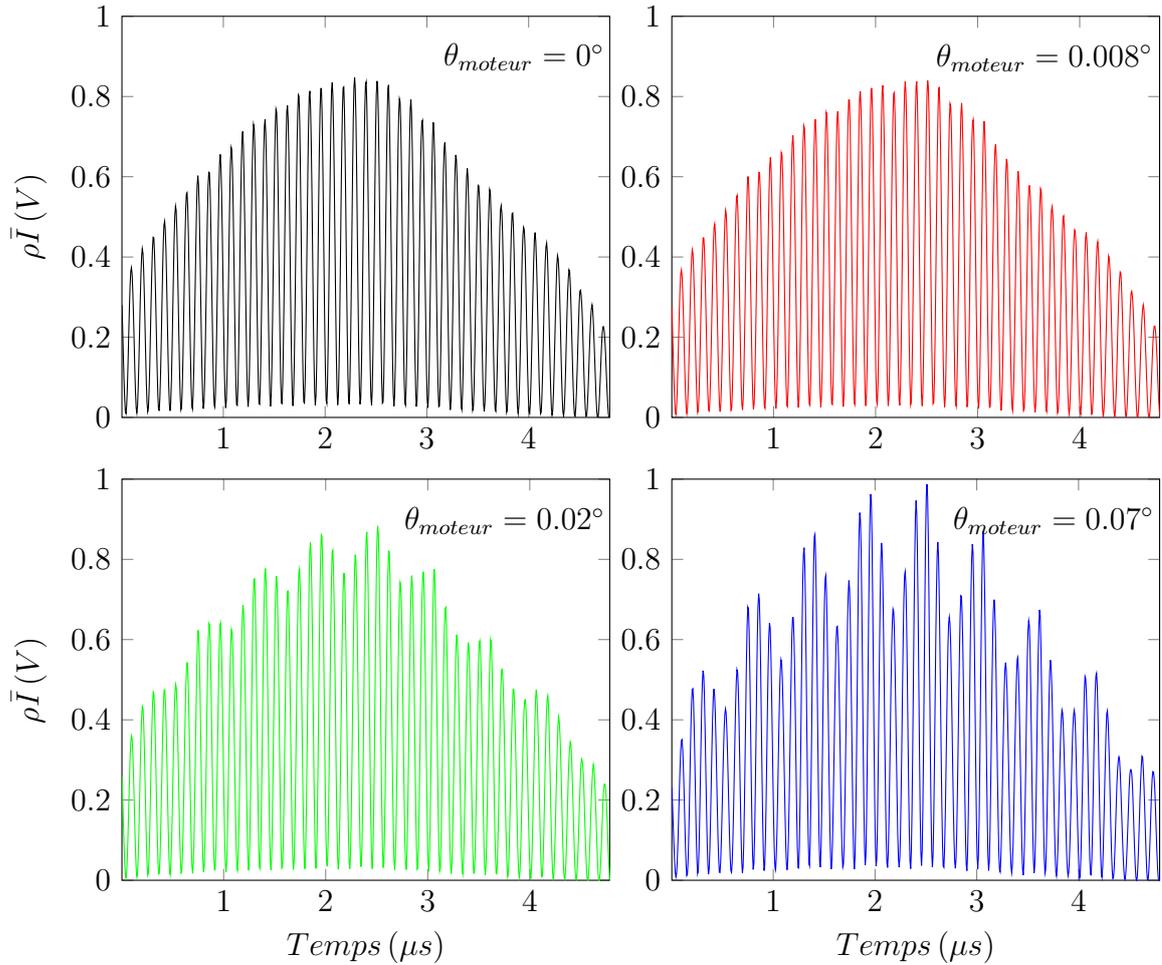


FIGURE II.2.11 – Spectres cannelés acquis (moyenne sur 1000 acquisitions) pour $\theta_{moteur} = 0^\circ, 0.008^\circ, 0.02^\circ$ et 0.07° , avec $\beta = 0.5^\circ$

Les transformées de Fourier associées sont tracées dans la figure II.2.12. Comme attendu le pic à la fréquence $6f_0$ augmente à mesure que l'analyseur P_2 tourne. Néanmoins, lorsque l'analyseur est à l'horizontale ($\theta_{moteur} = 0^\circ$), le pic à $6f_0$ n'est pas nul. Nous avons alors réalisé une acquisition sans lames de codage (avec $\theta_{moteur} = 0.5^\circ$) et constaté la présence d'un pic proche de $6f_0$ qui pourrait provenir du spectre de la swept-source.

Afin de confirmer la linéarité de la mesure du pouvoir rotatoire, nous avons calculé le

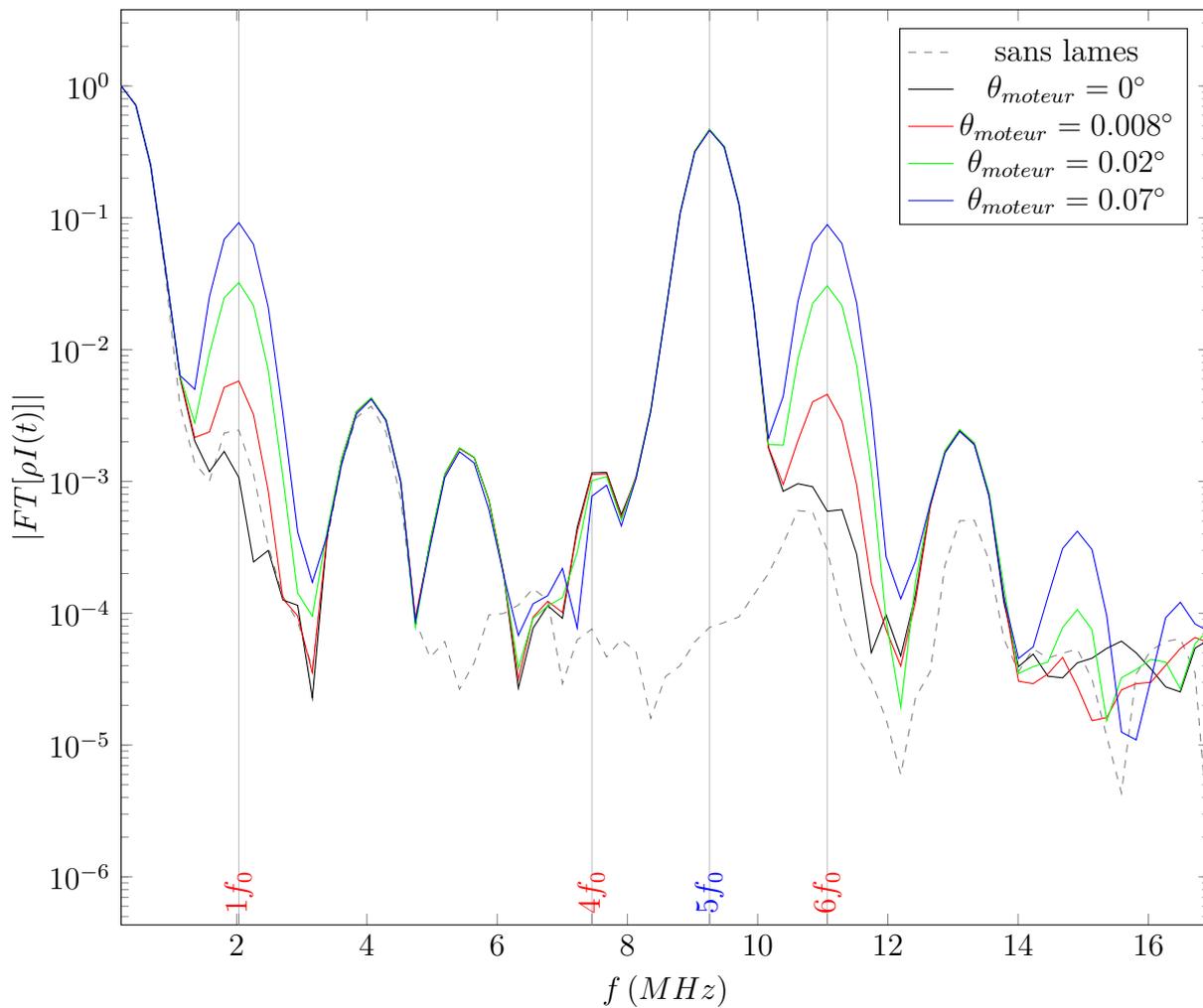


FIGURE II.2.12 – Valeur absolue de la transformée de Fourier des spectres cannelés acquis pour $\theta_{moteur} = 0^\circ, 0.008^\circ, 0.02^\circ$ et 0.07° , avec $\beta = 0.5^\circ$ ainsi que sans lame de codage avec $\theta_{moteur} = 0.5^\circ$

rapport complexe $\bar{\gamma}$ moyenné sur 1000 spectres auquel nous soustrayons le rapport $\bar{\gamma}_{BG}$, relatif à une mesure lorsque les polariseurs P_1 et P_2 sont croisés, soit $\theta_{moteur} = 0^\circ$. Cela permet de s'affranchir du résidu de pic à $6f_0$ en l'absence de pouvoir rotatoire.

Nous notons $\bar{\gamma}_{corr}$, la valeur corrigée de $\bar{\gamma}$, soit $\bar{\gamma}_{corr} = \bar{\gamma} - \bar{\gamma}_{BG}$, avec $|\bar{\gamma}_{BG}| \approx 1.10^{-3}$.

Nous pouvons constater sur la figure II.2.13 que le rapport $\bar{\gamma}_{corr}$ évolue bien de manière linéaire avec θ_{moteur} (pour de faibles pouvoirs rotatoires). La pente est théoriquement égale à $1/\beta$ d'après la relation $\theta = \gamma \beta$.

L'angle de biais est fixé à $\beta = 0.5^\circ$, soit une pente de $1/\beta = 2.0 \text{ deg}^{-1}$ et l'erreur sur le réglage de β est estimée à $\delta\beta = 0.01^\circ$, soit une erreur estimée sur la pente de $\delta\beta/\beta^2 = 0.047 \text{ deg}^{-1}$.

Les pentes des courbes $\gamma_{corr} = f(\theta_{moteur})$ obtenues par régression linéaire sont :

- pour des pas moteur $\delta\theta_{moteur} = 0.1^\circ$, *pente* = $1.9882 \pm 0.0054 \text{ deg}^{-1}$ ($R^2 = 0.9999$)
- pour des pas moteur $\delta\theta_{moteur} = 0.01^\circ$, *pente* = $1.9870 \pm 0.0069 \text{ deg}^{-1}$ ($R^2 = 0.9999$)
- pour des pas moteur $\delta\theta_{moteur} = 0.001^\circ$, *pente* = $1.9895 \pm 0.0289 \text{ deg}^{-1}$ ($R^2 = 0.9979$)

Pour les $\delta\theta_{moteur} = 0.001^\circ$, l'erreur sur la pente est plus importante car nous approchons de l'incrément minimal permis par le moteur.

Ces pentes sont bien comprises dans l'intervalle de l'erreur estimée sur la pente théorique de $1/\beta \pm \delta\beta/\beta^2 = 2.0 \pm 0.047 \text{ deg}^{-1}$.

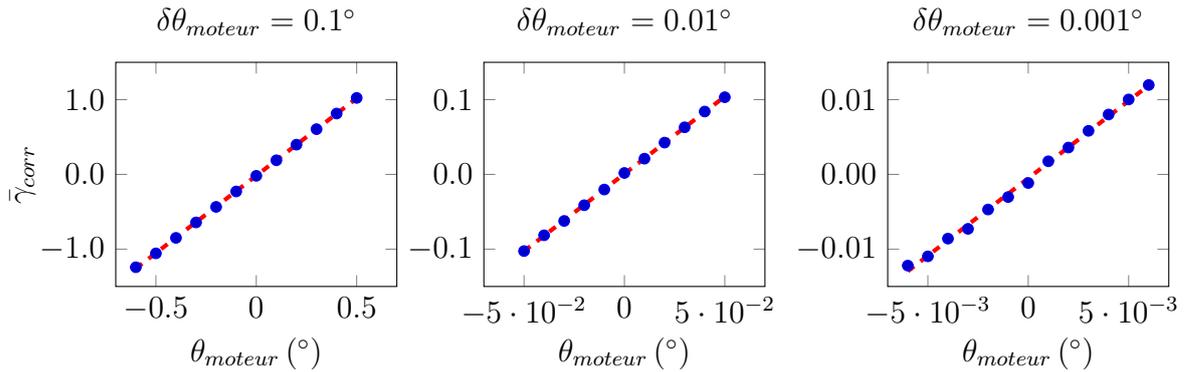


FIGURE II.2.13 – En bleu, rapports corrigés $\bar{\gamma}_{corr} = \bar{\gamma} - \bar{\gamma}_{BG}$ calculés à partir de la transformée de Fourier des spectres cannelés (moyennes de 1000 spectres) en fonction de θ_{moteur} ($^\circ$), avec $\beta = 0.5^\circ$. En rouge, les courbes de tendance associées obtenues par régression linéaire

II.2.3.2 Démonstration de la mesure dynamique du pouvoir rotatoire avec un modulateur de Faraday

Afin d'aller plus loin sans être limité par les performances mécaniques de la platine motorisée, nous utilisons comme milieu d'étude un modulateur de Faraday, qui lorsqu'il est alimenté en courant permet de générer un pouvoir rotatoire $\theta_{Faraday}$, qui dépend du courant d'alimentation (figure II.2.14).

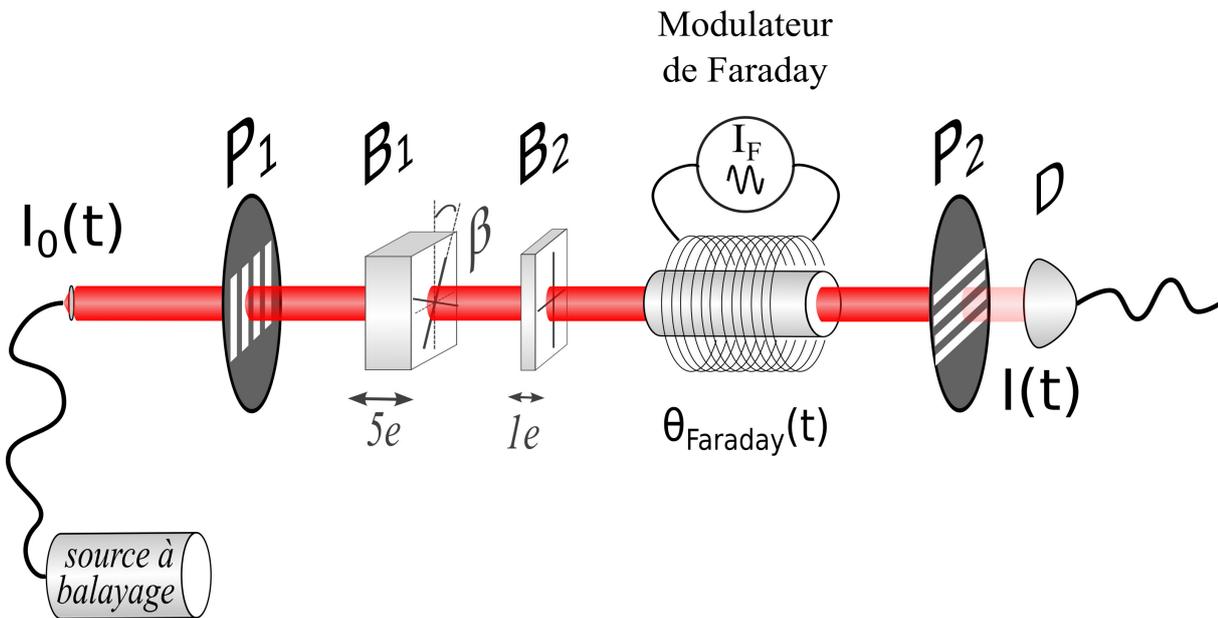


FIGURE II.2.14 – Expérience de validation du dispositif de mesure du pouvoir rotatoire avec un modulateur de Faraday

A l'aide d'un générateur, nous alimentons le modulateur de Faraday avec un courant sinusoïdal. Cela génère un pouvoir rotatoire $\theta_{Faraday}(t)$ qui varie lui aussi de manière sinusoïdale, à la même fréquence $f_{Faraday}$. Nous réalisons les acquisitions à une cadence de mesure de 100 kHz , soit $10\ \mu\text{s}$ par acquisition, avec $\beta = 0.5^\circ$.

Dans un premier temps le courant est réglé de telle sorte que l'amplitude crête-à-crête de la modulation du pouvoir rotatoire soit de $\approx 7.10^{-4}^\circ$, avec une fréquence de $f_{Faraday} \approx 0.5\text{ Hz}$. Cette faible fréquence de modulation par rapport à la cadence de mesure permet de moyennner les valeurs de θ mesurées afin de gagner en résolution. En effet, en faisant l'hypothèse d'un bruit blanc, la résolution de la moyenne de N mesures $\Delta\theta_N$ est reliée à la résolution pour une seule mesure $\Delta\theta$ par la relation $\Delta\theta_N = \Delta\theta/\sqrt{N}$.

Nous affichons donc en chaque point de la figure II.2.15, à gauche, la moyenne $\bar{\theta}$ de 10000 mesures de θ , ce qui correspond à un temps d'acquisition effectif de 100 ms. Ces mesures permettent de bien décrire la sinusoïde, illustrant la très bonne sensibilité du dispositif.

Dans un second temps, le courant est réglé de telle sorte que l'amplitude crête-à-crête de la modulation du pouvoir rotatoire soit de $\approx 5.10^{-3}^\circ$, avec cette fois une fréquence de $f_{Faraday} \approx 5 kHz$. A cette fréquence de modulation, il n'est plus possible de moyennner notre mesure pour gagner en résolution et la courbe affichée sur la figure II.2.15, à droite, est plus bruitée. Cette courbe illustre cependant la capacité de haute-cadence de mesure de notre dispositif, chaque point de la courbe correspondant à une seule acquisition, réalisée en seulement 10 μs .

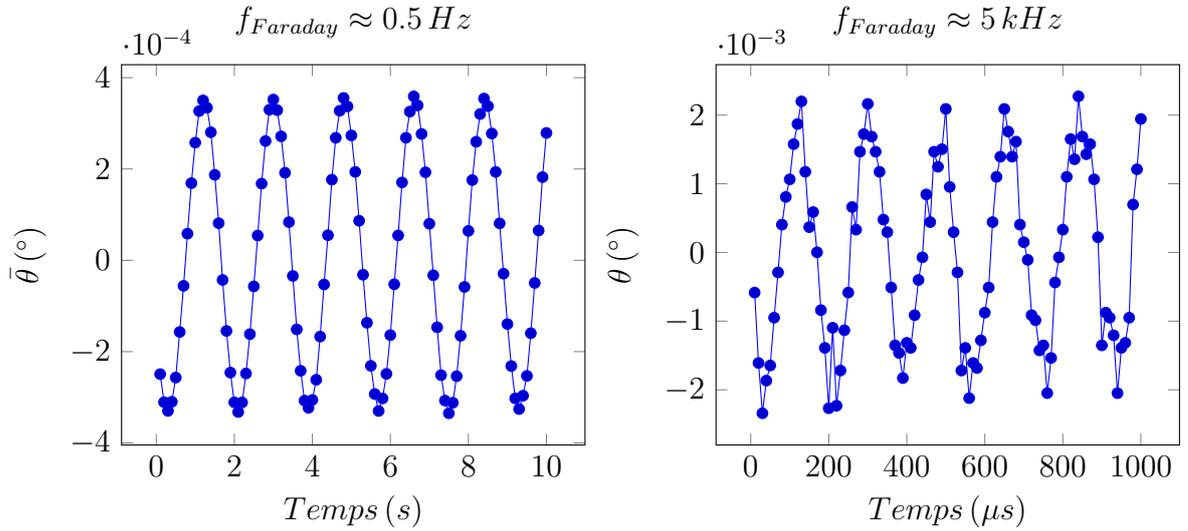


FIGURE II.2.15 – Pouvoir rotatoire mesuré $\theta_{mesuré}(t)$, avec $\beta = 0.5^\circ$: à gauche, à une fréquence de modulation du Faraday $f_{Faraday} \approx 0.5 Hz$ en fonction du temps en s , chaque point est la moyenne de 10000 mesures ; à droite : à une fréquence de modulation du Faraday $f_{Faraday} \approx 5 kHz$, temps en μs , sans moyenne

II.2.4 Erreurs systématiques

Nous allons maintenant étudier l'influence des erreurs systématiques sur la mesure. Parmi les sources d'erreurs systématiques, la dispersion de la biréfringence des lames B_1 et B_2 n'a qu'un impact limité sur le calcul du rapport γ . En effet, la dispersion va seulement

élargir les pics F_5 et F_6 dans l'espace de Fourier, et la mesure n'est pas affectée tant que les pics restent séparables. L'erreur sur l'épaisseur des lames B_1 et B_2 changeant seulement la position en fréquence des pics F_a et F_{a+b} dans l'espace de Fourier, elle n'affecte pas non plus la mesure. Aussi, nous allons nous concentrer sur l'impact du taux d'extinction des polariseurs, du *drop-off* ainsi que des erreurs d'alignements des lames B_1 et B_2 et du polariseur P_2 .

II.2.4.1 Influence du taux d'extinction des polariseurs et drop-off

Nous avons jusqu'à présent considéré les polariseurs utilisés comme linéaires et parfaits. D'après la démonstration présentée dans la section I.2.4, la matrice de Jones $J_{partiel}$ d'un polariseur linéaire non-parfait peut s'écrire dans la base des états linéaires ($|H\rangle, |V\rangle$) :

$$J_{partiel} = \sqrt{T_{pol}} \begin{bmatrix} 1 - \epsilon^2/2 & 0 \\ 0 & \epsilon^2 \end{bmatrix} \quad (\text{II.2.7})$$

Nous pouvons alors réécrire l'expression de la composante continue I_{DC} , du pic F_5 et du pic F_6 d'après les équations II.1.6 et II.2.7. Ceci nous donne :

$$\begin{aligned} I_{DC} &= \frac{1}{2} T_{samp} I_0 T_{pol} (1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos^2(2\beta) \cos(2\theta)) \\ F_5 &= -\frac{1}{4} T_{samp} I_0 \varpi_5 T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \sin^2(2\beta) \cos(2\theta) e^{j5\phi_0} \\ F_6 &= -\frac{1}{2} T_{samp} I_0 \varpi_6 T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \cos^3(\beta) \sin(\beta) \sin(2\theta) e^{j6\phi_0} \end{aligned} \quad (\text{II.2.8})$$

Ces expressions tiennent également compte de la perte de contraste des pics (drop-off) qui peut intervenir à cause de la longueur de cohérence finie de la source en utilisant des facteurs supplémentaires ϖ_5 et ϖ_6 , inférieurs ou égaux à 1, respectivement pour les pics F_5 et F_6 . Les mesures du pouvoir rotatoire en fonction de la rotation de l'analyseur P_2 n'ayant pas révélé un écart significatif avec la théorie, nous considérons par la suite que le drop-off est le même pour les pics F_5 et F_6 , soit $\varpi_5 = \varpi_6 = \varpi$.

Nous pouvons noter que le rapport $\gamma = \frac{F_6}{F_5} e^{-\frac{1}{5} \text{Arg}[-F_5]}$, et donc la valeur mesurée du pouvoir rotatoire, n'est pas affectée par le taux d'extinction des polariseurs et par le drop-off dans l'hypothèse $\varpi_5 \approx \varpi_6$.

Ce ne serait pas le cas si à la place d'utiliser le pic *référence* F_5 , nous utilisions la

composante I_{DC} pour normaliser notre pic *mesure* F_6 . Cela conforte le choix d'utiliser deux lames de codage pour réaliser l'auto-référencement.

A partir des équations II.2.8, il est cependant possible de déterminer les valeurs expérimentales de ϖ et de $\tau_{ext} = 1/\epsilon^2$. Ceci est développé en annexe A.II.

II.2.4.2 Influence des défauts d'alignements des lames B_1 , B_2 et du polariseur P_2

Afin d'étudier l'impact de ces erreurs systématiques sur la précision de la mesure de notre dispositif, nous notons δ_n , l'erreur systématique que nous considérons faible. Nous pouvons alors réécrire les pics $F_5(\theta, \delta_n)$ et $F_6(\theta, \delta_n)$ en fonction de θ et de δ_n par une approximation d'un polynôme de Taylor de second ordre tel que :

$$F_5(\theta, \delta_n) = F_5^{BG} + \frac{\partial F_5}{\partial \theta}(0, 0) \theta + \sum_n \frac{\partial^2 F_5}{\partial \theta \partial \delta_n}(0, 0) \theta \delta_n \quad (\text{II.2.9})$$

$$F_6(\theta, \delta_n) = F_6^{BG} + \frac{\partial F_6}{\partial \theta}(0, 0) \theta + \sum_n \frac{\partial^2 F_6}{\partial \theta \partial \delta_n}(0, 0) \theta \delta_n \quad (\text{II.2.10})$$

en ne gardant que le premier ordre de θ et avec F_5^{BG} et F_6^{BG} , l'amplitude complexe des pics F_5 et F_6 sans milieu d'étude, c'est-à-dire une mesure à vide (*BG* signifiant *Back-Ground*), qui s'écrivent respectivement :

$$F_5^{BG} = F_5(0, 0) + \sum_n \frac{\partial F_5}{\partial \delta_n}(0, 0) \delta_n + \frac{1}{2} \sum_n \frac{\partial^2 F_5}{\partial \delta_n^2}(0, 0) \delta_n^2 \quad (\text{II.2.11})$$

$$F_6^{BG} = F_6(0, 0) + \sum_n \frac{\partial F_6}{\partial \delta_n}(0, 0) \delta_n + \frac{1}{2} \sum_n \frac{\partial^2 F_6}{\partial \delta_n^2}(0, 0) \delta_n^2 \quad (\text{II.2.12})$$

En négligeant $\beta^2\theta$ devant $\beta\theta$, nous obtenons d'après les expressions II.2.2 :

$$F_5 \approx F_5^{BG} \propto -(1 - 3\epsilon^2)\beta^2(1 + \sum_n u_n(\beta, \delta_n))e^{j5\phi_0} \quad (\text{II.2.13})$$

$$F_6 - F_6^{BG} \propto -(1 - 3\epsilon^2)\theta\beta(1 + v(\beta, \delta_{\theta B_1}))e^{j6\phi_0} \quad (\text{II.2.14})$$

où u_n et v sont des fonctions réelles qui tendent vers 0 en l'absence d'erreur systématique, et $\delta_{\theta B_1}$ est l'erreur d'orientation sur la lame B_1 .

Nous calculons alors le ratio corrigé γ_{corr} , qui correspond au ratio γ de l'équation II.1.22, auquel est soustrait le ratio calculé sans milieu d'étude γ_{BG} , tel que :

$$\gamma_{corr} = \gamma - \gamma_{BG} = \frac{w_\theta\theta}{\beta} \quad (\text{II.2.15})$$

Avec $w_\theta = (1 + v)/(1 + \sum_n u_n)$, qui peut s'écrire :

$$w_\theta = \frac{1 + \delta_{\theta B_1}/\beta}{(1 + \delta_{\theta B_1}/\beta)^2 - 2(\delta_{\theta P_2}^2 + 4\delta_{\theta B_1}^2 + 2\delta_{\theta B_2}^2) - \delta_{\theta B_2}/\beta} \quad (\text{II.2.16})$$

avec $\delta_{\theta B_1}$, $\delta_{\theta B_2}$ et $\delta_{\theta P_2}$, respectivement les erreurs d'orientation des lames B_1 , B_2 et de l'analyseur P_2 .

La principale source d'erreurs systématiques est l'erreur d'orientation des deux lames B_1 et B_2 ainsi que l'erreur sur l'orientation de l'analyseur P_2 . Nous les estimons être égales à environ 0.01° , soit la limite de la monture rotative motorisée de la lame B_1 et du réglage manuel de la lame B_2 et de l'analyseur P_2 .

Par exemple, pour un pouvoir rotatoire de 0.1° et un angle de biais $\beta = 0.5^\circ$, avec une erreur d'orientation des lames B_1 de 0.01° , B_2 de 0.02° et de l'analyseur P_2 de -0.01° , nous obtenons à partir de l'équation II.2.16 la valeur $w_\theta = 1.0196$, ce qui correspond à un biais sur la valeur de $\delta\theta = (w_\theta - 1)\theta = (1.020 - 1) \times 0.1 = 2.0 \cdot 10^{-3}^\circ$. De manière générale, ce sont les erreurs sur les lames B_1 et B_2 qui ont l'effet prépondérant.

En pratique, ces erreurs systématiques pouvant s'additionner ou se compenser, il est difficile d'évaluer la précision sans un étalon de référence. La précision de cet étalon doit être de l'ordre de grandeur de la résolution du dispositif pour réaliser une évaluation pertinente. Cette résolution étant très bonne, nous n'avons pas trouvé d'étalon satisfaisant pour ce faire, la résolution d'un moteur pas-à-pas à disposition étant supérieur à la résolution de mesure du pouvoir rotatoire θ .

II.2.5 Vérification du modèle de bruit

II.2.5.1 Détermination expérimentale des paramètres de bruit de ΔI_n^2

Afin de valider le modèle de bruit proposé dans la section II.1.3, nous réalisons des acquisitions, sans milieu d'étude et avec une légère rotation de l'analyseur P_2 par rapport à la position croisée, en faisant varier la puissance incidente I_0 de 0.2 mW à 18 mW , en gardant $\beta = 0.5^\circ$.

A partir de $\Delta \tilde{F}_6$, l'écart-type de l'amplitude du pic F_6 calculé sur 1000 valeurs successives, nous déduisons $\Delta I_{n,eff}^2$ selon la relation $\Delta \tilde{F}_{6,eff} = \rho_{eff} \sqrt{N_s/2} \Delta I_{n,eff}$. Nous la traçons en fonction de I_{RMS} , la moyenne quadratique de la puissance optique au niveau du détecteur, sur la figure II.2.16.

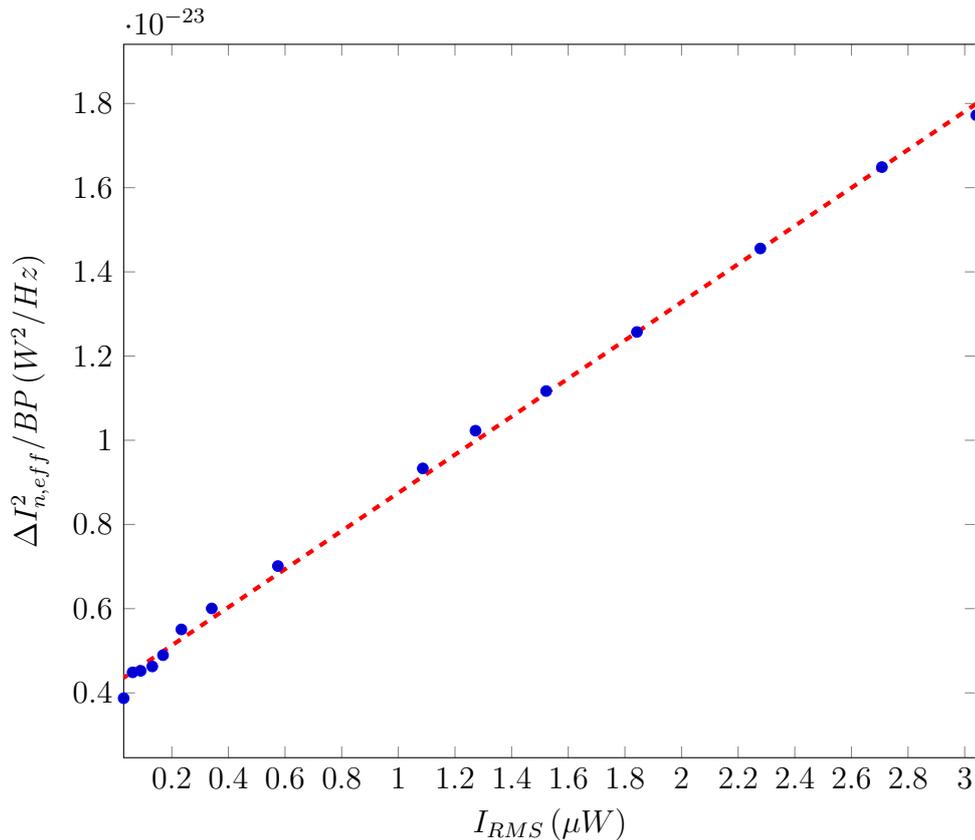


FIGURE II.2.16 – Écart-type de la puissance effective de bruit au carré $\Delta I_{n,eff}^2 (W^2)$ par unité de bande-passante $B (Hz)$ en fonction de la racine carrée de la moyenne quadratique de la puissance optique $I_{RMS} (\mu W)$ au niveau du détecteur.

Nous pouvons constater sur la figure II.2.16 que la puissance effective de bruit au carré peut être décrite par une droite sur toute la gamme de puissances incidentes, jusqu'à la saturation¹. Nous validons ainsi l'hypothèse que les termes proportionnels à I_{RMS}^2 (coefficient n_{excess}) sont bien négligeables.

Les coefficients de cette droite permettent en outre, via l'équation II.1.27 de remonter aux valeurs de $n_{receiver} = 1.79 \text{ pW}/Hz^{1/2}$ et de $n_{shot} = 2.26 \cdot 10^{-6} \text{ pW}/Hz$.

$$\Delta I_{n,eff}^2 = n_{receiver}^2 BP + 2 n_{shot} BP I_{RMS} \quad (\text{II.2.17})$$

Nous pouvons alors calculer la résolution théorique de notre dispositif à partir de l'équation II.1.30 :

$$\Delta\theta^2 = \frac{n_{receiver}^2 + 2\sqrt{6} n_{shot} I_0 \beta^2}{4 T_{acq} I_0^2 \beta^2} \quad (\text{II.2.18})$$

Pour $\beta = 0.5^\circ$, $I_0 = 18 \text{ mW}$ et $T_{acq} = 4.4 \mu\text{s}$, ceci nous donne $\Delta\theta = 3.8 \cdot 10^{-4}^\circ$, pour une mesure en $10 \mu\text{s}$.

D'après l'équation II.1.30, la résolution de notre dispositif tend vers 0 avec I_0 infiniment grand. En pratique, la résolution du dispositif est ultimement limitée par le taux d'extinction des polariseurs (à l'instar des autres méthodes sur fond noir [227]).

En revenant à notre modèle de bruit et en y intégrant le taux d'extinction fini des polariseurs, cela conduit à $F_6 \approx -I_0 \beta_{sat} \theta$, $I_{DC} \approx I_0 (2\beta_{sat}^2 + \epsilon^2)$ et $2|F_5| \approx I_0 \beta_{sat}^2$. A présent l'intensité qui sature le détecteur s'écrit : $I_{sat} = I_{DC} + 2|F_5| = I_0((2\beta_{sat})^2 + \epsilon^2)$.

Nous pouvons alors réécrire l'équation II.1.31 :

$$\Delta\theta^2 = \frac{n_{receiver}^2 + \sqrt{3/2} n_{shot} I_{sat} (1 + \epsilon^2 I_0/I_{sat})}{T_{acq} I_0 I_{sat} (1 + \epsilon^2 I_0/I_{sat})} \quad (\text{II.2.19})$$

Pour un système limité par le bruit de grenaille associé à l'éclairement (dit *shot-noise limited*), c'est à dire $n_{shot}^2 I_{sat} \gg n_{receiver}^2$, la résolution $\Delta\theta$ est minimum pour $I_{0,max} = (\sqrt{2} - 1) I_{sat}/\epsilon^2$.

En considérant $I_{sat} \approx 5 \mu\text{W}$ et $1/\epsilon^2 = 3.8 \cdot 10^4$ (valeur déterminée expérimentalement en annexe A.II), $I_{0,max} = 78.7 \text{ mW}$. Nous aurions alors $\Delta\theta_{min} = 4 \cdot 10^{-5}^\circ$, pour une mesure en $10 \mu\text{s}$.

1. Attention $I_{RMS} \neq I_{max}$. Ici $I_{max} = I_{sat} \approx 5 \mu\text{W}$ correspond bien à $I_{RMS} \approx 3 \mu\text{W}$.

II.2.5.2 Optimisation de l'angle de biais en fonction de la puissance incidente

Afin de déterminer le réglage optimal de β et de I_0 pour obtenir la meilleur résolution avec notre dispositif, nous traçons l'écart-type du pouvoir rotatoire $\Delta\theta$ calculé sur 10000 acquisitions successives, avec l'analyseur P_2 en position croisée, en faisant varier la puissance incidente I_0 .

En théorie, la puissance optique saturant notre détecteur est égale à $I_{sat,theo} = C_{DAQ}/S_{APD}$, avec C_{DAQ} , le calibre de la carte d'acquisition réglée à 1 V et S_{APD} , la sensibilité de la photodiode donnée par le fabricant 175 kV/W , cela donne $I_{sat,theo} = 1/175 \cdot 10^3 = 5.71 \mu\text{W}$. En pratique, nous nous placerons toujours un peu en dessous $I_{sat} \approx 5 \mu\text{W}$, pour éviter les non-linéarités d'un détecteur saturé.

Nous réalisons trois séries de mesures de $\Delta\theta$ en faisant varier la puissance optique incidente I_0 d'environ 1 mW à 18 mW , en ajustant à chaque point l'angle β de telle sorte que la puissance maximale de notre spectre au niveau du détecteur I_{max} soit égale respectivement à $0.4 I_{sat}$, $0.7 I_{sat}$ et I_{sat} . Les courbes correspondantes sont affichées figure II.2.17.

La figure II.2.17 montre que la résolution $\Delta\theta$ est optimale au maximum de la puissance optique incidente I_0 , avec un angle de biais β ajusté pour être proche de la saturation du détecteur, soit $I_{max} = I_{sat}$.

Nous atteignons ici la valeur minimale $\Delta\theta_{exp} = 3.8 \cdot 10^{-4} \text{ }^\circ$, pour une mesure en $10 \mu\text{s}$, avec $I_0 \approx 18 \text{ mW}$ et $\beta = 0.5^\circ$. Cette valeur est similaire à la valeur déterminée théoriquement dans la sous-section II.2.5.1 grâce au modèle du bruit, de $\Delta\theta_{theo} = 3.8 \cdot 10^{-4} \text{ }^\circ$

II.2.5.3 Stabilité temporelle

Pour certaines applications, la rapidité de la mesure n'est pas un critère déterminant. Il peut alors être judicieux de tirer parti de la haute cadence (100 kHz) de notre dispositif pour acquérir et moyennner un grand nombre de mesures, ceci afin de gagner en résolution.

Pour ce faire, nous devons nous assurer de la stabilité temporelle de la mesure réalisée par notre dispositif, afin d'estimer le temps d'intégration optimal τ_{max} . Le calcul de l'écart-type classique divergeant pour certains types de bruit (notamment ceux à basses fréquences), il n'est donc pas très adapté.

Initialement destinée à quantifier la stabilité fréquentielle d'horloges atomiques, la déviation d'Allan [228, 229] (que nous noterons Δ_A) peut également être utilisée pour

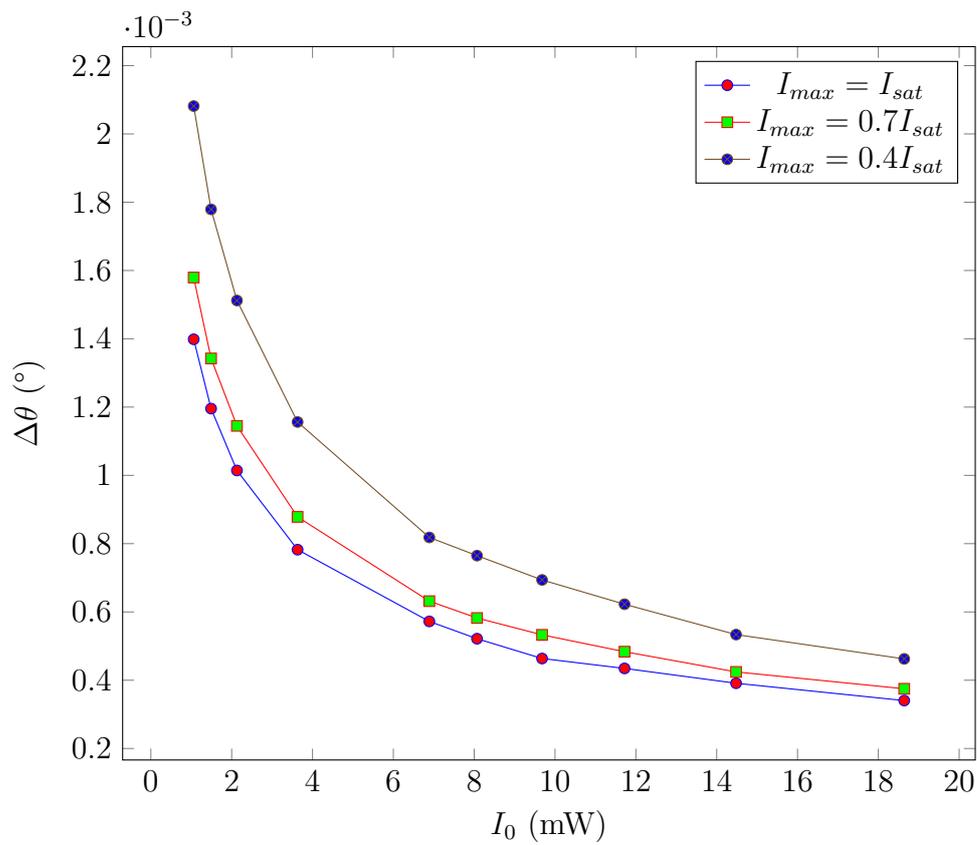


FIGURE II.2.17 – Écart-type du pouvoir rotatoire $\Delta\theta$ en fonction de I_0 , avec $I_{max} = 0.4 I_{sat}$, $I_{max} = 0.7 I_{sat}$ et $I_{max} = I_{sat}$.

estimer la stabilité temporelle d'un dispositif de mesure de la retardance [183, 184].

La déviation d'Allan est égale à la racine carrée de la moyenne quadratique des écarts entre deux paquets de mesures successifs. Le nombre de mesures par paquet correspond au nombre de mesures sur lequel est réalisé le moyennage.

Pour un bruit blanc, la valeur de la déviation d'Allan est la même que celle de l'écart-type classique. Un avantage de la déviation d'Allan est qu'il est possible d'identifier les types de bruits présents à partir de la pente de la déviation d'Allan tracée en fonction du temps d'intégration (avec une échelle log-log). Une pente de $-1/2$ correspond ainsi à un bruit blanc alors qu'une pente de $1/2$ correspond à une marche aléatoire (dérives). De manière générale, un bruit en $1/f^n$ est associé à une pente $(n - 1)/2$.

Nous réalisons 10^8 mesures (soit une durée totale de 1000 s), sans milieu d'étude, avec $\theta = 0^\circ$. Nous calculons alors la déviation d'Allan² que nous traçons en fonction du temps d'intégration (avec une échelle log-log) sur la figure II.2.18.

Sans moyenne ($\tau = 10\ \mu\text{s}$), la déviation d'Allan est égale à $\Delta_{A,10\mu\text{s}}\theta = 3.6\ 10^{-4}^\circ$. Cette valeur est très proche de la résolution déterminée précédemment de manière théorique dans la sous-section II.2.5.1 de $\Delta\theta_{théo} = 3.8\ 10^{-4}^\circ$. Par unité de bande passante, cela correspond à $\Delta\theta_{A,\sqrt{Hz}} \approx 1.2\ 10^{-6}^\circ/\sqrt{Hz}$.

Nous constatons que lorsque le temps d'intégration augmente (jusqu'à $\approx 10\text{ s}$), la déviation d'Allan suit une tendance en $1/\sqrt{N}$ (avec N , le nombre d'échantillons intégrés), ce qui est la manifestation de la prépondérance du bruit blanc à ces échelles de temps. Nous atteignons ainsi une de résolution optimale $\Delta_{A,10\text{s}}\theta = 4.6\ 10^{-7}^\circ$ avec $\tau = 10\text{ s}$.

Au delà de 10 s , la valeur de la déviation d'Allan augmente, ce qui est signe de la présence de dérives, mécaniques ou thermiques. Il est donc contre indiqué d'intégrer la mesure sur plus de 10 s , sous peine d'être affecté par ces dérives.

II.2.5.4 Optimisation de la résolution relative en fonction du pouvoir rotatoire

Nous nous sommes précédemment intéressés à la stratégie pour mesurer des faibles valeurs du pouvoir rotatoire et nous avons déterminé qu'il fallait travailler avec la puis-

2. Il existe plusieurs variantes de la déviation d'Allan. Nous utilisons ici la version classique, sans overlapping. En effet, bien qu'il soit généralement recommandé d'utiliser l'overlapping pour améliorer le résultat du calcul, cela est inutile dans notre cas vu le très grand nombre de mesures acquises. Par ailleurs, le temps de calcul de la déviation d'Allan passerait de quelques dizaines de secondes à plusieurs jours.

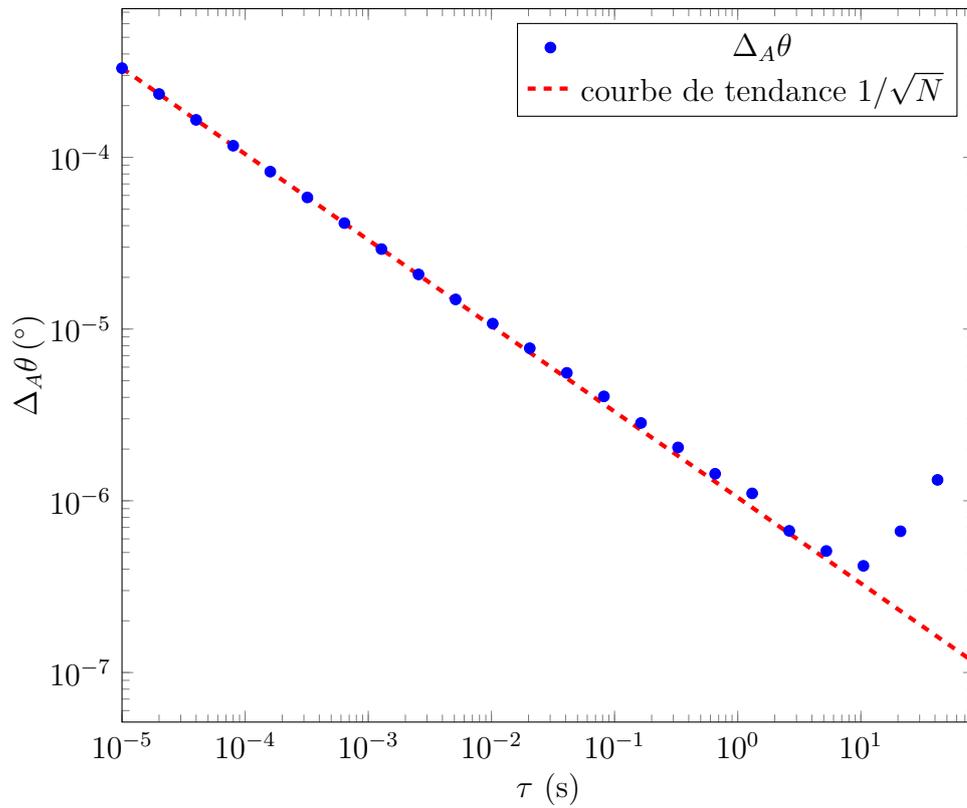


FIGURE II.2.18 – Déviation d'Allan $\Delta_A\theta$ (°) en fonction du temps d'intégration τ (s).

sance optique incidente I_0 la plus forte possible et adapter l'angle de biais β de manière à ne pas saturer le détecteur.

Nous allons à présent déterminer la stratégie optimale pour mesurer un pouvoir rotatoire quelconque, avec la meilleure résolution relative possible.

Simulation de la résolution relative $\Delta\theta/\theta$ en fonction de β et θ

Nous simulons la résolution relative $\Delta\theta/\theta$ en fonction de β ($^\circ$) et de θ ($^\circ$), en faisant l'hypothèse d'un bruit blanc et d'une puissance de la source I_0 ajustée de manière à saturer le détecteur. Nous remarquons sur la figure II.2.19 qu'il semble y avoir une valeur optimale de l'angle β qui minimise $\Delta\theta/\theta$ pour chaque θ .

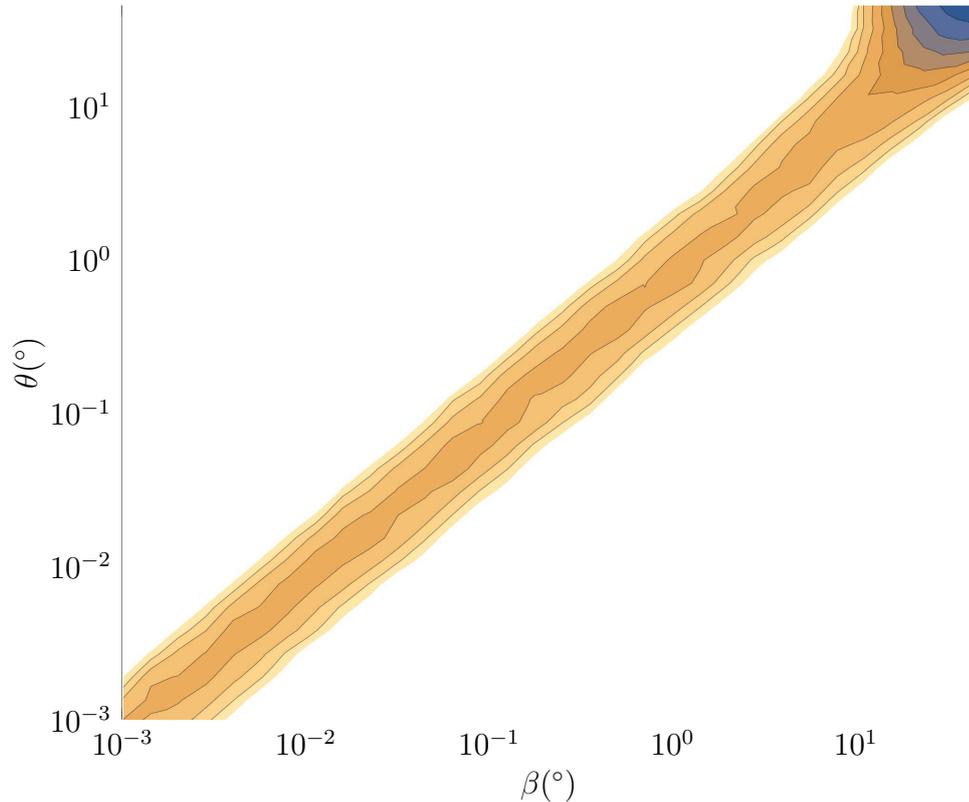


FIGURE II.2.19 – Simulation de $\Delta\theta/\theta$ en fonction de β ($^\circ$) et de θ ($^\circ$). La zone en jaune/orange correspond au minimum de $\Delta\theta/\theta$ et les hautes valeurs sont tronquées et représentées en blanc

Il vient que pour minimiser la résolution relative $\Delta\theta/\theta$ nous devons ajuster β tel que l'angle de biais optimal est $\beta_{opt} \approx 0.8\theta$.

Mesure expérimentale de la résolution relative $\Delta\theta/\theta$ en fonction de θ

En utilisant la rotation du polariseur P_2 afin de simuler le pouvoir rotatoire, à l’instar de la sous-section II.2.3.1, nous traçons sur la figure II.2.20 la résolution relative $\Delta\theta/\theta$ en fonction de θ , pour θ allant de 0.001° à 40° .

L’écart-type $\Delta\theta$ est calculé sur 10000 acquisitions pour chaque valeur de θ .

La courbe bleue sur la figure II.2.20 représente la valeur de $\Delta\theta/\theta$ où la valeur de β est optimisée à chaque valeur de θ , tel que :

- $\beta_{opt} = 0.5^\circ$ pour $\theta < 0.6^\circ$, afin d’exploiter toute la dynamique du détecteur.
- $\beta \approx 0.8\theta$, pour $\theta > 0.6^\circ$, en baissant le cas échéant I_0 pour ne pas saturer le détecteur.

En effet, pour $\theta < 0.6^\circ$ ajuster l’angle β tel que $\beta \approx 0.8\theta$ reviendrait à avoir $I_{max} < I_{sat}$ et cela dégraderait la résolution relative.

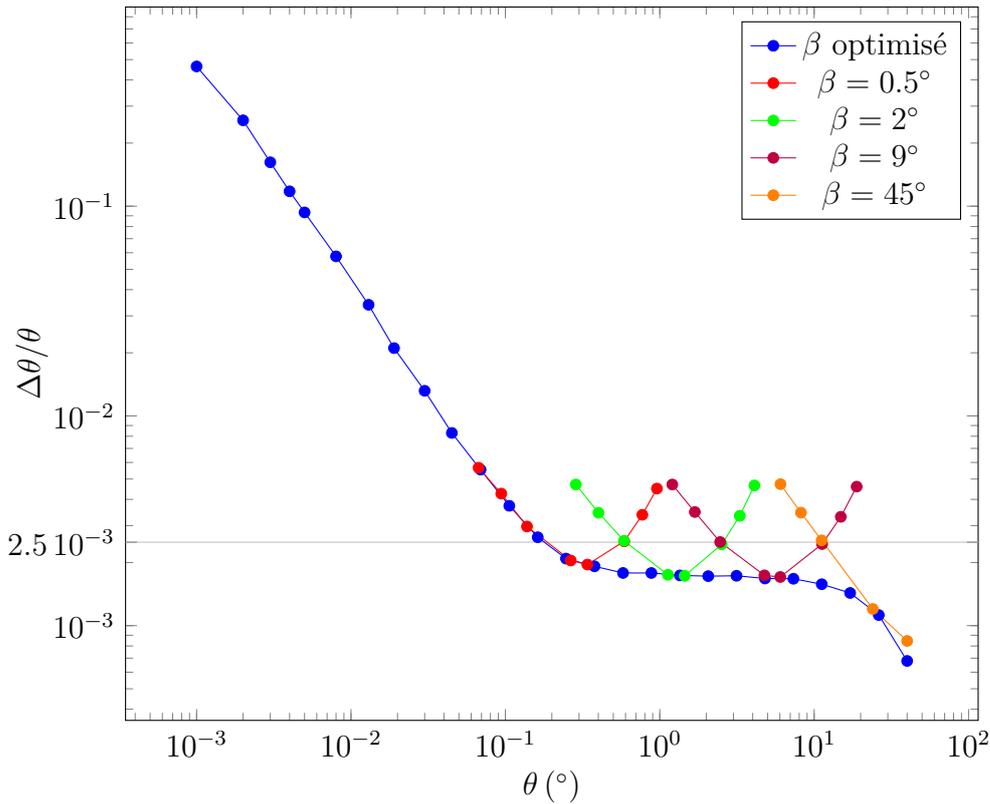


FIGURE II.2.20 – Mesure expérimentale de la résolution relative $\Delta\theta/\theta$ en fonction de θ ($^\circ$), avec β optimisé en chaque valeur de θ selon la relation $\beta_{opt} \approx 0.8\theta$ puis avec différentes valeurs fixes de β : $\beta = 0.5^\circ$, $\beta = 2^\circ$, $\beta = 9^\circ$ et $\beta = 45^\circ$.

Nous constatons une diminution de rapport $\Delta\theta/\theta$ jusqu’à $\theta \approx 0.6^\circ$, pour atteindre un

plateau autour de $\Delta\theta/\theta \approx 1.7 \cdot 10^{-3}$.

Notion de calibre

En pratique, il peut être compliqué d'ajuster de manière continue l'angle β pour chaque θ donné.

A l'instar d'un voltmètre, où il est possible de choisir un calibre en fonction de la valeur de tension à mesurer, nous pouvons définir un petit nombre d'angles de biais β qui vont faire office de calibres pour la mesure du pouvoir rotatoire.

Chacune de ces valeurs de β va en effet permettre de mesurer une certaine gamme de pouvoirs rotatoires θ en gardant une résolution relative $\Delta\theta/\theta$ modérée.

Comme nous pouvons le voir sur la figure II.2.20, la résolution relative reste ici inférieure à $2.5 \cdot 10^{-3}$ en choisissant comme valeurs *calibres* de β : $\beta = 0.5^\circ$ pour les $\theta < 0.6^\circ$, $\beta = 2^\circ$ pour les θ de 0.6° à 2.5° , $\beta = 9^\circ$ pour les θ de 2.5° à 11° et $\beta = 45^\circ$ pour les $\theta > 11^\circ$.

Ceci pourra être utile notamment en microscopie, pour adapter simplement la résolution de la mesure de retardance à la dynamique des anisotropies optiques présentes dans les milieux d'étude.

Conclusion

Dans le présent chapitre, nous avons démontré le principe de mesure d'anisotropie optique sur fond noir par codage spectral dans le cas de la mesure du pouvoir rotatoire. Le dispositif développé nous a notamment permis de valider le modèle du bruit proposé dans le chapitre précédent.

Ce dispositif permet de réaliser des mesures du pouvoir rotatoire avec une résolution $\Delta\theta_{\sqrt{Hz}} \approx 1.1 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ / \sqrt{Hz}$, soit pour une mesure en $10 \mu s$, $\Delta\theta = 3.4 \cdot 10^{-4} \text{ }^\circ$.

A titre de comparaison, la configuration sur fond noir pour la mesure du pouvoir rotatoire par codage spectral, introduite en 2020 par Y. Nishiyama et al. [202] et présentée dans le troisième chapitre de la première partie, section I.3.4, a une résolution de $\Delta\theta_{\sqrt{Hz}} = 1 \cdot 10^{-2} \text{ }^\circ / \sqrt{Hz}$.

La précision est quant à elle plus difficile à estimer et semble surtout liée à l'erreur sur la valeur de l'angle de biais β (lame B_1).

Dans le prochain chapitre, nous allons décliner ce principe pour la mesure de la retardance linéaire et de son azimut.

DISPOSITIF DE MESURE SUR FOND NOIR DE LA RETARDANCE LINÉAIRE ET DE SON AZIMUT PAR CODAGE SPECTRAL DE LA POLARISATION

Dans le précédent chapitre, nous avons démontré le principe de la mesure sur fond noir du pouvoir rotatoire par codage spectral de la polarisation et validé le modèle de bruit associé. Nous allons à présent décliner ce principe pour la mesure de la retardance linéaire et de son azimut. Il y a donc ici deux informations polarimétriques à mesurer.

La retardance linéaire est le déphasage entre deux états de polarisation propres linéaires, qui peut être induite par un milieu présentant une biréfringence linéaire. L'azimut de la retardance va correspondre à l'orientation d'une des lignes neutres (axe lent ou rapide) du milieu biréfringent.

Le présent chapitre va décrire le principe de fonctionnement du dispositif de mesure de la retardance linéaire et de son azimut. L'élément crucial de cette configuration est la présence de deux lames quart d'onde ($\lambda/4$), qui vont permettre de découpler les deux informations polarimétriques à mesurer. Aussi, nous allons nous intéresser à la caractérisation de ces lames afin de sélectionner les plus adaptées pour ce dispositif. Ensuite nous étudierons l'impact des erreurs systématiques associées à ces lames et proposerons des stratégies pour le limiter. Enfin, nous validerons expérimentalement le principe de la mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimut.

II.3.1 Présentation de la configuration de mesure de la retardance linéaire

Nous présentons ici la configuration dédiée à la mesure de la retardance linéaire, telle que présentée sur la figure II.3.1. Ici le milieu d'étude présentant une retardance linéaire LR , d'azimut α , est encadré par deux lames $\lambda/4$, QW_1 et QW_2 , orientées respectivement à -45° et $+45^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur P_1 .

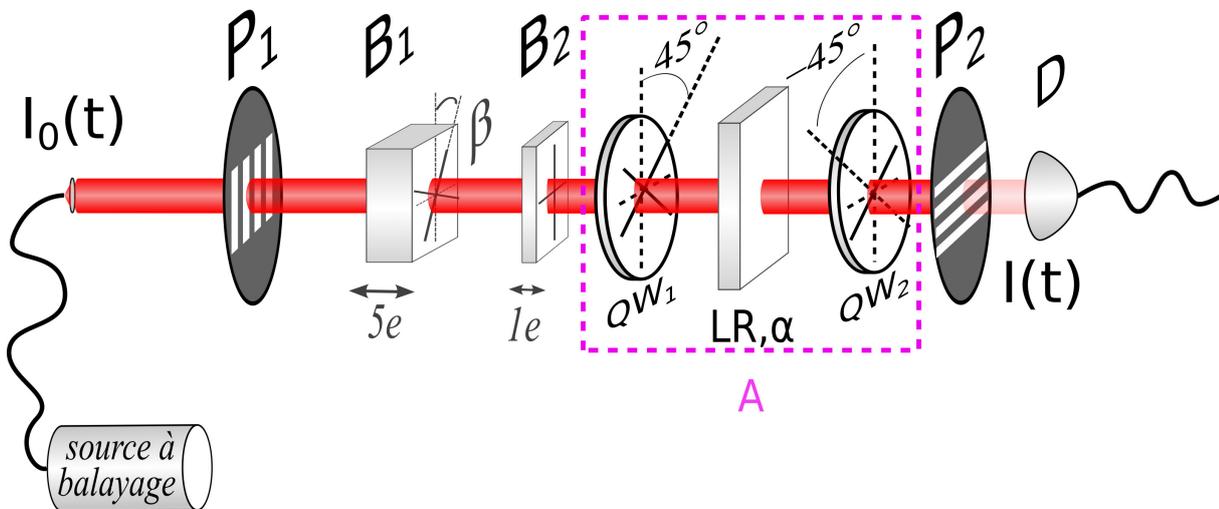


FIGURE II.3.1 – Dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimuth par codage spectral de la polarisation, avec une source à balayage en fréquence optique, deux lames de phase, la lame B_1 d'épaisseur $5e$, orientée d'un angle β par rapport à l'axe vertical et la lame B_2 d'épaisseur $1e$, alignée à l'axe vertical, deux lames $\lambda/4$, QW_1 et QW_2 , orientées respectivement à -45° et $+45^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur P_1 , deux polariseurs croisés P_1 et P_2 ainsi qu'un détecteur D .

L'ajout de la lame $\lambda/4$ QW_1 à 45° permet de transformer les états de polarisation proches d'un état linéaire en des états de polarisation proches d'un état circulaire. Il est possible de le percevoir sur la sphère de Poincaré, en représentant les états de polarisation éclairant l'échantillon (après les lames de codage et la première lame QW_1 - voir figure II.3.2).

La combinaison de la lame $\lambda/4$ QW_2 à -45° et du polariseur P_2 , croisé avec le polariseur P_1 , forme quant à elle un analyseur d'états de polarisation circulaires. Cette nouvelle configuration est donc un polarimètre sur fond noir qui sonde le milieu d'étude avec des états de polarisation proches du circulaire, alors que pour le dispositif du chapitre

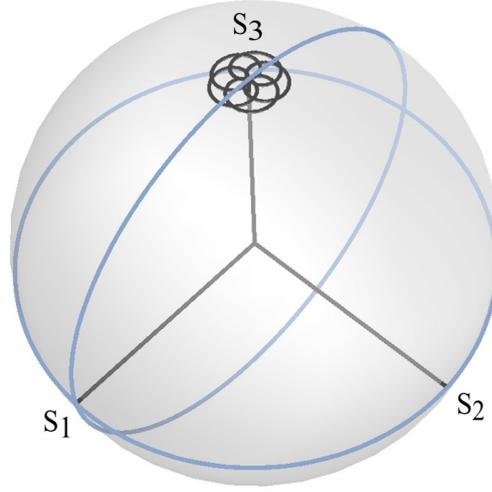


FIGURE II.3.2 – Représentation sur la sphère de Poincaré des états de polarisation pour le dispositif de mesure de la retardance linéaire, pour $a = 1$ et $b = 5$, avec un faible β , au niveau du milieu d'étude

précédent les états de polarisation étaient proches du linéaire.

L'intérêt de sonder le milieu d'étude avec des états de polarisation circulaires est de pouvoir mesurer indépendamment l'amplitude et l'azimut de la retardance linéaire. En effet, nous allons montrer que l'amplitude du signal va porter l'information de la valeur de la retardance linéaire et la phase du signal va porter l'information de l'azimut de la retardance linéaire.

Dans le cas d'un milieu présentant une retardance linéaire, d'amplitude LR et d'azimut α , la matrice de Jones $[A_{LR,\alpha}]$ s'écrit dans le repère formé par les vecteurs propres $|H\rangle$ et $|V\rangle$ des polariseurs P_1 et P_2 :

$$[A_{LR,\alpha}] = \begin{bmatrix} e^{jLR/2} \cos^2 \alpha + e^{-jLR/2} \sin^2 \alpha & j(\sin LR/2) \sin(2\alpha) \\ -j \sin(LR/2) \sin(2\alpha) & e^{jLR/2} \sin^2 \alpha + e^{-jLR/2} \cos^2 \alpha \end{bmatrix} \quad (\text{II.3.1})$$

Nous notons la matrice $[A]$ qui est la combinaison de la matrice de Jones $[A_{LR,\alpha}]$ encadrée par deux lames $\lambda/4$ orientées à $+45^\circ$ et -45° par rapport à l'axe du polariseur P_1 , tel que représenté sur la figure II.3.1, dont les matrices de Jones sont notées respectivement

$J_{QW_1}(+45^\circ)$ et $J_{QW_2}(-45^\circ)$, soit :

$$[A] = J_{QW_2}(-45^\circ) \cdot [A_{LR,\alpha}] \cdot J_{QW_1}(+45^\circ)$$

$$[A] = \begin{bmatrix} \cos(LR/2) & \sin(LR/2) e^{-j2\alpha} \\ -\sin(LR/2) e^{-j2\alpha} & \cos(LR/2) \end{bmatrix} \quad (\text{II.3.2})$$

Ceci donne $a_\perp = \langle H|A|V \rangle = \sin(LR/2) e^{-j2\alpha}$ et $a_\parallel = \langle H|A|H \rangle = \cos(LR/2)$.

L'expression des pics F_a et F_b devient alors :

$$F_a = -T_{\text{samp}} I_0 \cos LR \cos^2(\beta) \sin^2(\beta) e^{ja\phi_0}$$

$$F_{a+b} = -\frac{1}{2} T_{\text{samp}} I_0 \sin LR \cos^3(\beta) \sin(\beta) e^{j(a+b)\phi_0} e^{-j2\alpha} \quad (\text{II.3.3})$$

Le rapport $\gamma = \frac{F_{a+b}}{F_a} e^{-\frac{b}{a} \text{Arg}[-F_a]}$ s'écrit donc :

$$\gamma = \frac{-\frac{1}{2} T_{\text{samp}} I_0 \sin LR \cos^3(\beta) \sin(\beta) e^{j(a+b)\phi_0} e^{j2\alpha}}{-T_{\text{samp}} I_0 \cos LR \cos^2(\beta) \sin^2(\beta) e^{ja\phi_0}} e^{-jb\phi_0}$$

$$\gamma = \frac{\tan LR}{2 \tan \beta} e^{j2\alpha} \quad (\text{II.3.4})$$

En prenant le module de γ , nous pouvons alors obtenir l'amplitude de la retardance linéaire LR (de manière similaire à la mesure du pouvoir rotatoire, développé dans le chapitre précédent) et en prenant l'argument, il devient possible de remonter à l'azimut de la retardance linéaire α , selon les relations :

$$LR = \arctan(2 |\gamma| \tan \beta)$$

$$\alpha = \frac{1}{2} \text{Arg}[\gamma] \quad (\text{II.3.5})$$

Ici nous remarquons que la fonction arctangente n'est définie que jusqu'à $\pi/2$, or la retardance linéaire LR est définie de 0 à π . Pour mesurer une retardance linéaire comprise entre $\pi/2$ et π , il faut donc modifier la relation II.3.5.

Pour ce faire, nous allons nous servir du signe du pic F_5 . En effet, les parties réelles

du pic F_5 et du pic F_5^{BG} (sans milieu d'étude), s'expriment :

$$\begin{aligned} Re[F_5] &\propto -\sin^2 2\beta \cos LR \cos 5\phi_0 \\ Re[F_5^{BG}] &\propto -\sin^2 2\beta \cos 5\phi_0 \end{aligned} \quad (\text{II.3.6})$$

Ainsi en calculant la partie réelle du rapport F_5/F_5^{BG} , nous avons :

$$Re[F_5/F_5^{BG}] \propto \cos LR \quad (\text{II.3.7})$$

Le signe de $\cos LR$ nous permet alors de déplier la valeur de la retardance linéaire LR entre 0 et π , grâce à la formule :

$$LR = \text{sign}\left[Re\left[\frac{F_5}{F_5^{BG}}\right]\right] \times \left(\arctan(2|\gamma| \tan \beta) - \frac{\pi}{2}\right) + \frac{\pi}{2} \quad (\text{II.3.8})$$

avec $\text{sign}[x]$, une fonction qui prend la valeur 1 quand x est positif et -1 quand x est négatif.

II.3.2 Choix des lames $\lambda/4$

Il s'avère que le choix des lames $\lambda/4$ est crucial pour les performances de notre dispositif. Deux critères sont à considérer. D'abord puisque le dispositif de mesure fonctionne selon le principe du codage spectral de la polarisation, il faut vérifier que la réponse polarimétrique de chaque lame $\lambda/4$ soit la plus neutre possible dans la bande spectrale balayée par la swept-source, c'est-à-dire 110 nm.

Ensuite il est nécessaire que les deux lames utilisées se compensent bien, c'est à dire qu'elles aient la même épaisseur, afin de garantir l'extinction lumineuse lorsque l'angle de biais β est nul.

Il existe plusieurs technologies de lames $\lambda/4$ [230] :

- les lames d'ordre zéro compensées, qui consistent en deux lames à retard d'un même matériau biréfringent d'ordre multiple dont les axes se croisent de sorte que le retard effectif corresponde à la différence entre les deux.
- les lames vrais ordre 0, se composent d'un matériau biréfringent unique formant une lame ultra-fine (quelques μm).
- les lames achromatiques, qui sont la combinaison de deux lames à retard, chacune

faite d'un matériau différent, choisi pour que la dispersion de la biréfringence associée à chaque lame se compense et permette de produire un déphasage de $\pi/2$ sur toute la bande spectrale.

Nous avons testé trois jeux de lames de matériaux différents : un jeu de lames en quartz SiO_2 , vrai ordre 0 à 1060 nm , un jeu de lames en fluorure de magnésium MgF_2 , vrai ordre 0 à 1060 nm et un jeu de lames $SiO_2 + MgF_2$, achromatiques sur une gamme spectrale $600 - 1200\text{ nm}$. Nous avons également testé des lames ordre 0 compensées mais dont la qualité ne permettait pas de réaliser l'extinction.

II.3.2.1 Caractérisation de la réponse polarimétrique d'une lame $\lambda/4$

Afin d'évaluer la réponse polarimétrique d'une lame $\lambda/4$, nous la plaçons dans notre dispositif de mesure du pouvoir rotatoire, au niveau du milieu d'étude, tel que représenté sur la figure II.3.3. Nous tournons cette lame de manière à aligner ses axes sur l'axe du polariseur P_1 .

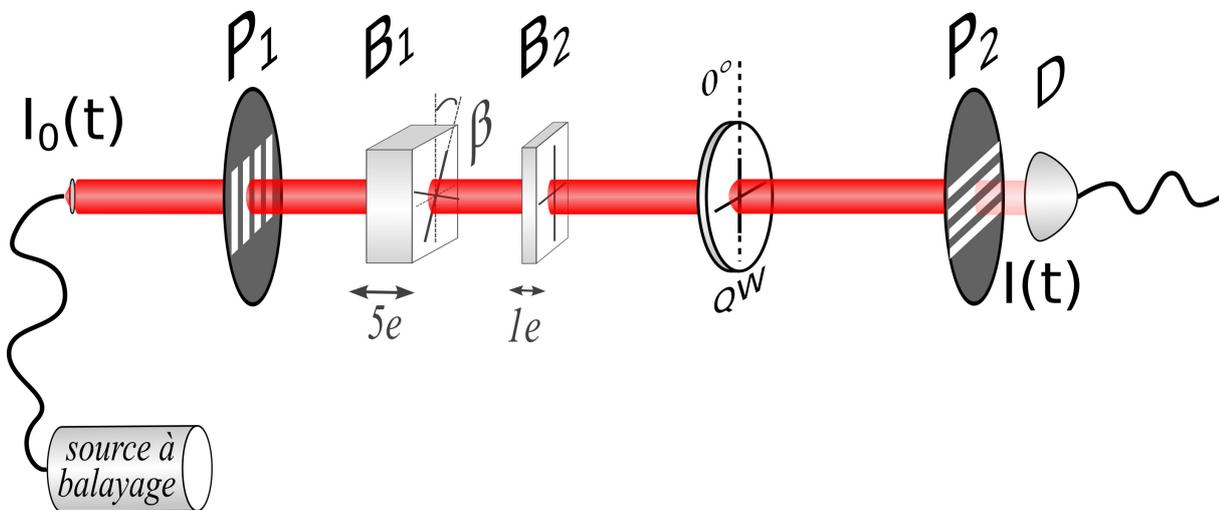


FIGURE II.3.3 – Montage pour la caractérisation de la réponse spectrale d'une lame $\lambda/4$, notée QW

Nous travaillons ici en gardant constant l'angle $\beta = 0.5^\circ$ et nous ajustons I_0 pour ne pas saturer le détecteur le cas échéant. Les spectres obtenus pour les trois types de lames sont tracés figure II.3.4.

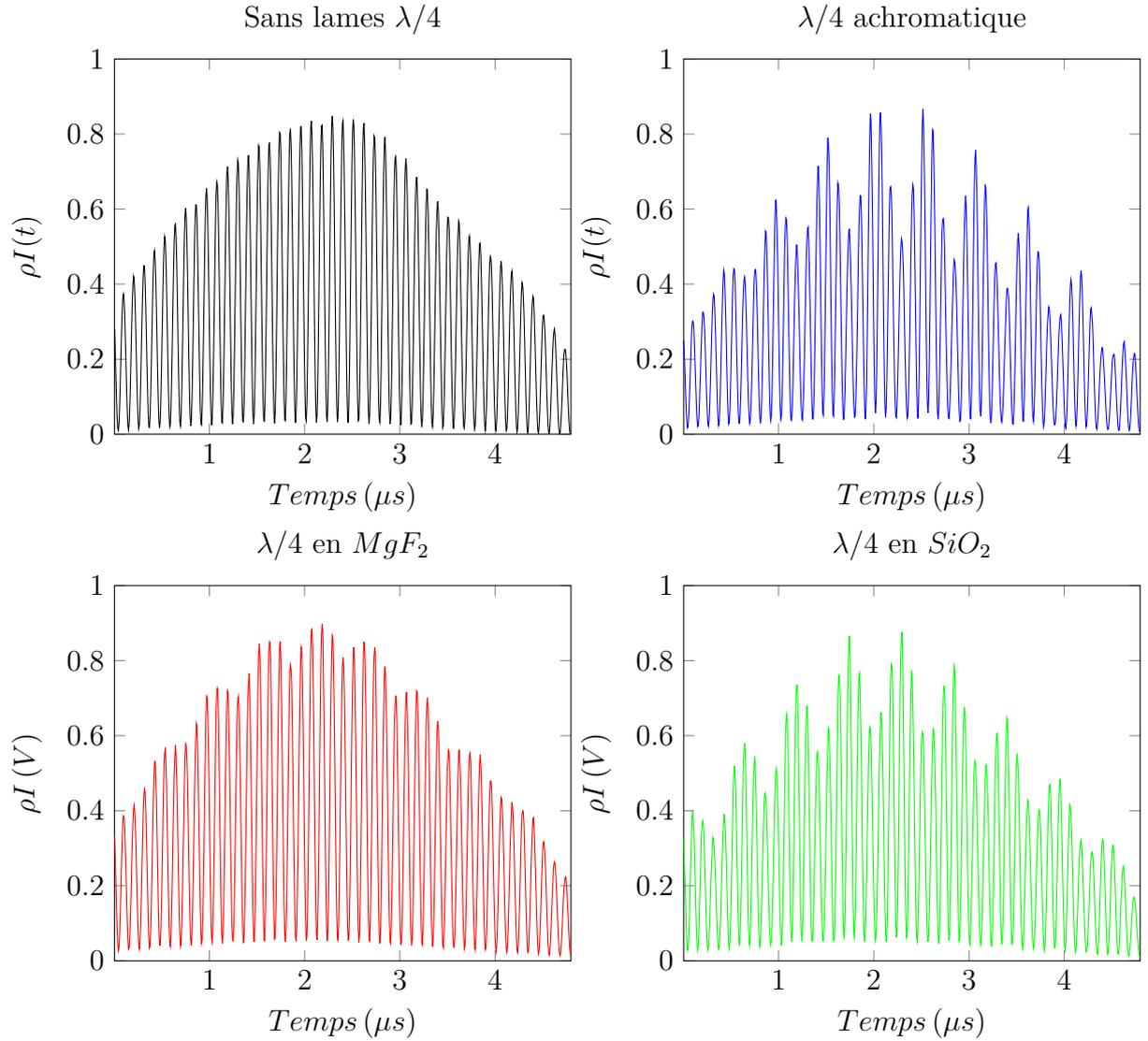


FIGURE II.3.4 – Spectres cannelés acquis avec $\beta = 0.5^\circ$ pour une lame $\lambda/4$ (une seule lame) : une lame achromatique, une lame en fluorure de magnésium MgF_2 et une lame en quartz SiO_2 ; ainsi que sans lame $\lambda/4$.

Si les lames présentaient un pur retard linéaire, le spectre ne serait pas modifié lorsque leurs axes sont alignés sur l'axe du polariseur P_1 . En pratique, nos lames modifient significativement le spectre.

Nous pouvons constater que la lame $\lambda/4$ achromatique compensée déforme de manière très importante le spectre (figure II.3.4). Cela est peut-être dû à la technologie employée, c'est-à-dire la combinaison de deux lames se compensant. Les axes des deux lames doivent être parfaitement alignés. Or ceci est difficile à réaliser en pratique et ces axes sont peut-être légèrement décalés, créant en sortie un état de polarisation elliptique au lieu d'un état linéaire, ce qui rend impossible d'obtenir un spectre non-modifié par cette lame achromatique compensée.

La lame $\lambda/4$ en MgF_2 en revanche modifie peu le spectre, il semble donc qu'il faille privilégier la technologie des lames vrai ordre 0.

La lame $\lambda/4$ en SiO_2 , également vrai ordre 0, modifie davantage le spectre que la lame $\lambda/4$ en MgF_2 . Ceci est peut-être lié au choix du matériau. En effet, le quartz, outre la biréfringence linéaire, présente un pouvoir rotatoire [231, 232]. La combinaison de ces deux effets dégrade donc la réponse polarimétrique de la lame $\lambda/4$ en SiO_2 par rapport à la $\lambda/4$ en MgF_2 .

En considérant une dispersion du pouvoir rotatoire en $1/\lambda^2$, nous pouvons estimer à partir de [231] que le pouvoir rotatoire par unité d'épaisseur de la lame $\lambda/4$ en SiO_2 est de $3500^\circ/m$. Son épaisseur étant environ égale à $30\ \mu m$, le pouvoir rotatoire associé est de $\theta_{QW} \approx 30 \cdot 10^{-6} \times 3500 \approx 0.1^\circ$. Ceci semble conforme aux observations expérimentales.

En effet, en traçant les transformées de Fourier associées aux spectres des lames $\lambda/4$ (voir figure II.3.5) puis en calculant le rapport γ , nous obtenons pour la lame $\lambda/4$ en SiO_2 , $\theta_{QW} = \beta \gamma \approx 0.5 \times 0.018 \approx 0.09^\circ$.

II.3.2.2 Vérification de la compensation de deux lames $\lambda/4$

A présent, nous plaçons les deux lames $\lambda/4$ dans la configuration du dispositif de mesure de la retardance linéaire et de son azimuth, c'est à dire orientés respectivement à -45° et $+45^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur P_1 , sans milieu d'étude, tel que représenté sur la figure II.3.6. Nous fixons l'angle de biais $\beta = 0.5^\circ$.

Si les lames $\lambda/4$ étaient parfaites, c'est-à-dire qu'elles étaient d'épaisseurs identiques, elles se compenseraient parfaitement dans cette configuration et I_{max} , le maximum du spectre observé serait le même que sans lames $\lambda/4$. Or ici les lames ne se compensent pas parfaitement et nous sommes obligés de réduire la puissance incidente I_0 de manière à ne

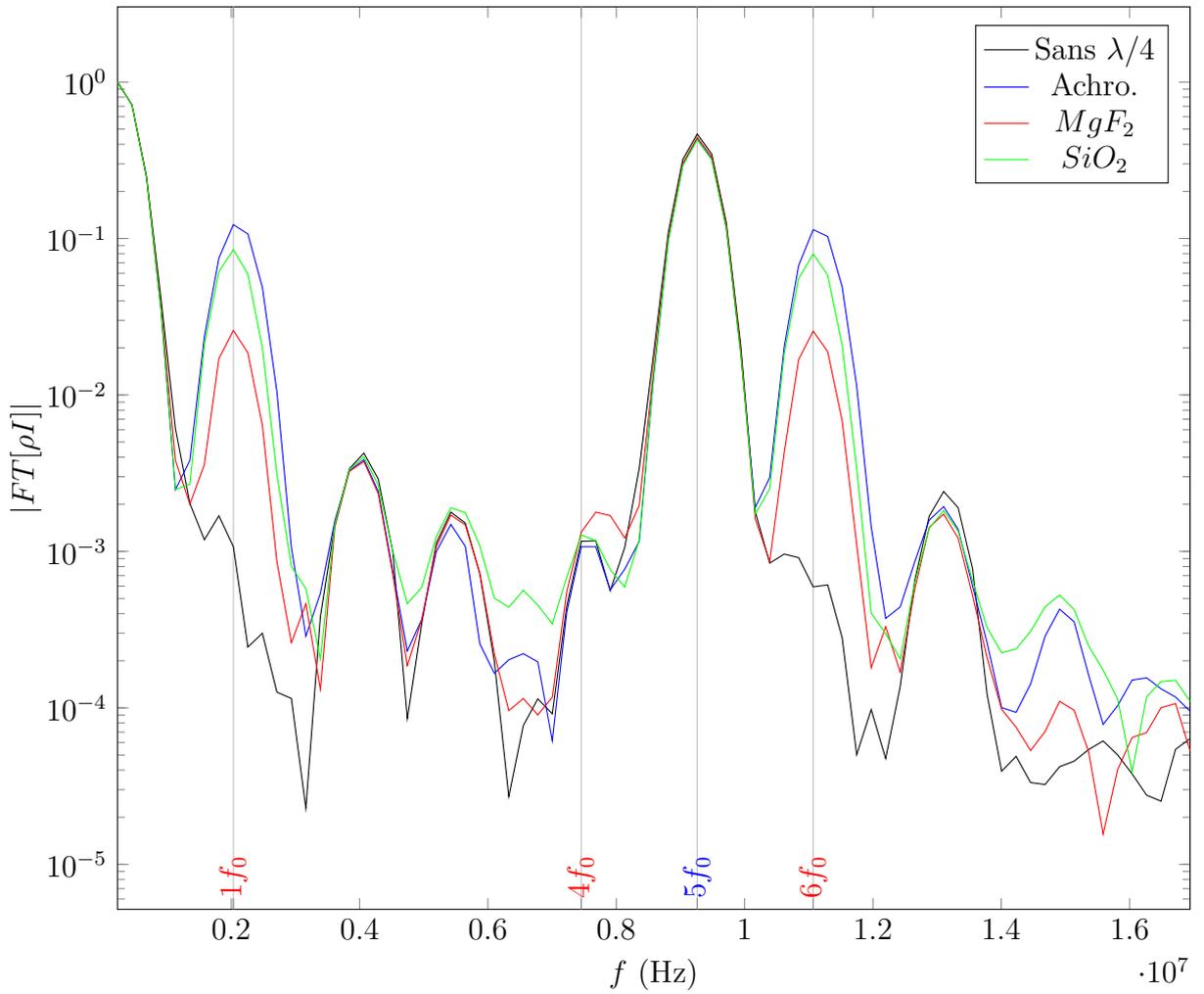


FIGURE II.3.5 – Valeur absolue de la transformée de Fourier des spectres cannelés acquis avec $\beta = 0.5^\circ$ pour une lame $\lambda/4$ (une seule lame) : une lame achromatique, une lame vrai ordre 0 en fluorure de magnésium MgF_2 et une lame vrai ordre 0 en quartz SiO_2 ; ainsi que sans lames $\lambda/4$ (Courbes normalisées par rapport à la composante continue I_{DC}).

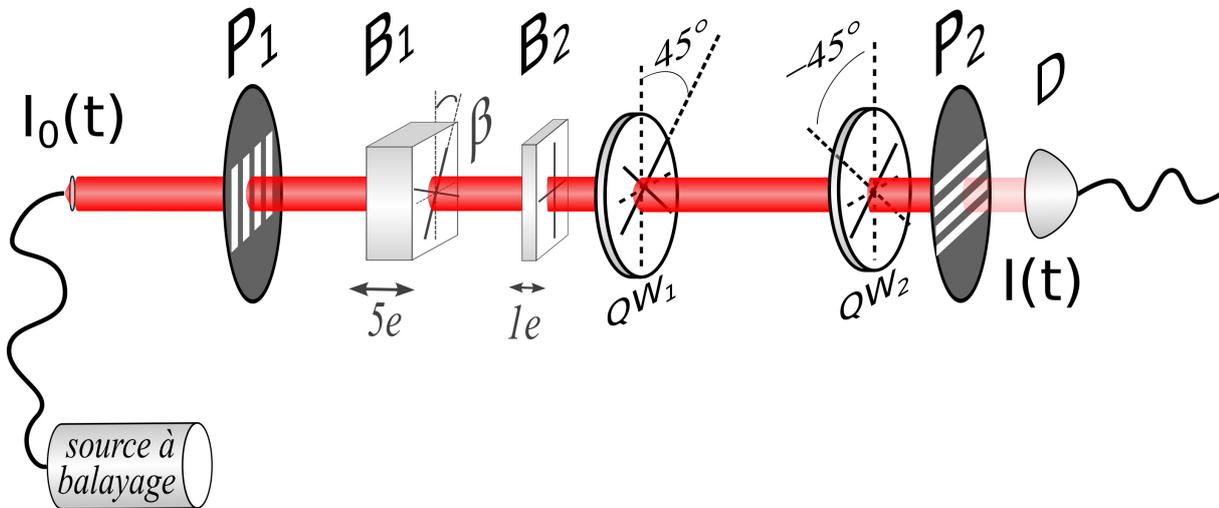


FIGURE II.3.6 – Montage pour la vérification de la compensation de deux lames $\lambda/4$, QW_1 et QW_2 , orientées respectivement à -45° et $+45^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur P_1 .

pas saturer le détecteur, c'est-à-dire pour garder $I_{max} \approx I_{sat}$. Or cela nous éloigne d'une configuration sur fond noir. Plus la valeur I_0 est forte, meilleure est la compensation des lames $\lambda/4$.

Les valeurs de I_0 ajustées de manière à ne pas saturer le détecteur sont reportées sur la figure II.3.8, sans lames $\lambda/4$ et pour des lames $\lambda/4$: achromatiques compensées $SiO_2 + MgF_2$, vrai ordre 0 en fluorure de magnésium MgF_2 et en quartz SiO_2 .

D'après ces valeurs, nous avons choisi d'utiliser les lames $\lambda/4$ en quartz SiO_2 pour être au plus près d'une configuration sur fond noir. Ce sont en effet celles qui se compensent le mieux et qui donc nécessitent de réduire le moins la puissance incidente I_0 . Le pouvoir rotatoire résiduel de ces lames pourra être considéré comme une erreur systématique.

Nous allons à présent simuler l'impact des imperfections des lames $\lambda/4$ sur la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth.

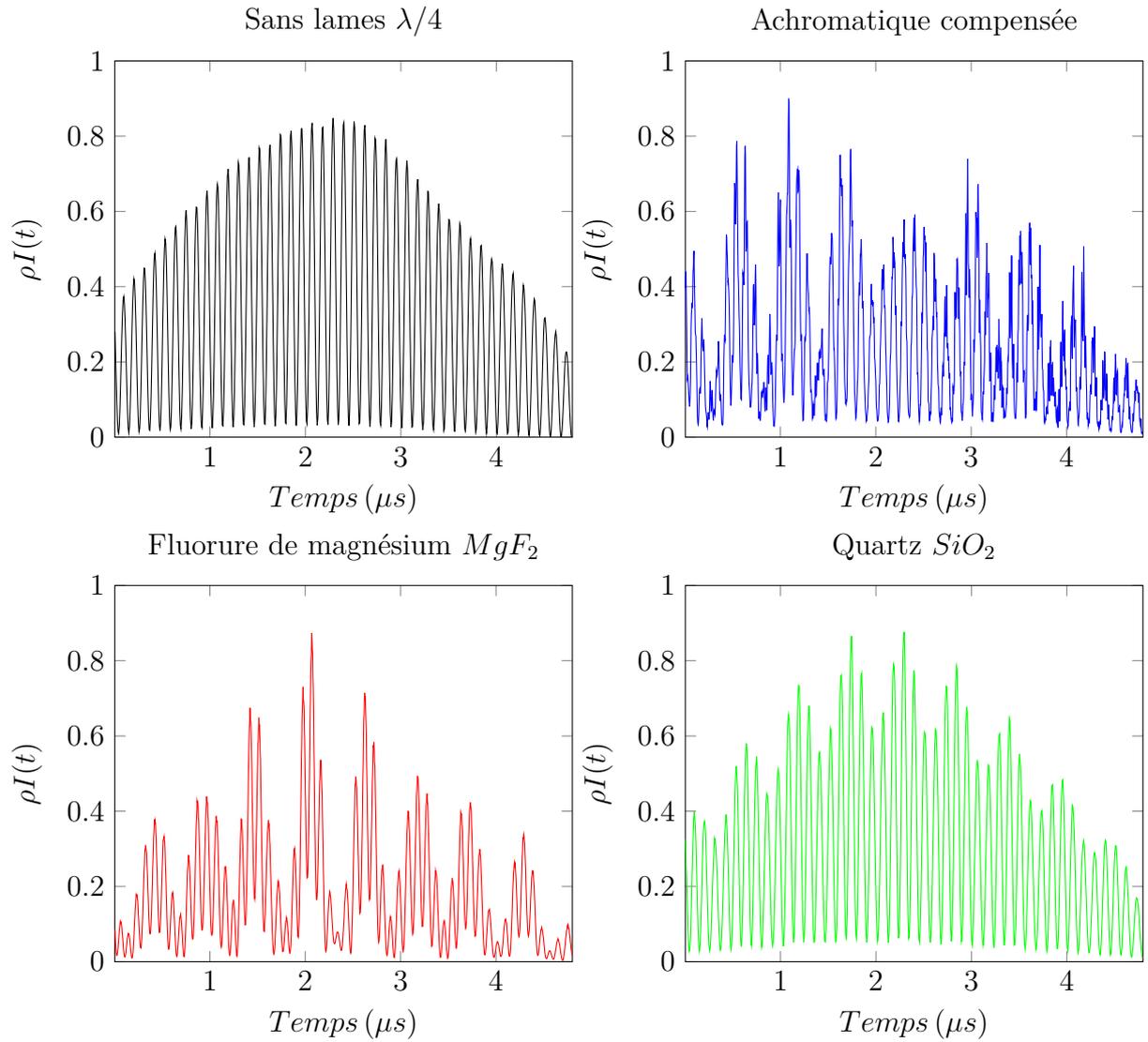


FIGURE II.3.7 – Spectres cannelés acquis avec deux lames $\lambda/4$ (à -45° et $+45^\circ$) : deux lames achromatiques compensées, deux lames en fluorure de magnésium MgF_2 et deux lames en quartz SiO_2 , avec $\beta = 0.46^\circ$; ainsi que sans lame $\lambda/4$

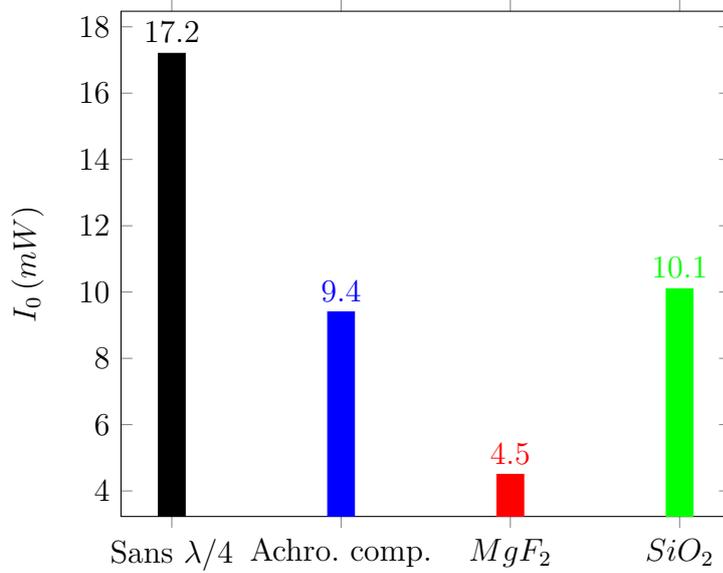


FIGURE II.3.8 – Puissance incidente I_0 (mW) ajustée de manière à ne pas saturer le détecteur pour $\beta = 0.5^\circ$, avec deux lames $\lambda/4$, à -45° et $+45^\circ$: deux lames achromatiques, deux lames en fluorure de magnésium MgF_2 , deux lames en quartz SiO_2 , ainsi que sans lame $\lambda/4$

II.3.3 Erreurs systématiques, méthodes de compensation et stabilité temporelle

II.3.3.1 Influence de la largeur spectrale de la source à balayage sur la mesure de la retardance linéaire

Nous avons vu que la mesure polarimétrique par codage spectral a l'avantage de paralléliser la génération et l'analyse des états de polarisation en associant chaque état de polarisation à une longueur d'onde. Toutefois, la mesure n'a de sens qu'en supposant que la retardance du milieu biréfringent est identique sur tout le spectre de la source à balayage et nous avons jusqu'à présent considéré que tel était le cas.

En réalité, LR_{milieu} , la retardance linéaire induite par le milieu anisotrope dépend de la fréquence optique ν selon l'équation II.3.9.

$$LR_{milieu}(\nu) = \frac{\nu}{\nu_0}(LR_{milieu}(\nu_0) + 2\pi p) \quad (\text{II.3.9})$$

où ν_0 est la fréquence optique centrale de la source à balayage, p l'ordre du milieu et

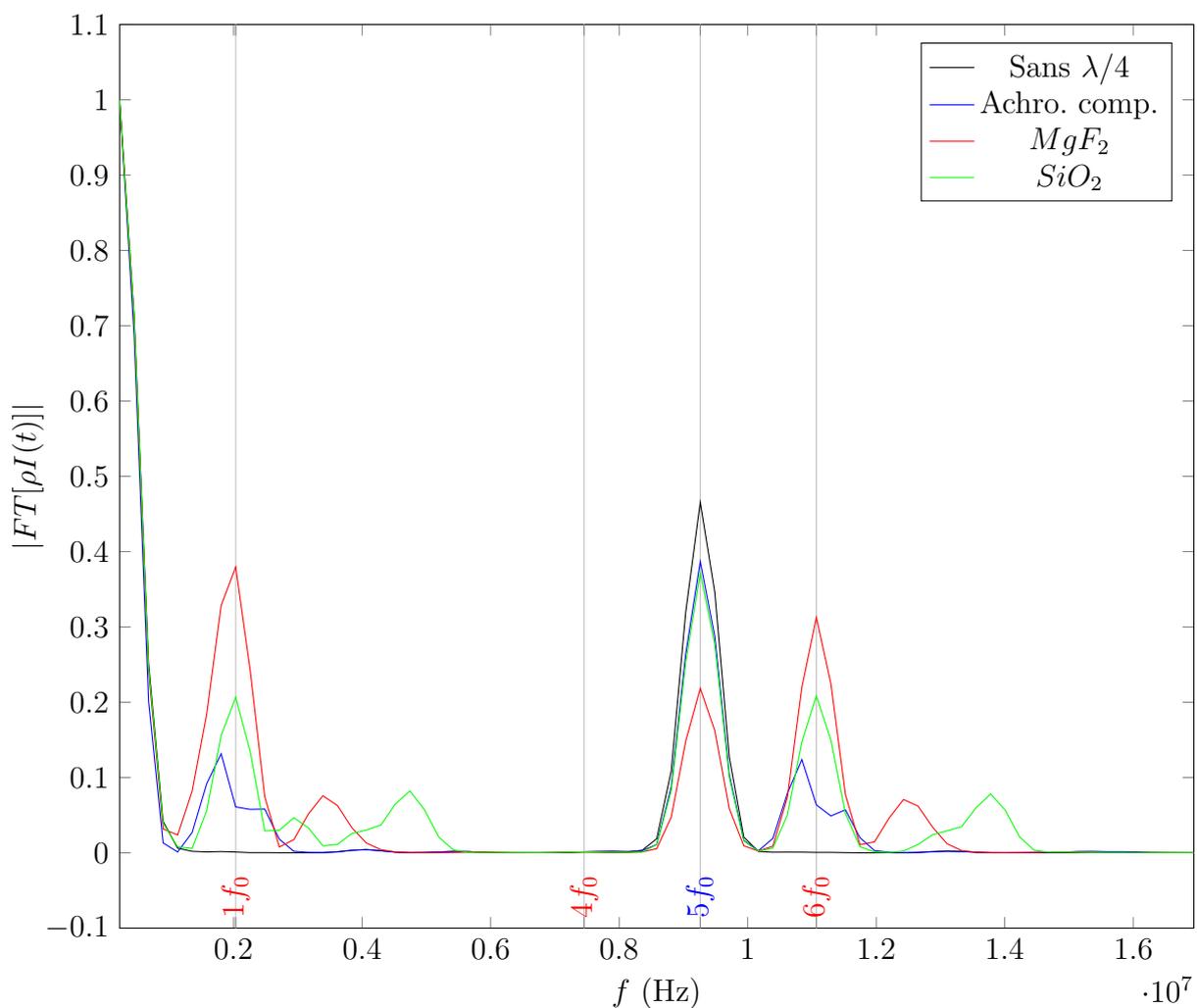


FIGURE II.3.9 – Valeur absolue de la transformée de Fourier des spectres cannelés acquis avec deux lames $\lambda/4$ (à -45° et $+45^\circ$) : deux lames achromatiques compensées, deux lames en MgF_2 et deux lames SiO_2 , avec $\beta = 0.46^\circ$; ainsi que sans lames

$LR_{milieu(\nu_0)}$ la retardance linéaire du milieu définie entre 0 et π à ν_0 . La dispersion des indices de réfraction n'est pas considérée ici.

Sur la figure II.3.10, nous avons simulé la mesure de la retardance linéaire pour $LR_{milieu(\nu_0)} = 0.1^\circ$ et $\beta = 0.5^\circ$, avec une source à balayage en fréquence optique dont le spectre est centré à 1060 nm et possède une largeur spectrale de 110 nm .

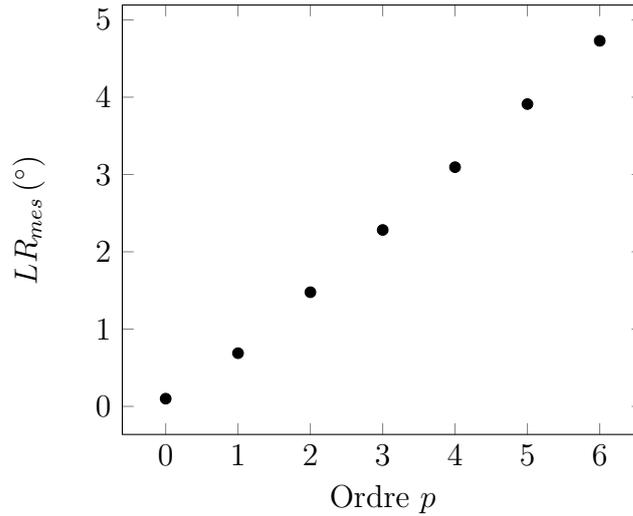


FIGURE II.3.10 – Simulations de la retardance linéaire mesurée $LR_{mes} (^\circ)$ selon l'ordre p d'un milieu biréfringent linéaire, avec $LR_{milieu(\nu_0)} = 0.1^\circ$ à 1060 nm .

Selon la valeur de l'ordre p , c'est-à-dire l'épaisseur du milieu, l'erreur entre la valeur mesurée et la valeur théorique augmente et pour un milieu d'ordre zéro, cette erreur est de $\delta LR = 2.2 \cdot 10^{-4}^\circ$ avec $LR_{milieu(\nu_0)} = 0.1^\circ$ et $\beta = 0.5^\circ$.

Cette erreur est aussi présente dans une moindre mesure pour les milieux d'ordre 0. Pour la mettre en évidence, nous avons simulé la mesure de la retardance linéaire pour des retardances allant de 0° à 10° en fonction de la largeur spectrale de la source à balayage, soit 110 nm , 50 nm et 25 nm autour d'une même longueur d'onde centrale de 1060 nm . Dans cette simulation, les épaisseurs des lames de codage sont ajustées de manière à conserver le même nombre de périodes (6 périodes entières de la modulation à la fréquence f_0) pour chaque largeur spectrale et le même nombre de canaux d'échantillonnages (994 canaux). La figure II.3.11 présente la différence entre la valeur théorique $LR_{milieu(\nu_0)}$ et la valeur mesurée LR_{mes} .

Comme attendu, la différence entre la valeur de la retardance linéaire mesurée et la valeur théorique diminue lorsque la largeur de la bande spectrale de la source rétrécit.

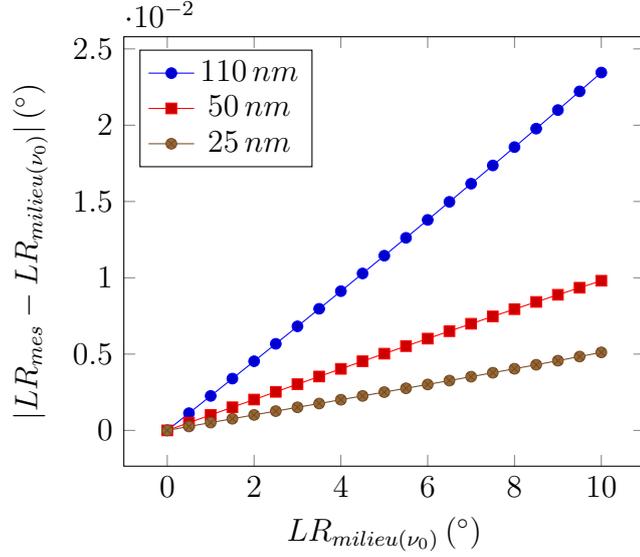


FIGURE II.3.11 – Simulations de la différence entre la valeur de la retardance linéaire mesurée et la valeur théorique $|LR_{mes} - LR_{milieu}(\nu_0)|$ (°) en fonction de la largeur spectrale de la source à balayage, avec $LR_{milieu}(\nu_0)$ allant de 0° à 10° et $\beta = 0.5^\circ$

II.3.3.2 Simulation de l'influence des imperfections des lames $\lambda/4$

Afin de comprendre l'impact des imperfections des lames $\lambda/4$ sur la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth, nous simulons notre dispositif de mesure de la retardance linéaire avec les paramètres suivants :

- Angle de biais : $\beta = 0.5^\circ$.
- Épaisseurs des lames de codage : $1e = 0.4 \text{ mm}$ et $5e = 2 \text{ mm}$.
- Biréfringence des lames de codage (YVO_4 à $\lambda = 1060 \text{ nm}$) : $\Delta n = 0.2079$, en considérant Δn constant sur la bande spectrale d'analyse.
- Longueur d'onde minimale $\lambda_{min} = 1005 \text{ nm}$ et longueur d'onde maximale $\lambda_{max} = 1115 \text{ nm}$ de la bande spectrale d'analyse, soit une largeur de la bande spectrale d'analyse $\Delta\lambda = 1115 - 1005 = 110 \text{ nm}$ et une longueur d'onde centrale $\lambda_0 = (1115 - 1005)/2 = 1060 \text{ nm}$.
- 994 canaux d'échantillonnage (6 périodes entières de la modulation à la fréquence f_0).
- Retard optique du milieu d'étude : $\Delta ne = 1 \text{ nm}$, soit une retardance linéaire de $LR \approx 0.345^\circ$ à $\lambda_0 = 1060 \text{ nm}$.

Puisqu'expérimentalement il est plus facile de faire varier la valeur de l'azimut que celle de l'amplitude de la retardance linéaire d'un milieu d'étude (il suffit de le tourner), nous simulons la mesure d'un milieu d'étude dont l'amplitude de la retardance linéaire est constante et dont l'azimut α varie de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5° .

Simulations avec des lames $\lambda/4$ achromatiques, d'épaisseurs identiques

Nous simulons d'abord notre dispositif de mesure de la retardance linéaire avec des lames $\lambda/4$ parfaites (figure II.3.12), c'est à dire parfaitement alignées, achromatiques sur la bande spectrale d'analyse et d'épaisseurs identiques, le retard optique de chaque lame est égal à $(\Delta ne)_{QW_1} = (\Delta ne)_{QW_2} = \lambda_0/4$.

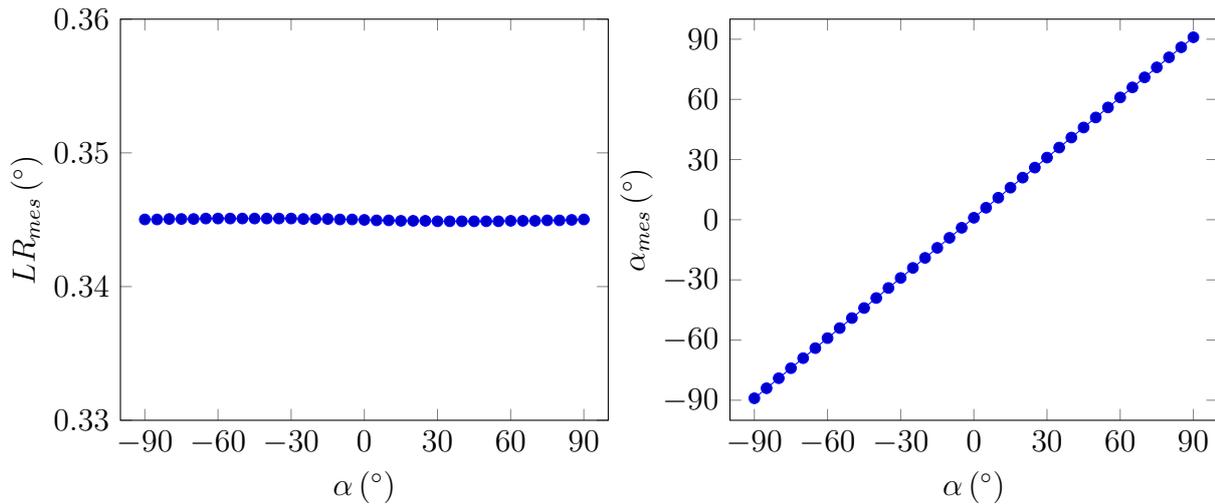


FIGURE II.3.12 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} (en $^\circ$) et de l'azimut α_{mes} (en $^\circ$), simulées avec des lames $\lambda/4$ parfaites, pour une retardance linéaire de $LR = 0.345^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5°

Les résultats obtenus sont conformes à ceux attendus théoriquement, à savoir que l'amplitude de la retardance linéaire ne varie pas lorsque l'azimut de la retardance varie et que l'azimut de la retardance mesurée α_{mes} est égale à l'azimut de la retardance simulée α . Cela valide le programme de simulation. Regardons à présent l'effet des différents écarts à la théorie.

Simulations de lames $\lambda/4$ d'ordre 0, 1 et 2

Le retard optique des lames $\lambda/4$ est à présent égal à $(\Delta ne)_{QW_1} = (\Delta ne)_{QW_2} = \lambda_0/4 + \lambda_0 p$, avec p l'ordre des lames $\lambda/4$.

Notre dispositif de mesure de la retardance linéaire est simulé avec des lames $\lambda/4$ achromatiques (parfaites) ainsi qu'avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0, 1 et 2 et les résultats sont présentés figure II.3.13.

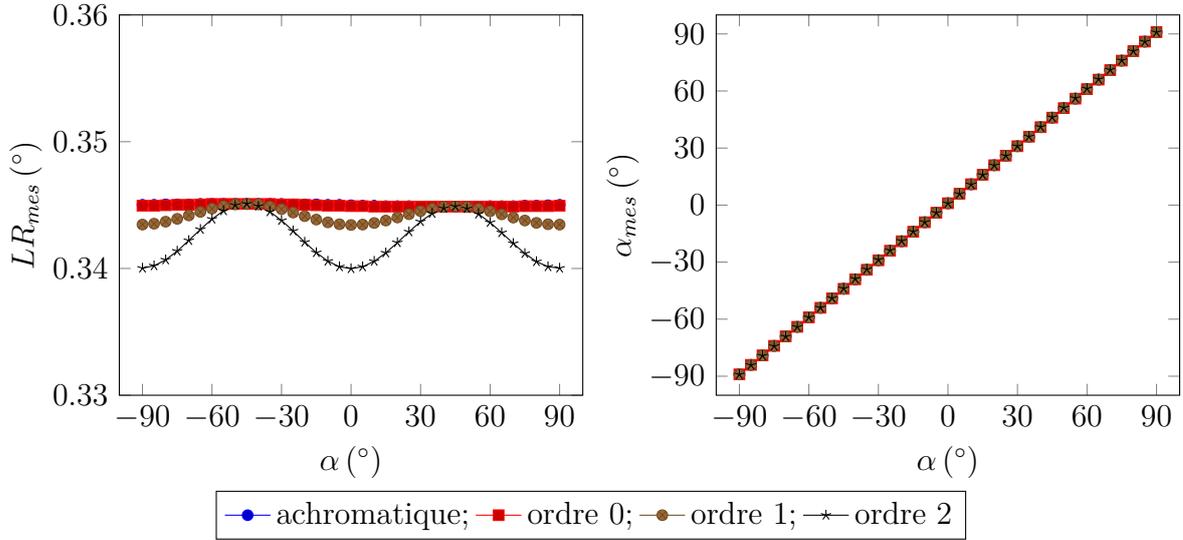


FIGURE II.3.13 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} (en $^\circ$) et de l'azimut α_{mes} (en $^\circ$), simulées avec des lames des lames $\lambda/4$ achromatiques (parfaites) ainsi qu'avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0, 1 et 2, pour une retardance linéaire de $LR = 0.345^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5°

Nous constatons qu'il n'y a pas de différence significative entre des lames $\lambda/4$ achromatiques (parfaites) et des lames $\lambda/4$ d'ordre 0. Ceci valide le choix d'utiliser des lames $\lambda/4$ d'ordre 0 pour l'implémentation expérimentale du dispositif.

Simulations de lames d'ordre 0, de retards optiques identiques mais différents de $\lambda_0/4$

Puisque notre source laser balaie en longueur d'onde sur une bande spectrale de 110 nm , nous cherchons à vérifier que la variation du déphasage des lames $\lambda/4$ d'ordre 0 ne dégrade pas la mesure lorsque la longueur d'onde n'est plus égale à la longueur d'onde centrale λ_0 .

Pour ce faire nous simulons le dispositif de mesure de la retardance linéaire avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0, identiques et dont le retard optique est décalé par rapport à $\lambda_0/4$ telle que $(\Delta ne)_{QW_1} = (\Delta ne)_{QW_2} = \lambda_0/4 + \Delta_{QW}$, avec Δ_{QW} égale à 0 nm , 5 nm , 10 nm et 15 nm par rapport à $\lambda_0/4$ et nous présentons les résultats figure II.3.14.

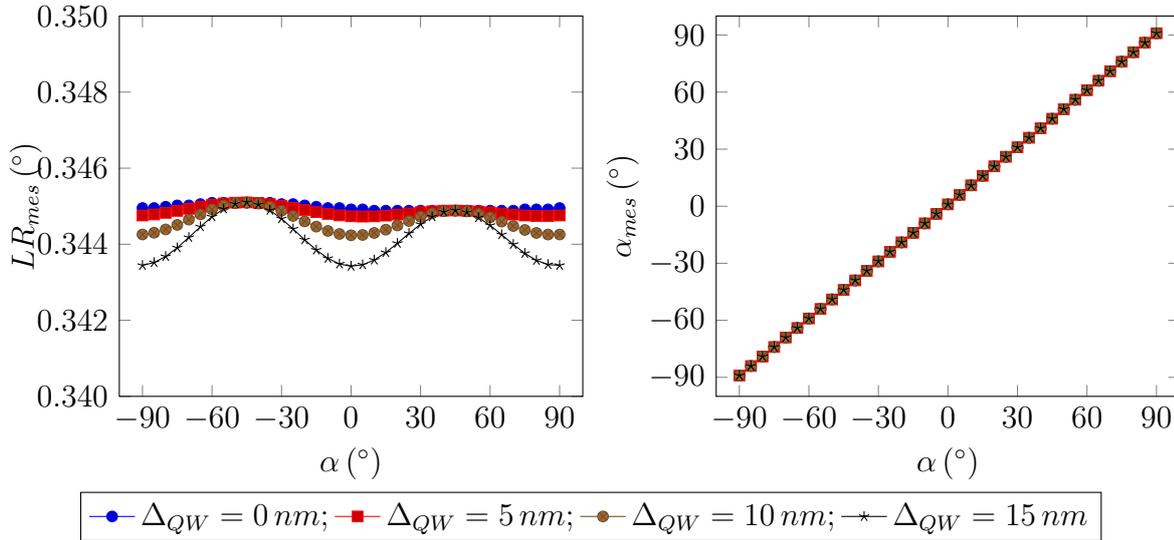


FIGURE II.3.14 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} (en $^\circ$) et de l'azimut α_{mes} (en $^\circ$), simulées avec des lames d'ordre 0 dont le retard optique est décalé par rapport à $\lambda_0/4$ de 0 nm , 5 nm , 10 nm et 15 nm , pour une retardance linéaire de $LR = 0.34^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5°

Nous constatons que la variation du retard optique des lames $\lambda/4$ n'a qu'un impact limité sur la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth, dans le cas de lames $\lambda/4$ d'ordre 0.

Simulations de lames d'ordre 0, de retards optiques différents

La précision sur le retard optique d'une lame $\lambda/4$ est typiquement de $\Delta_{QW} \approx 3\text{ nm}$.

Aussi nous simulons le dispositif de mesure de la retardance linéaire avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0 présentant un retard optique différent, c'est à dire qu'elles ne sont plus d'épaisseurs identiques, tel que $(\Delta ne)_{QW_1} = \lambda_0/4$ et $(\Delta ne)_{QW_2} = \lambda_0/4 + \Delta_{QW_2}$, avec la différence de retard optique entre les deux lames Δ_{QW_2} de 0 nm , 1 nm , 2 nm et 3 nm . Les résultats sont affichés sur la figure II.3.15.

Nous constatons une très forte influence de la non-compensation des lames $\lambda/4$. Il s'agit là d'une limitation importante.

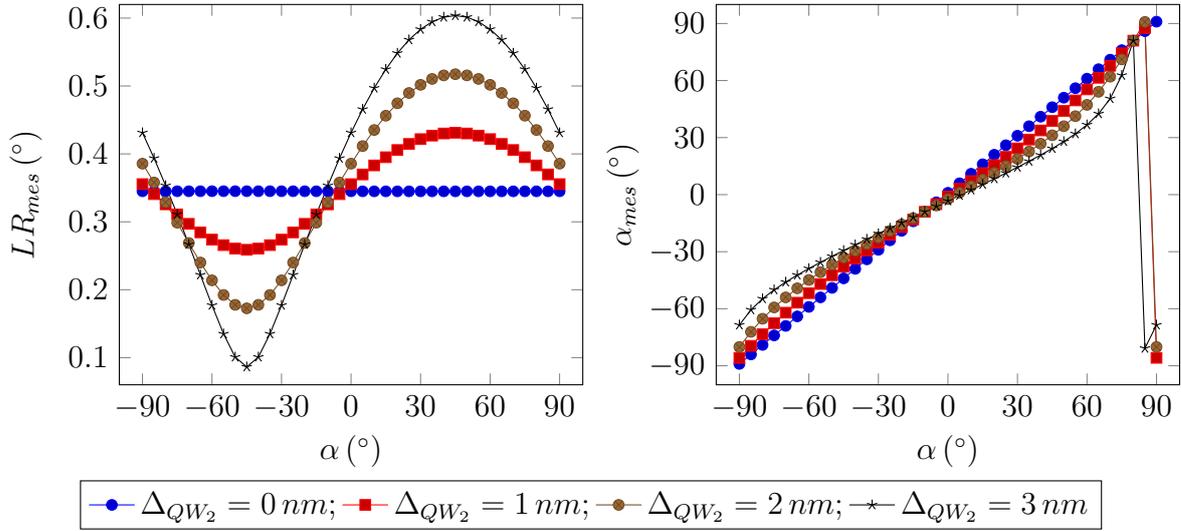


FIGURE II.3.15 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} (en $^\circ$) et de l'azimut α_{mes} (en $^\circ$), simulées avec des lames d'ordre 0 avec une différence de retard optique entre les deux lames Δ_{QW_2} de 0 nm, 1 nm, 2 nm et 3 nm, pour une retardance linéaire de $LR = 0.34^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5°

Simulations du désalignement des lames $\lambda/4$

Nous simulons le dispositif de mesure de la retardance linéaire avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0 désalignées entre elles, avec $\delta_{\theta_{QW_1}} = 0^\circ$ et $\delta_{\theta_{QW_2}}$ de 0° , 0.001° , 0.01° et 0.1° (figure II.3.16).

Nous constatons une forte influence du désalignement des lames $\lambda/4$. Idéalement, il faudrait pouvoir aligner les lames $\lambda/4$ avec une précision meilleure que $1/100^\circ$, ce qui est difficile en pratique.

Simulations de lames $\lambda/4$ présentant un pouvoir rotatoire

Nous avons vu que certains matériaux comme le quartz présentent, outre de la biréfringence linéaire, du pouvoir rotatoire. Nous simulons donc l'impact de lames $\lambda/4$ d'ordre 0 présentant chacune un pouvoir rotatoire identique, tel que $\theta_{QW} = 0^\circ$, 0.002° , 0.01° et 0.05° .

Nous constatons que la présence d'un pouvoir rotatoire supplémentaire sur les lames $\lambda/4$ a également une forte influence. Idéalement, il est donc préférable de travailler avec lames fabriquées dans un matériau ne présentant pas de pouvoir rotatoire.

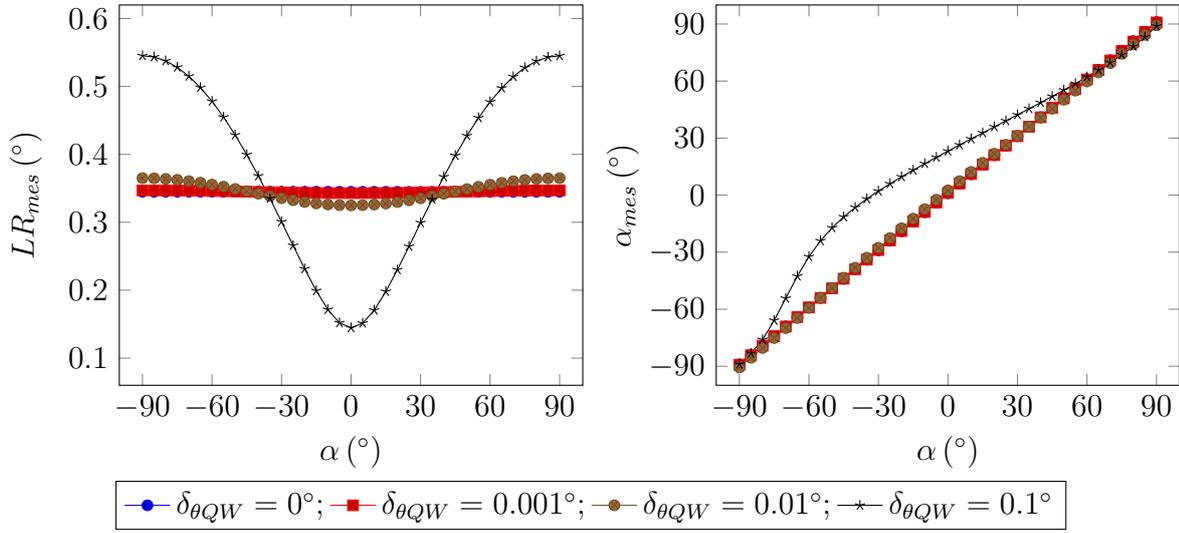


FIGURE II.3.16 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} (en $^\circ$) et de l'azimut α_{mes} (en $^\circ$), simulées avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0 désalignées entre elles de $\delta_{\theta_{QW_2}}$ de 0° , 0.001° , 0.01° et 0.1° , pour une retardance linéaire de $LR = 0.34^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5°

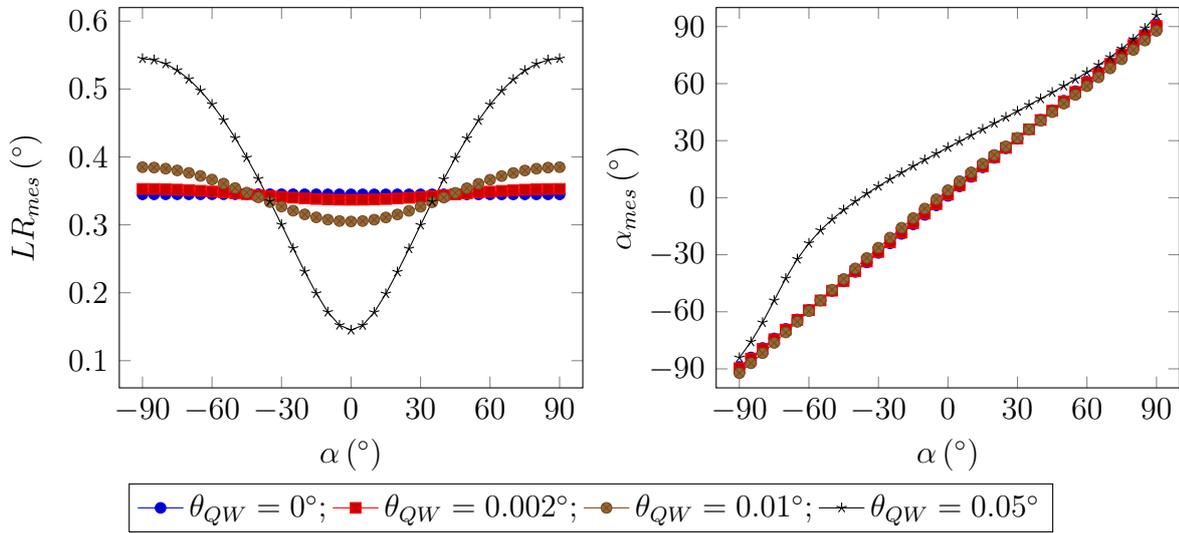


FIGURE II.3.17 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} (en $^\circ$) et de l'azimut α_{mes} (en $^\circ$), simulées avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0 présentant un pouvoir rotatoire θ_{QW} de 0° , 0.002° , 0.01° et 0.05° , pour une retardance linéaire de $LR = 0.34^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5°

II.3.3.3 Évaluation analytique de l'impact des erreurs systématiques et procédure de correction

Évaluation analytique de l'impact des erreurs systématiques

De la même manière que pour le pouvoir rotatoire, afin d'étudier l'impact des erreurs systématiques sur la précision de la mesure de notre dispositif, nous notons δ_n , les erreurs systématiques que nous considérons faibles. Ces erreurs peuvent correspondre aux désalignements des éléments optiques (lames B_1 et B_2 , analyseur P_2 et lames $\lambda/4$ QW_1 et QW_2) et aux erreurs d'épaisseurs des lames $\lambda/4$. Nous pouvons alors réécrire les pics $F_5(LR, \delta_n)$ et $F_6(LR, \delta_n)$ en fonction de LR et de δ_n par une approximation d'un polynôme de Taylor de second ordre tel que :

$$F_5(LR, \delta_n) = F_5^{BG} + \frac{\partial F_5}{\partial LR}(0, 0) LR + \sum_n \frac{\partial^2 F_5}{\partial LR \partial \delta_n}(0, 0) LR \delta_n \quad (\text{II.3.10})$$

$$F_6(LR, \delta_n) = F_6^{BG} + \frac{\partial F_6}{\partial LR}(0, 0) LR + \sum_n \frac{\partial^2 F_6}{\partial LR \partial \delta_n}(0, 0) LR \delta_n \quad (\text{II.3.11})$$

en ne gardant que le premier ordre de LR et avec F_5^{BG} et F_6^{BG} , l'amplitude complexe des pics F_5 et F_6 sans milieu d'étude, telles que :

$$F_5^{BG} = F_5(0, 0) + \sum_n \frac{\partial F_5}{\partial \delta_n}(0, 0) \delta_n + \frac{1}{2} \sum_n \frac{\partial^2 F_5}{\partial \delta_n^2}(0, 0) \delta_n^2 \quad (\text{II.3.12})$$

$$F_6^{BG} = F_6(0, 0) + \sum_n \frac{\partial F_6}{\partial \delta_n}(0, 0) \delta_n + \frac{1}{2} \sum_n \frac{\partial^2 F_6}{\partial \delta_n^2}(0, 0) \delta_n^2 \quad (\text{II.3.13})$$

En négligeant $\beta^2 LR$ devant βLR , nous obtenons pour une faible retardance linéaire :

$$F_5 \approx F_5^{BG} \propto -(1 - 3\epsilon^2)\beta^2(1 + \sum_n u_n(\beta, \delta_n))e^{j5\phi_0} \quad (\text{II.3.14})$$

$$F_6 - F_6^{BG} \propto -\frac{1}{2}(1 - 3\epsilon^2)LR\beta(1 + v(\beta, \delta_{\theta B_1}))e^{j2\alpha - \delta_{\theta QW_1}}e^{j6\phi_0} \quad (\text{II.3.15})$$

où u_n et v sont des fonctions réelles qui tendent vers 0 sans erreurs systématiques, $\delta_{\theta B_1}$ est l'erreur d'orientation sur la lame B_1 et $\delta_{\theta QW_1}$, l'erreur d'orientation sur la première lame $\lambda/4 QW_1$.

Le rapport γ_{BG} , qui correspond à une mesure à vide, s'écrit :

$$\gamma_{BG} = \frac{F_6^{BG}}{F_5^{BG}} e^{-\frac{j}{a} \text{Arg}[-F_5^{BG}]} \quad (\text{II.3.16})$$

Nous pouvons alors calculer le ratio corrigé γ_{corr} , tel que :

$$\gamma_{corr} = \gamma - \gamma_{BG} = \frac{w_{LR} LR}{2\beta} e^{j2(\alpha - \delta_{\theta QW_1})} \quad (\text{II.3.17})$$

avec $w_{LR} = (1 + v)/(1 + \sum_n u_n)$, qui peut s'écrire :

$$w_{LR} = \frac{1 + \delta_{\theta B_1}/\beta}{(1 + \delta_{\theta B_1}/\beta)^2 - 2(\delta_{\theta P_2}^2 + \delta_{\theta QW_1}^2 + \delta_{\theta QW_2}^2 + 4\delta_{\theta B_1}^2 + 2\delta_{\theta B_2}^2) - (\delta_{QW_1}^2 + \delta_{QW_2}^2) - \delta_{\theta B_2}/\beta} \quad (\text{II.3.18})$$

avec $\delta_{\theta B_1}$, $\delta_{\theta B_2}$, $\delta_{\theta QW_1}$, $\delta_{\theta QW_2}$ et $\delta_{\theta P_2}$, respectivement les erreurs d'orientation des lames B_1 et B_2 , des lames $\lambda/4 QW_1$ et QW_2 ainsi que de l'analyseur P_2 ; δ_{QW_1} et δ_{QW_2} , les erreurs de retardances dues aux erreurs d'épaisseurs sur les lames QW_1 et QW_2 .

Les erreurs $\delta_{\theta B_1}$ et $\delta_{\theta P_2}$ sont estimées être égales à environ 0.01° car leur réglage se fait en minimisant en temps réel le pic F_6 , en profitant de la sensibilité de la mesure sur fond noir. Nous sommes tout de même limités par l'imprécision liée aux supports de rotation manuels. L'erreur $\delta_{\theta B_2}$ est également estimée à 0.01° , ce qui correspond à la précision de la platine de rotation motorisée.

Les erreurs d'orientation des lames $\lambda/4 \delta_{\theta QW_1}$ et $\delta_{\theta QW_2}$ sont bien plus importantes et sont estimées être égales à environ 0.5° , car le réglage de ces lames se fait sur fond clair du fait de leurs orientations à $\pm 45^\circ$ et il est moins précis de repérer le maximum. Toutefois la différence $(\delta_{\theta QW_1} - \delta_{\theta QW_2})$ est de l'ordre de 0.01° car ce réglage se fait sur fond noir (extinction).

Une autre source importante d'erreur vient des retardances δ_{QW_1} et δ_{QW_2} dues aux erreurs d'épaisseurs des lames QW_1 et QW_2 . Cette erreur est estimée être égale à $\Delta_{QW} = \lambda/300 \approx 3 \text{ nm}$ (spécifiée par le fabricant), soit une retardance équivalente à $\delta_{QW} = 1.02^\circ$ (à 1060 nm). Par ailleurs, les lames $\lambda/4$ choisies sont de type ordre 0, ce qui limite l'influence de la dispersion chromatique.

Enfin, la prise en compte de lames $\lambda/4$ présentant un pouvoir rotatoire étant complexe analytiquement, nous ne l'avons pas inclus dans ce modèle simplifié.

Correction par soustraction d'une mesure à vide

Un élément particulièrement intéressant apparaît avec l'expression de γ_{corr} . Nous constatons d'après l'équation II.3.17 qu'en soustrayant à notre mesure γ une mesure à vide γ_{BG} , c'est-à-dire réalisée sans milieu d'étude, nous pouvons éliminer une partie de l'influence des erreurs systématiques et ainsi découpler la mesure de l'amplitude de la retardance de celle de son azimuth.

Afin de tester la validité de cette méthode, nous simulons le dispositif pour une retardance linéaire de $LR = 0.34^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5° , en ajoutant de multiples erreurs systématiques : $\delta_{\theta_{B_2}} = 0.05^\circ$, $\Delta_{QW_1} = 3 \text{ nm}$, $\delta_{\theta_{QW_2}} = 0.1^\circ$ et $\delta_{\theta_{P_2}} = -0.01^\circ$ et nous affichons les résultats sur la figure II.3.18.

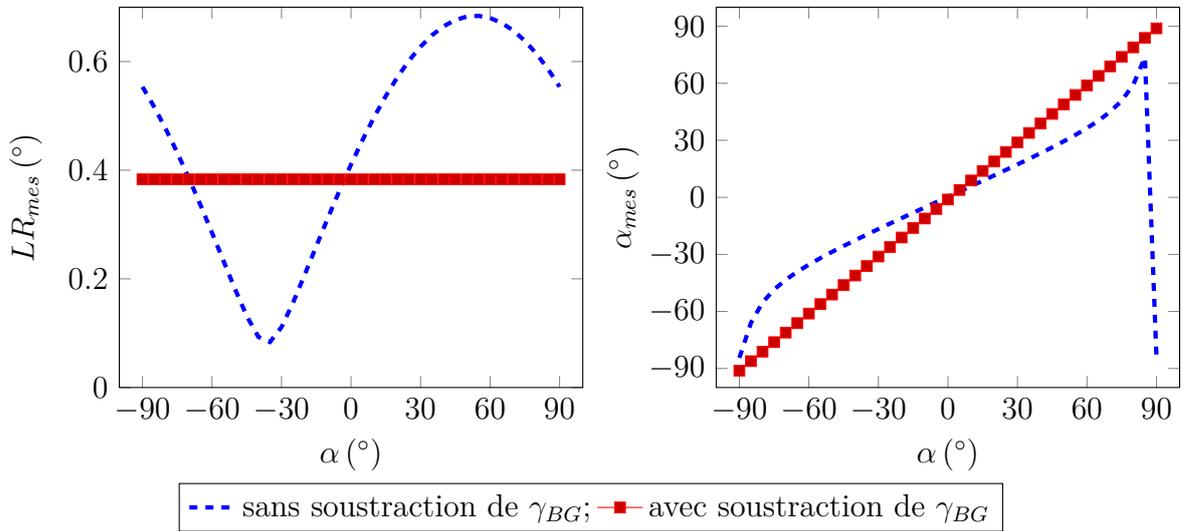


FIGURE II.3.18 – Mesures de la retardance linéaire de LR_{mes} ($^\circ$) et de l'azimut θ_{mes} ($^\circ$) simulées avec des lames $\lambda/4$ d'ordre 0, avec $\delta_{\theta_{B_2}} = 0.05^\circ$, $\Delta_{QW_1} = 3 \text{ nm}$, $\delta_{\theta_{QW_2}} = 0.1^\circ$ et $\delta_{\theta_{pol}} = -0.01^\circ$, pour une retardance linéaire de $LR = 0.34^\circ$ et α allant de -90° à $+90^\circ$ par pas de 5° ; en rouge : avec correction ; en bleu : sans correction

Nous pouvons constater sur la figure II.3.18 qu'avec la soustraction d'une mesure à vide, il est bien possible de corriger l'essentiel des erreurs systématiques et donc de découpler la mesure de l'amplitude de la retardance et celle de son azimuth. Un biais sur la valeur de la retardance linéaire d'environ $3.8 \cdot 10^{-2}^\circ$ persiste, associé au coefficient w_{LR} .

Pour $\beta = 0.5^\circ$ et avec $\delta_{\theta B_2} = 0.05^\circ$, $\Delta_{QW_1} = 3 \text{ nm}$, $\delta_{\theta QW_2} = 0.1^\circ$ et $\delta_{\theta P_2} = -0.01^\circ$, nous obtenons à partir de l'équation II.3.18 la valeur $w_{LR} = 1.11$, soit $\delta\theta = (w_{LR} - 1)\theta = (1.11 - 1) \times 0.34 = 3.8 \cdot 10^{-2}$, ce qui correspond bien au biais constaté sur la valeur de la retardance linéaire.

En pratique, ces erreurs systématiques pouvant s'additionner ou se compenser (cf. équation II.3.18), il est difficile d'évaluer w_{LR} sans un étalon de référence. Or pour bien faire, il faut que la précision de l'étalon soit de l'ordre de grandeur de la résolution du dispositif. Cette résolution étant très faible, nous n'avons pas trouvé d'étalon satisfaisant pour réaliser une évaluation pertinente de w_{LR} .

II.3.3.4 Influence des erreurs systématiques sur la résolution et compensation par l'ajout d'une 3ème lame $\lambda/4$

Influence des erreurs systématiques sur la résolution

A cause de la présence des erreurs systématiques, la valeur de γ_{BG} (cf. équation II.3.17) n'est pas nulle et cela a un impact sur l'écart-type de la mesure. En effet, d'après l'équation II.3.17, nous pouvons écrire l'écart type du rapport corrigé γ_{corr} de la manière suivante :

$$\Delta|\gamma_{corr}| = \frac{w_{LR} \Delta LR}{2\beta} \quad (\text{II.3.19})$$

avec $\Delta|\gamma_{corr}|$, l'écart-type de $|\gamma_{corr}|$.

Cet écart-type est relié à l'écart-type de $|\gamma|$ et de $|\gamma_{BG}|$, respectivement le rapport calculé avec et sans milieu (référence), par la relation :

$$(\Delta|\gamma_{corr}|)^2 = (\Delta|\gamma|)^2 + (\Delta|\gamma_{BG}|)^2 \quad (\text{II.3.20})$$

Si nous considérons que $|\gamma|$ et $|\gamma_{BG}|$ ne sont pas corrélés alors $\Delta|\gamma| = \Delta|\gamma_{BG}|$, et nous obtenons alors :

$$(\Delta|\gamma_{corr}|)^2 = 2(\Delta|\gamma|)^2 \quad (\text{II.3.21})$$

D'autre part, puisque que $|\gamma| = |F_6/F_5|$, nous avons :

$$\left(\frac{\Delta|\gamma|}{|\gamma|}\right)^2 = \left(\frac{\Delta|F_5|}{|F_5|}\right)^2 + \left(\frac{\Delta|F_6|}{|F_6|}\right)^2 \quad (\text{II.3.22})$$

Ceci conduit à :

$$\Delta|\gamma| = \frac{\Delta F}{|F_5|} \sqrt{1 + |\gamma|^2} \quad (\text{II.3.23})$$

avec $\Delta F = \Delta F_5 = \Delta F_6$, l'écart-type de l'amplitude des pics F_5 et F_6 , considérés également comme non-corrélés.

En présence d'erreurs systématiques, le rapport $|\gamma_{BG}|$ n'est pas nul, même en l'absence d'échantillon. L'écart-type $\Delta|\gamma|$ augmente donc et cela affecte la résolution de la mesure, suivant la relation :

$$\Delta LR = 2\sqrt{2} \frac{\beta}{w_{LR}} \frac{\Delta F}{|F_5|} \sqrt{1 + |\gamma_{BG}|^2} \quad (\text{II.3.24})$$

Les solutions numériques ne sont pas efficaces pour réduire l'influence de $|\gamma_{BG}|$ sur la résolution. Il convient donc d'élaborer une manière de compenser physiquement cette influence.

Compensation avec une 3ème lame $\lambda/4$

En pratique, le rapport $|\gamma_{BG}|$ est principalement influencé par la non-compensation des lames QW_1 et QW_2 . Afin de compenser cela, nous ajoutons une 3ème lame $\lambda/4$ QW_3 à notre montage, placée juste avant l'analyseur et dont l'axe lent est aligné sur l'axe du polariseur P_1 , tel que représenté sur la figure II.3.19.

Afin de visualiser le fonctionnement de cette compensation, nous traçons sur la sphère de Poincaré les états de polarisation de la lumière au niveau de l'analyseur P_2 , sur la figure II.3.20.

La rosace en noir (figure II.3.20) représente les états de polarisation au niveau de l'analyseur en l'absence d'erreurs systématiques et sans milieu d'étude. Celle-ci est centrée sur $S1$ (état de polarisation linéaire vertical) et est constituée de 5 lobes (pour un système où $a = 5b$). Sa taille est définie par un cône de révolution dont le sommet est le centre de la sphère et dont l'angle au sommet est égal à 4β .

L'état de polarisation de l'analyseur P_2 est orienté horizontalement (point noir sur la sphère) et est opposition avec le centre de la rosace noire. Dans ce cas, le pic F_6 est nul

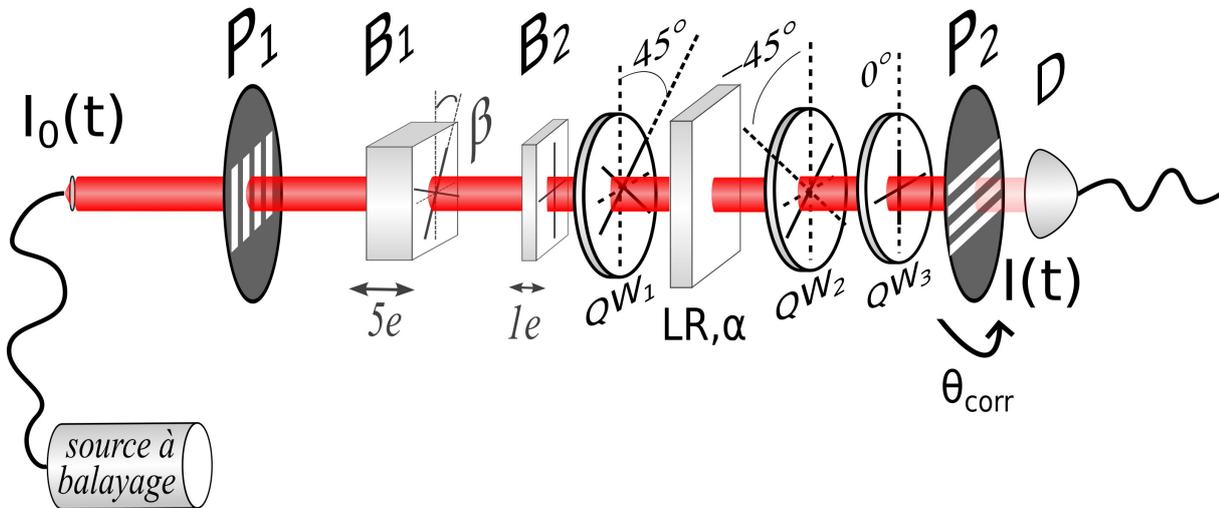


FIGURE II.3.19 – Dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimuth par codage spectral de la polarisation, avec la 3ème lame $\lambda/4$ QW_3 de compensation, aligné à l’axe vertical et l’analyseur orienté d’un angle θ_{corr} par rapport à l’axe horizontal.

et la valeur du rapport $|\gamma_{BG}|$ est donc nulle également. La résolution est alors optimale.

Quand les lames QW_1 et QW_2 ne se compensent pas parfaitement, la rosace n’est plus centrée sur l’équateur de la sphère de Poincaré (figure II.3.20, motif rouge). Ceci augmente $|\gamma_{BG}|$ car l’état de polarisation de l’analyseur n’est plus orthogonal.

En ajoutant une 3ème lame $\lambda/4$ QW_3 à notre montage, placée juste avant l’analyseur et dont l’axe lent est aligné sur l’axe du polariseur P_1 , la rosace est ramené sur l’équateur de la sphère de Poincaré (figure II.3.20, rosace bleue). Il suffit alors de tourner l’analyseur d’un angle θ_{corr} pour amener son état de polarisation en opposition avec le centre de la rosace bleue (point bleu sur la sphère), c’est-à-dire là où la valeur de $|\gamma_{BG}|$ sera nulle.

En pratique, cela revient à annuler le pic F_6 dans l’espace de Fourier, en l’absence de milieu d’étude, tel que représenté par la figure II.3.21.

Nous tracerons la déviation d’Allan sans, puis avec compensation, afin de valider cette méthode du point de vue de la résolution de la mesure dans la sous-section II.3.4.2.

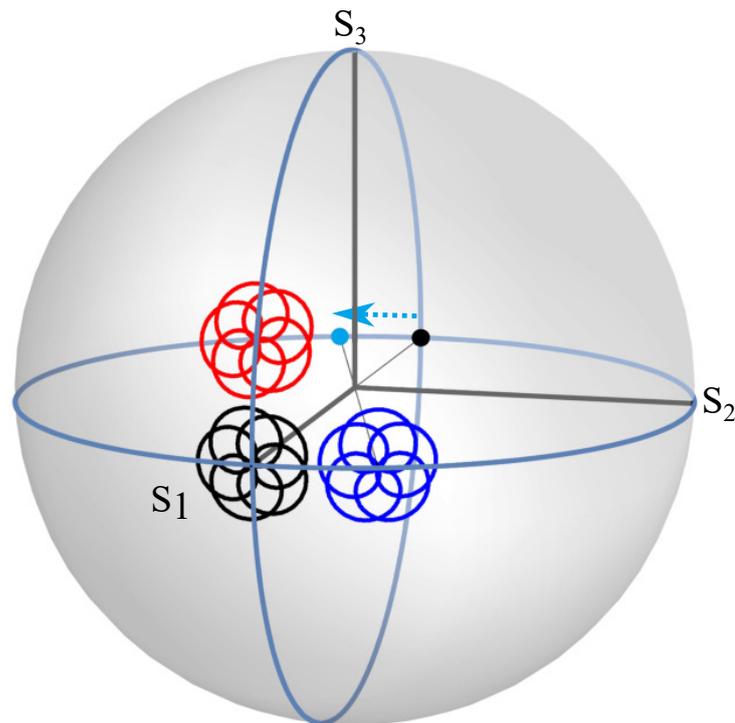


FIGURE II.3.20 – Représentation des états de polarisation sur la sphère de Poincaré au niveau de l'analyseur : en noir, sans erreurs systématiques ; en rouge avec erreurs systématiques, sans compensation ; en bleu, avec erreurs systématiques, avec compensation

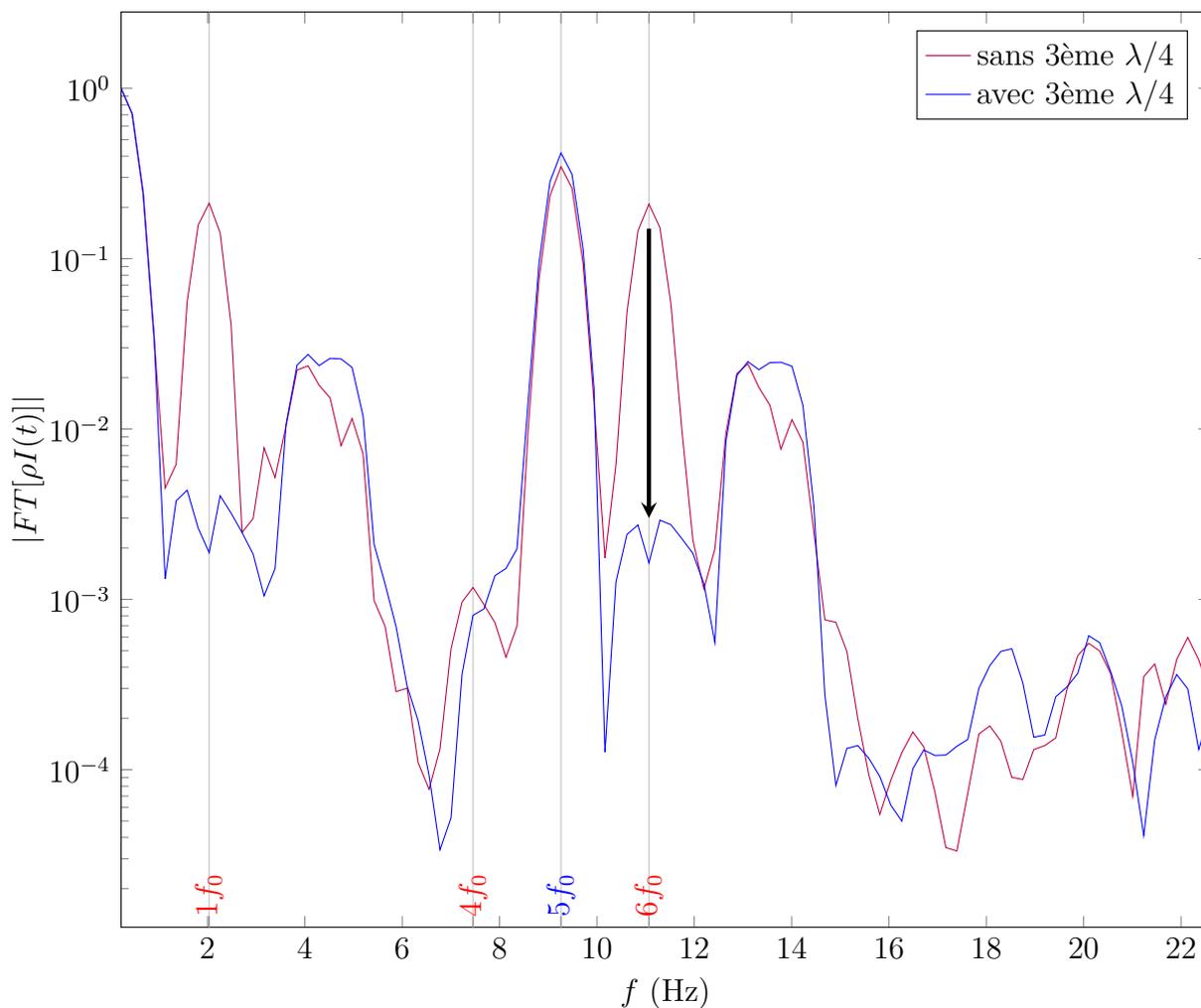


FIGURE II.3.21 – Valeur absolue de la transformée de Fourier d'un spectre cannelé, sans et avec 3ème lame $\lambda/4$ QW_3 (Courbes normalisées par rapport à la composante continue I_{DC})

II.3.4 Vérification de la réponse du dispositif en retardance linéaire et en azimut

II.3.4.1 Soustraction d'une mesure à vide pour le découplage de la mesure de la retardance linéaire et de son azimut

Il est difficile de trouver un milieu d'étude présentant une retardance linéaire à la fois faible et homogène pour réaliser une calibration de notre dispositif.

Pour ce faire nous avons tiré parti du défaut de compensation des lames $\lambda/4$ en MgF_2 . En alignant l'axe rapide de la première lame avec l'axe lent de la deuxième lame, nous avons créé de la sorte un objet dont la retardance résiduelle est d'environ 1.4° , tout en étant relativement homogène spatialement. Cet objet va nous servir de milieu d'étude, tel que représenté figure II.3.22.

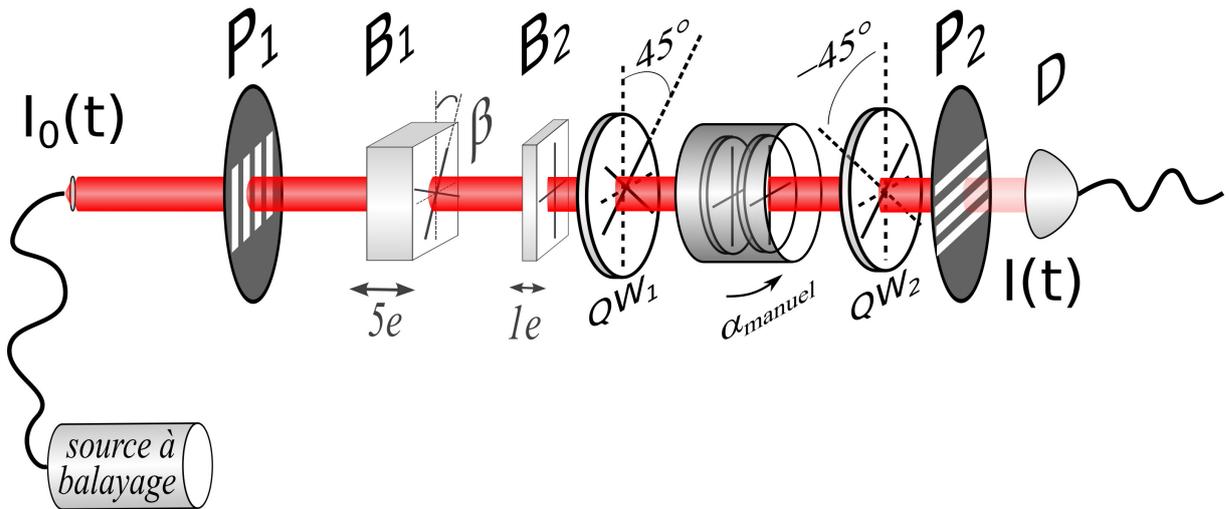


FIGURE II.3.22 – Montage pour tester le découplage de la mesure de la retardance linéaire et de son azimut. Objet de retardance linéaire $\approx 1.4^\circ$, placé sur une monture rotative permettant d'orienter l'objet de différents angles α_{manuel} par rapport à l'axe du polariseur P_1 afin de simuler différents azimuts

Nous avons placé cet objet sur une monture rotative permettant de l'orienter à différents angles α_{manuel} par rapport à l'axe du polariseur P_1 afin de simuler différents azimuts. Nous l'avons orienté d'un angle de rotation noté α_{manuel} allant de -180° à $+180^\circ$ par pas de 10° , en mesurant (moyenne de 10000 acquisitions successives) avec notre dispositif la

retardance linéaire LR_{mes} en degrés et son azimuth α_{mes} en degrés à chaque position (voir figure II.3.23), avec $\beta = 0.5^\circ$.

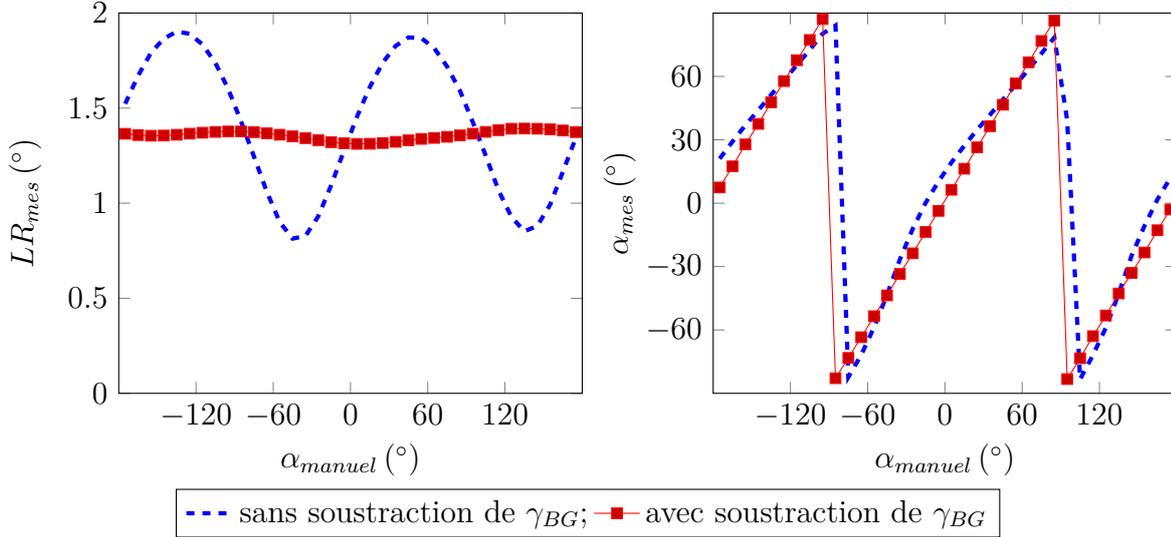


FIGURE II.3.23 – Retardance linéaire LR_{mes} ($^\circ$) et son azimuth α_{mes} ($^\circ$) en fonction de α_{manuel} ($^\circ$), moyenne de 10000 acquisitions, avec $\beta = 0.5^\circ$; en rouge : avec correction ; en bleu : sans correction

Alors que la retardance linéaire mesurée LR_{mes} devrait être constante, quel que soit l'angle de rotation, α_{manuel} , nous la voyons au contraire évoluer fortement (figure II.3.23, à gauche, en bleu). De même l'azimut mesuré α_{mes} devrait avoir une relation linéaire avec α_{manuel} , or là aussi, les courbes sont déformées (figure II.3.23, à droite, en bleu).

Nous appliquons alors la correction précédemment présentées, consistant à la soustraction d'une mesure à vide. Nous affichons alors les courbes corrigées sur la figure II.3.23 (en rouge). Celles-ci sont très proches de ce qui est attendu théoriquement, ce qui valide la procédure de correction.

Néanmoins de légères variations sur la valeur de la retardance linéaire sont toutefois visibles. Elles semblent liées à l'inhomogénéité de notre milieu d'étude, la zone sondée par le laser n'étant pas tout à fait la même lors de la rotation. Il est en effet délicat expérimentalement d'aligner parfaitement l'axe optique de cet objet d'étude à l'axe optique du dispositif de mesure, afin que la rotation de l'objet n'entraîne qu'un changement d'azimut.

II.3.4.2 Stabilité temporelle

De la même manière que pour le pouvoir rotatoire (sous-section II.2.5.3), nous évaluons la stabilité temporelle de notre mesure de la retardance linéaire en traçant la déviation d'Allan (figure II.3.25).

En effet, puisque nous intégrerons notre dispositif de mesure de la retardance linéaire dans un microscope à balayage laser, nous devons nous assurer qu'il n'y aura pas de dérive importante entre les valeurs mesurées au début et à la fin de l'acquisition d'une image (soit une durée d'environ 1 s).

Nous traçons en bleu sur la figure II.2.18 la déviation d'Allan sans compensation avec la 3ème lame $\lambda/4$ puis avec cette compensation en vert, ainsi que la courbe de tendance en $1/\sqrt{N}$.

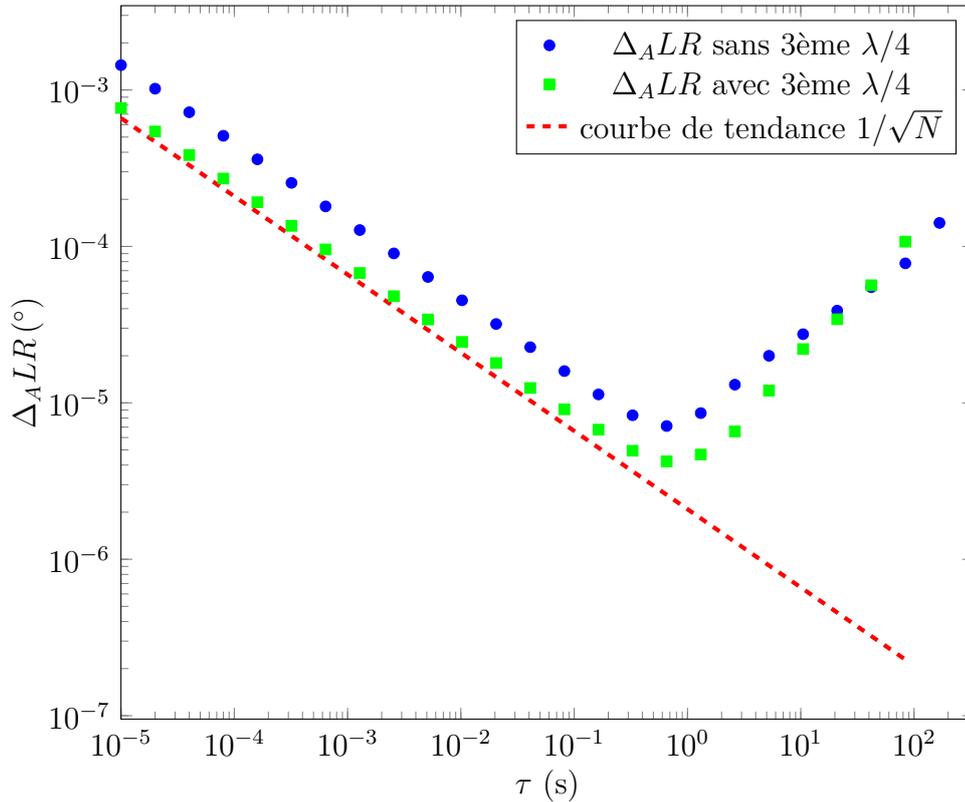


FIGURE II.3.24 – Déviation d'Allan $\Delta_A LR$ (°) en fonction du temps d'intégration τ (s), sans et avec 3ème lame $\lambda/4$ QW_3

Nous constatons qu'avec la compensation avec la 3ème lame $\lambda/4$, nous ramenons la résolution en $10\mu s$ de $\Delta_{A,10\mu s}(LR)_{brut} = 1.4 \times 10^{-3}^\circ$, sans compensation, à $\Delta_{A,10\mu s}(LR)_{comp} =$

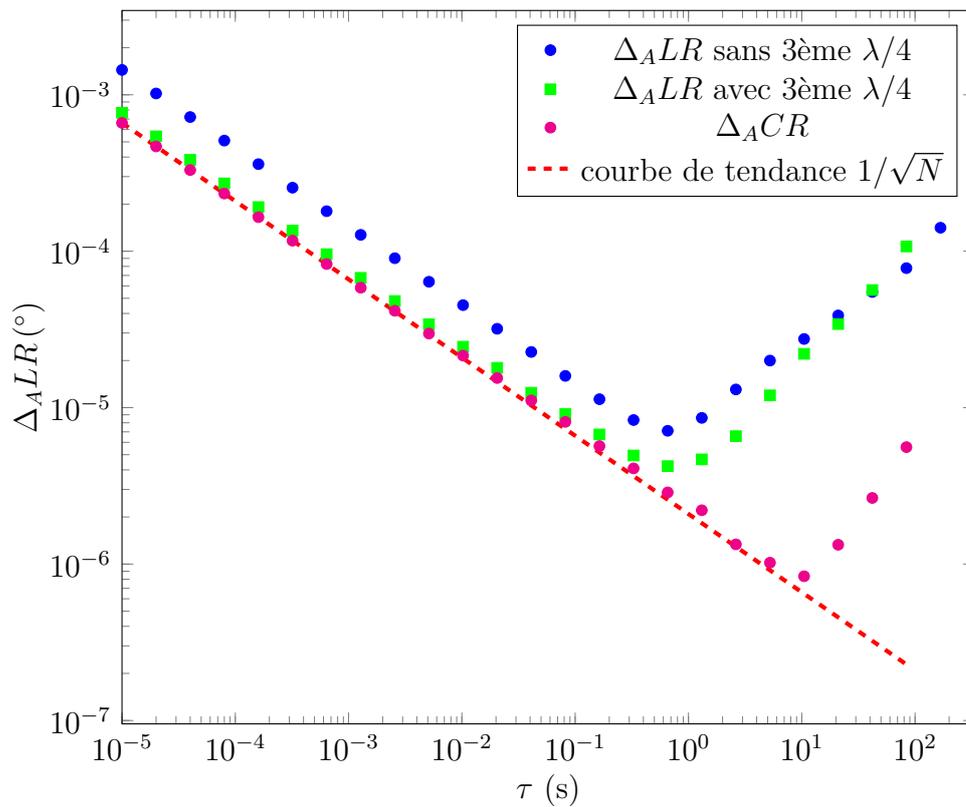


FIGURE II.3.25 – Déviation d'Allan Δ_{ALR} (°) en fonction du temps d'intégration τ (s), sans et avec 3ème lame $\lambda/4$ QW_3

$7.7 \cdot 10^{-4}^\circ$ avec compensation. Par unité de bande passante, cela correspond à $\Delta_{A,/\sqrt{Hz}}(LR)_{comp} \approx 2.4 \cdot 10^{-6}^\circ/\sqrt{Hz}$.

D'autre part la figure II.3.25 montre que le bruit de mesure ne peut plus être considéré comme blanc à partir de 1 s, à comparer aux 10 s lorsque les lames $\lambda/4$ n'étaient pas utilisées (figure II.2.18).

L'apparition précoce de cette dérive est liée aux lames $\lambda/4$ qui doivent amplifier les dérives mécaniques et thermiques dont fait l'objet le dispositif. Mais l'origine précise de cette dérive n'est pas encore bien établie.

II.3.5 Exemple de mesure de la retardance linéaire avec un actuateur piézoélectrique

Afin d'illustrer les performances du dispositif pour la mesure de la retardance linéaire, nous réalisons la mesure de la biréfringence induite par contrainte mécanique dans une plaque de verre par un actuateur piézoélectrique (Thorlabs AE050D18F), alimenté avec une tension sinusoïdale, qui va servir de milieu d'étude (voir figure II.3.26).

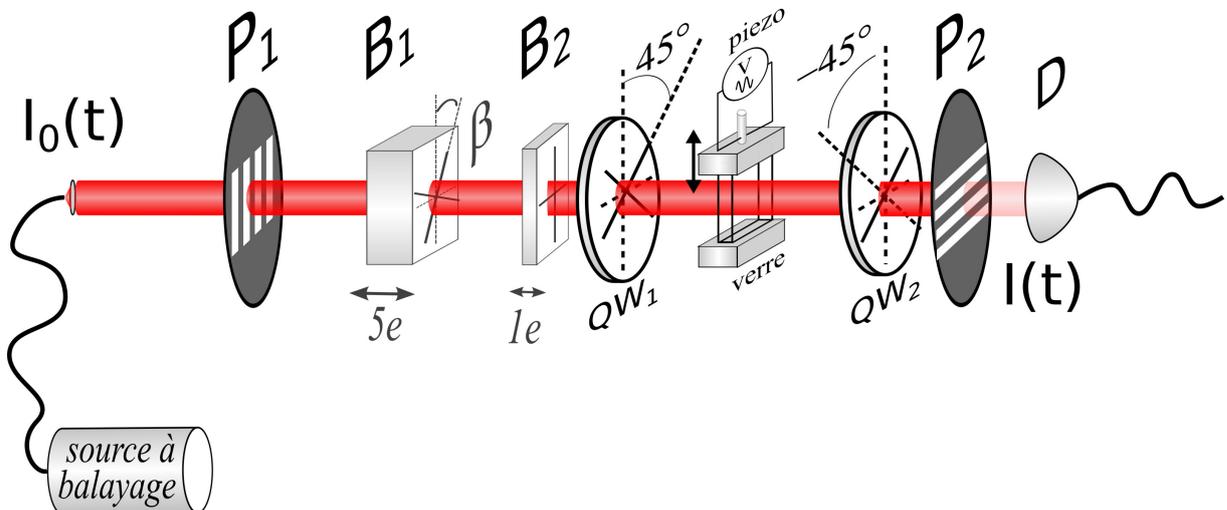


FIGURE II.3.26 – Montage pour la vérification de la réponse temporelle, avec un actuateur piézoélectrique, $\beta = 1^\circ$

La tension d'alimentation de l'actuateur piézoélectrique est réglée de manière à avoir une amplitude crête-à-crête de retardance linéaire LR de $6 \cdot 10^{-3}^\circ$, avec une fréquence

d'environ 0.3 Hz . La lame de verre étant toujours sous contrainte, elle présente une biréfringence statique, ce qui nous amène à régler $\beta = 1^\circ$.

Nous traçons la moyenne de 10000 acquisitions successives, soit une durée d'acquisition effective de 100 ms , en appliquant la correction de la mesure par soustraction d'une mesure à vide présentée précédemment, en fonction du temps. La figure II.3.27 affiche les variations de retardance linéaire LR ($^\circ$) autour de la valeur de retardance statique, aussi la courbe est donc recentrée à 0° .

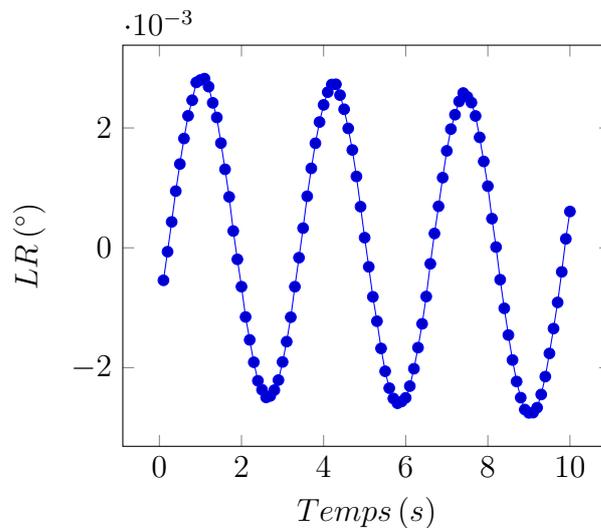


FIGURE II.3.27 – Mesure des variations de retardance linéaire LR ($^\circ$) généré par un actuateur piézoélectrique en fonction du temps (s), à une fréquence de modulation de 0.3 Hz , moyenne de 10000 acquisitions successives, avec $\beta = 1^\circ$.

Il n'est ici pas possible de vérifier la réponse aux hautes fréquences de modulation, à l'instar de ce qui à été fait pour le pouvoir rotatoire à cause de la fréquence de coupure de l'actuateur piézoélectrique utilisé pour réaliser nos mesures.

Conclusion

Dans le présent chapitre, nous avons démontré le principe de mesure d'anisotropie optique sur fond noir par codage spectral dans le cas de la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth sur table optique.

Nous avons en outre présenté les stratégies à mettre en place pour garantir le bon découplage entre la mesure de l'amplitude de la retardance linéaire et de son azimuth ainsi

que pour obtenir une résolution proche de celle du dispositif de mesure sur fond noir du pouvoir rotatoire.

Nous obtenons ici pour une mesure en $10 \mu s$ une résolution de $\Delta(LR)_{brut} = 1.4 \cdot 10^{-3} \circ$, sans compensation avec la 3ème lame $\lambda/4$ et de $\Delta(LR)_{comp} = 7.7 \cdot 10^{-4} \circ$, avec compensation avec la 3ème lame $\lambda/4$.

Ceci correspond en retard optique, à 1060 nm , à $\Delta(\Delta ne) = 4.1 \cdot 10^{-3} \text{ nm}$, sans compensation avec la 3ème lame $\lambda/4$ et à $\Delta(\Delta ne) = 2.3 \cdot 10^{-3} \text{ nm}$ avec compensation avec la 3ème lame $\lambda/4$.

Dans la partie suivante, nous allons intégrer ce dispositif dans un microscope à balayage laser afin de réaliser des images de milieux d'intérêt biomédical.

TROISIÈME PARTIE

**Implémentation du dispositif de
mesure sur fond noir de la
retardance linéaire au sein d'un
microscope à balayage laser pour
l'imagerie de faibles biréfringences**

PLAN DE LA TROISIÈME PARTIE

Dans la deuxième partie de ce manuscrit, le développement d'une nouvelle méthode de mesure sur fond noir par codage spectral de la polarisation a été présenté. Une fois le principe théorique et le modèle du bruit introduit, cette méthode a été d'abord déclinée en une version dédiée à la mesure du pouvoir rotatoire, puis dans une version dédiée à la mesure de la retardance linéaire et son azimuth.

Dans cette partie, nous étudierons l'intégration de ce dispositif dans un microscope à balayage et la manière de représenter et d'interpréter les données.

Le chapitre III.1 s'intéressera dans une première partie au milieu d'étude, qui peut être complexe du point de vue de sa réponse polarimétrique. En effet, il peut arriver qu'un milieu présente simultanément plusieurs effets polarimétriques et il convient donc d'étudier comment cette complexité affecte la mesure de la retardance linéaire et de son azimuth. Par ailleurs, les images obtenues avec un microscope à balayage étant reconstruites numériquement et affichées sur un écran d'ordinateur, il est également important de s'interroger sur la manière la plus pertinente de représenter les différentes informations polarimétriques mesurées et la deuxième partie de ce chapitre y sera donc consacrée.

Le chapitre III.2 présentera l'intégration mécanique et optique du dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire et son azimuth par codage spectral de la polarisation, dans un microscope à balayage. La question des pertes optiques liées à la configuration du microscope sera ensuite posée. Enfin nous proposerons des exemples d'images de milieux biologiques réalisées grâce à cette nouvelle modalité et qui en illustrent les potentialités.

RÉPONSE POLARIMÉTRIQUE DU MILIEU D'ÉTUDE ET AFFICHAGE DES IMAGES

Dans ce chapitre nous allons étudier la réponse du milieu d'étude, qui peut présenter plusieurs effets polarimétriques, et les conséquences que cela induit sur la mesure de la retardance linéaire. Puis la question de la représentation des images sera abordée et nous présenterons les choix des tables de couleurs utilisées pour représenter les différentes informations polarimétriques.

III.1.1 Influence de la réponse polarimétrique du milieu d'étude sur la mesure de la retardance linéaire

III.1.1.1 Présence de plusieurs effets polarimétriques déterministes

Nous avons montré dans le chapitre précédent que le dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire par codage spectral de la polarisation est très sensible et pourrait donc être utilisé en imagerie afin de révéler de très faibles anisotropies dans un milieu biologique. La démonstration des performances du dispositif a été faite théoriquement et expérimentalement en considérant un milieu purement biréfringent linéaire.

Néanmoins, un milieu biologique est un milieu complexe qui peut présenter simultanément d'autres effets comme de la dépolarisation, de la biréfringence circulaire, de la diatténuation linéaire ou encore de la diatténuation circulaire. Puisque ce dispositif ne permet pas de réaliser une mesure complète, permettant de trier les différents effets polarimétriques, nous allons voir dans cette section l'impact de ces anisotropies sur la mesure de la retardance linéaire et de son azimut.

Biréfringence linéaire couplée à de la biréfringence circulaire

Pour un milieu anisotrope caractérisé par une matrice de Jones $[A]$ présentant à la fois de la biréfringence linéaire $J_{LR,\alpha}$ et circulaire J_θ sous la forme :

$$[A] = J_{LR,\alpha} \cdot J_\theta \quad (\text{III.1.1})$$

où θ est le pouvoir rotatoire, relié à la retardance circulaire CR par la relation $\theta = CR/2$. Le rapport γ s'écrit alors :

$$\gamma = \frac{LR}{2\beta} e^{j(2\alpha+\theta)} \quad (\text{III.1.2})$$

Dans ce cas, l'amplitude de γ dépend de la retardance linéaire de la même manière que sans biréfringence circulaire, alors que son argument est modifié par le pouvoir rotatoire associé à la biréfringence circulaire.

La présence d'un pouvoir rotatoire occasionne donc un biais sur la mesure de l'azimut mais n'impacte pas la mesure de la retardance linéaire.

Biréfringence linéaire couplée à du dichroïsme circulaire

Pour un milieu anisotrope caractérisé par une matrice de Jones $[A]$ présentant à la fois de la biréfringence linéaire $J_{LR,\alpha}$ et du dichroïsme circulaire J_{CD} sous la forme :

$$[A] = J_{LR,\alpha} \cdot J_{CD} \quad (\text{III.1.3})$$

où CD correspond à la différence de transmittance normalisée entre une onde polarisée circulairement droite ou gauche, le rapport γ s'écrit alors :

$$\gamma = \frac{LR}{2\beta} e^{j2\alpha} e^{-CD/2} \quad (\text{III.1.4})$$

L'amplitude de γ , soit la mesure de la retardance linéaire, est alors affectée par le dichroïsme, alors que son argument, et donc la mesure de l'azimut de la retardance linéaire, reste inchangé.

Biréfringence linéaire alignée à du dichroïsme linéaire

Pour un milieu anisotrope caractérisé par une matrice de Jones $[A]$ présentant à la fois de la biréfringence linéaire $J_{LR,\alpha}$ et du dichroïsme linéaire $J_{LD,\alpha}$, dont les axes neutres

sont alignés, nous avons :

$$[A] = J_{LR,\alpha} \cdot J_{LD,\alpha} \quad (\text{III.1.5})$$

où LD correspond à la différence de transmittance normalisée entre une onde polarisée linéairement $|H\rangle$ et verticalement $|V\rangle$. Le rapport γ s'écrit alors sous la forme :

$$\gamma = \frac{LR - jLD/2}{2\beta} e^{j2\alpha} \quad (\text{III.1.6})$$

Dans ce cas, l'amplitude et l'argument de γ sont impactés par la diatténuation linéaire.

Ces trois exemples illustrent ainsi la difficulté de garantir la précision de la mesure en utilisant un dispositif incapable de réaliser une mesure plus complète de la réponse polarimétrique. La recherche de la plus grande sensibilité de la mesure de la retardance conduit en effet à réduire le milieu à un modèle de pur biréfringent linéaire. Aussi lorsque nous intégrerons ce dispositif dans un microscope et que nous réaliserons des images de milieux biologiques, il faudra garder cette limite à l'esprit.

III.1.1.2 Mesure du degré de polarisation

Jusqu'à présent nous avons utilisé le formalisme de Jones pour modéliser le milieu anisotrope et le dispositif de mesure sur fond noir car nous considérons que le milieu modifiait de manière déterministe les champs optiques incidents.

Pour un milieu présentant de la dépolarisation, le formalisme adapté est le formalisme de Mueller qui décrit la réponse polarimétrique d'un milieu vis-à-vis de l'intensité lumineuse.

La façon la plus simple pour modéliser un milieu anisotrope qui présente de la dépolarisation, est de considérer qu'une partie de la lumière incidente est totalement dépolarisée alors que l'autre partie, totalement polarisée, subit une transformation polarimétrique déterministe. Ce modèle n'est valide que pour un milieu faiblement dépolarisant.

Dans ce cas, le milieu M_{milieu} peut être décrit par la somme d'une matrice de Mueller associée à la biréfringence linéaire M et d'une matrice de dépolarisation isotrope M_{Δ} , sous la forme :

$$M_{milieu} = P_p \times M + (1 - P_p) \times M_{\Delta} \quad (\text{III.1.7})$$

où P_p est le degré de polarisation. L'intensité lumineuse totale I_{tot} mesurée par le

détecteur est alors la contribution de deux termes : l'intensité lumineuse I de la partie cohérente donnée par l'équation II.2.8, et une composante continue due à la partie incohérente (dépolarisée) de la lumière qui ne peut pas interférer, telle que :

$$I_{tot} = P_p \times I + (1 - P_p) T_{samp} I_0 \frac{T_{pol}}{2} (1 - \epsilon^2) \quad (\text{III.1.8})$$

avec I_0 , la puissance optique incidente au niveau du milieu d'étude, T_{samp} , sa transmission isotrope, T_{pol} , la transmission de la lumière non-polarisée en intensité, et $\epsilon^2 = 1/\tau_{ext}$ avec τ_{ext} le taux d'extinction des polariseurs.

Lorsque nous calculons la transformée de Fourier de I_{tot} , nous obtenons les pics F_5 et F_6 du chapitre précédent affectés par le degré de polarisation P_p et une composante continue I_{DC} qui se voit ajouter un terme supplémentaire sous la forme :

$$\begin{aligned} I_{DC} &= \frac{1}{2} P_p T_{samp} I_0 T_{pol} (1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos(2\beta)^2 \cos(LR)) \\ &\quad + (1 - P_p) T_{samp} I_0 \frac{T_{pol}}{2} (1 - \epsilon^2) \\ F_5 &= -\frac{1}{4} P_p T_{samp} I_0 \varpi T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR) e^{j5\phi_0} \\ F_6 &= -\frac{1}{2} P_p T_{samp} I_0 \varpi T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \cos(\beta)^3 \sin(\beta) \sin(LR) e^{j6\phi_0} e^{-i2\alpha} \end{aligned} \quad (\text{III.1.9})$$

Puisque les amplitudes des pics F_5 et F_6 sont multipliées par le même coefficient P_p , le rapport γ et donc la mesure de la retardance, sont indépendants de la dépolarisation du milieu. Ceci est un atout supplémentaire pour cette méthode de mesure.

Si à présent nous nous intéressons à la valeur de la composante continue I_{DC} , nous avons là une possibilité pour mesurer le P_p du milieu.

En effet, nous pouvons déterminer le drop-off ϖ et le taux d'extinction des polariseurs $1/\epsilon^2$ par la méthode décrite en annexe A.II et le rapport γ permet quant à lui de mesurer la retardance LR du milieu. Aussi en calculant le rapport entre le pic F_5 et I_{DC} ,

$$\begin{aligned}
 \frac{|I_{DC}|}{|P_5|} &= \frac{\frac{1}{2} P_p T_{samp} I_0 T_{pol} (1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos(2\beta)^2 \cos(LR))}{\frac{1}{4} P_p T_{samp} I_0 \varpi T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR)} \\
 &\quad + \frac{(1 - P_p) T_{samp} I_0 \frac{T_{pol}}{2} (1 - \epsilon^2)}{\frac{1}{4} P_p T_{samp} I_0 \varpi T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR)} \\
 \frac{|I_{DC}|}{|P_5|} &= \frac{2(1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos(2\beta)^2 \cos(LR))}{\varpi (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR)} \\
 &\quad + \frac{2(1 - P_p) (1 - \epsilon^2)}{P_p \varpi (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR)} \tag{III.1.10}
 \end{aligned}$$

puis en réécrivant la relation III.1.10,

$$\frac{1}{2} \frac{|I_{DC}|}{|P_5|} \frac{\varpi (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR)}{1 - \epsilon^2} - \frac{(1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos(2\beta)^2 \cos(LR))}{1 - \epsilon^2} = \frac{(1 - P_p)}{P_p} \tag{III.1.11}$$

et en posant $W = \frac{1}{2} \frac{|I_{DC}|}{|P_5|} \frac{\varpi (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(LR)}{1 - \epsilon^2} - \frac{(1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos(2\beta)^2 \cos(LR))}{1 - \epsilon^2}$, il devient possible d'accéder au P_p , par la relation :

$$P_p = \frac{1}{W - 1} \tag{III.1.12}$$

Par commodité, nous utiliserons plutôt le degré de dépolarisation défini comme :

$$P_d = 1 - P_p \tag{III.1.13}$$

III.1.1.3 Bilan

Le dispositif de mesure de la retardance linéaire sur fond noir par codage spectral de la polarisation a été pensé pour avoir la plus grande sensibilité possible et être suffisamment rapide pour pouvoir être intégré dans un microscope à balayage laser. Cette technique n'étant pas une mesure complète de la réponse polarimétrique, la contrepartie est que la précision de la mesure peut être détériorée par les erreurs systématiques du dispositif lui-même mais également par la réponse du milieu, lorsque ce dernier produit plusieurs effets polarimétriques.

En implémentant cette méthode dans un microscope à balayage laser, nous pourrons

révéler de très faibles contrastes que nous assignerons à de la retardance linéaire car c'est l'effet prépondérant dans les milieux biologiques que nous souhaitons étudier. Mais ces contrastes peuvent également provenir d'autres effets polarimétriques et il faudra être vigilant quant à l'interprétation que nous pourrons en faire.

En ce qui concerne l'exploitation du signal délivré par la photodiode, nous nous sommes intéressés seulement à deux de ses modulations dans la partie précédente afin de mesurer la retardance et l'azimut d'un biréfringent linéaire, avec une auto-référence. Il s'avère qu'en mesurant la composante continue I_{DC} , nous pouvons également remonter au degré de dépolarisation P_d du milieu d'étude, ce qui est une information potentiellement intéressante.

Ainsi le dispositif va permettre d'obtenir trois images : une image de la retardance linéaire, une image de son azimut et enfin une image du degré de dépolarisation. Aussi, il convient à présent de nous intéresser aux modalités d'affichage de ces trois informations.

III.1.2 Affichage des images

A la différence de la microscopie plein champ conventionnelle, les images obtenues par un microscope à balayage ne sont pas observées directement par l'œil de l'observateur mais reconstruites numériquement et affichées sur un écran d'ordinateur.

L'utilisation d'une représentation par une échelle de niveau de gris est la plus simple à mettre en œuvre, chaque niveau de gris correspondant à une valeur à représenter. Toutefois, cette représentation possède trois défauts majeurs [233] :

- L'œil n'est sensible qu'à un nombre restreint de niveaux de gris, ce qui limite son intérêt pour représenter des informations quantitatives.
- L'œil n'est pas très sensible au contraste avec une représentation en niveau de gris, ce qui rend difficile la visualisation d'images présentant de faibles contrastes.
- Cette échelle ne permet de représenter qu'une seule information. Or dans notre cas, nous souhaitons pouvoir visualiser deux informations polarimétriques simultanément, à savoir l'amplitude de la retardance linéaire et son azimut.

L'œil peut distinguer bien plus de couleurs que de niveaux de gris. Utiliser la couleur pour représenter une information permet donc de représenter plus précisément les informations quantitatives et qualitatives (contrastés). De plus la couleur permet la représentation simultanée de plusieurs informations en utilisant ses différentes dimensions (teinte, saturation, etc.) [233].

Nous allons donc utiliser des tables de couleurs (*colormaps*) qui associent une valeur que nous souhaitons afficher (par exemple la retardance linéaire LR) à une couleur.

Il convient de porter une attention particulière à la manière dont cette valeur et cette couleur vont être associées. En effet, les tables de couleurs (notamment celles présentes par défaut dans les logiciels tels que MATLAB) peuvent parfois être trompeuses, soit en créant des artefacts, soit en gommant des informations pertinentes de l'image [234, 235]. Nous allons dans la présente section, nous intéresser à la manière la plus pertinente de représenter la retardance et son azimuth ainsi que le degré de dépolarisation.

III.1.2.1 Représentation de la couleur

Il existe de nombreuses manières de représenter et de caractériser une couleur. Nous allons ici présenter succinctement les représentations utilisées dans la suite de ce chapitre.

RGB

L'une des représentations les plus communes de la couleur est la représentation *RGB* (*Red, Green, Blue*) ou en français *RVB* (*Rouge, Vert, Bleu*). L'idée est de considérer chaque couleur comme une synthèse de trois couleurs primaires : le rouge, le vert et le bleu, qui correspondent aux trois couleurs auxquelles les récepteurs de notre œil sont sensibles.

Cette représentation est à la base de l'affichage des couleurs en photographie ou sur les écrans : chaque couleur à représenter est décomposée en proportion de rouge, de vert et de bleu, dans un espace à trois dimensions tel que représenté sur l'image III.1.1. Cette proportion peut être codée par un nombre entre 0 et 1 ou un pourcentage mais elle est généralement codée par un nombre entier entre 0 et 255, ce qui correspond à un codage sur 8 bits. Ainsi un pixel d'une image sera associé à un triplet contenant la proportion de chacune des trois couleurs primaires à afficher sur l'écran pour produire la couleur désirée par synthèse additive.

Cette représentation est très utile pour synthétiser la couleur mais ne permet pas de la caractériser d'après des critères colorimétriques. En effet, lorsque nous avons à décrire une couleur nous n'en parlons pas en proportion de rouge, vert et bleu mais plutôt en termes de *teinte*, de *saturation*, etc.

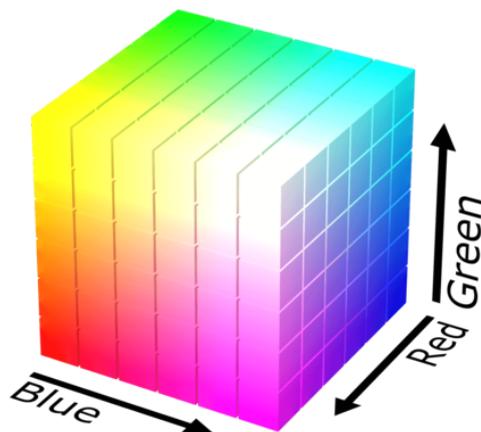


FIGURE III.1.1 – Cube représentant l'espace des couleurs avec la représentation RGB (*Red, Green, Blue*), appelée en français RVB (*Rouge, Vert, Bleu*).

HSV

Plusieurs représentations de la couleur ont été introduites pour proposer une représentation plus proche des caractéristiques colorimétriques. Parmi celle-ci la représentation HSV (*Hue, Saturation, Value*), appelée en français TSV (*Teinte, Saturation, Valeur*) a été formalisée par A.R. Smith dans les années 1970 [236].

L'idée est de décrire la couleur selon trois paramètres colorimétriques, que nous représentons sous la forme d'un cylindre comme sur la figure III.1.2, avec :

- la *Teinte* (*Hue*) se lit sur le cercle et est codée par un angle de 0° à 360°
- la *Saturation* (*Saturation*) se lit sur le rayon du cercle et est codée par un nombre entre 0 et 1 (ou par un pourcentage). Elle traduit la vivacité de la couleur et correspond à la quantité de gris dans la couleur. Plus la Saturation d'une couleur est faible, plus elle apparaîtra grise.
- la *Valeur* (*Value*) se lit sur la coordonnée verticale et est codée par un nombre entre 0 et 1 (ou par un pourcentage). Elle correspond à l'intensité de la couleur et est parfois appelée *Brighthness* (*Brillance*). Plus la Valeur d'une couleur est faible, plus la couleur est sombre. Une Valeur de 0 correspond au noir.

Il est possible de traduire ces paramètres HSV en un codage RGB , tel que représenté sur la figure III.1.3.

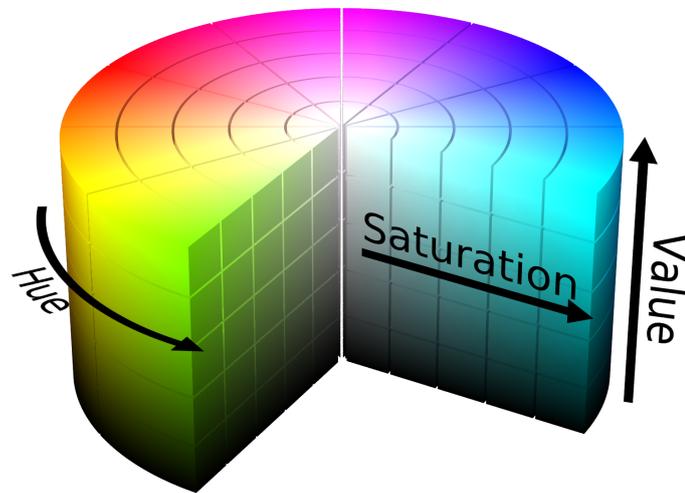


FIGURE III.1.2 – Cylindre représentant l'espace des couleurs avec la représentation *HSV* (*Hue*, *Saturation*, *Value*), appelée en français *TSV* (*Teinte*, *Saturation*, *Valeur*).

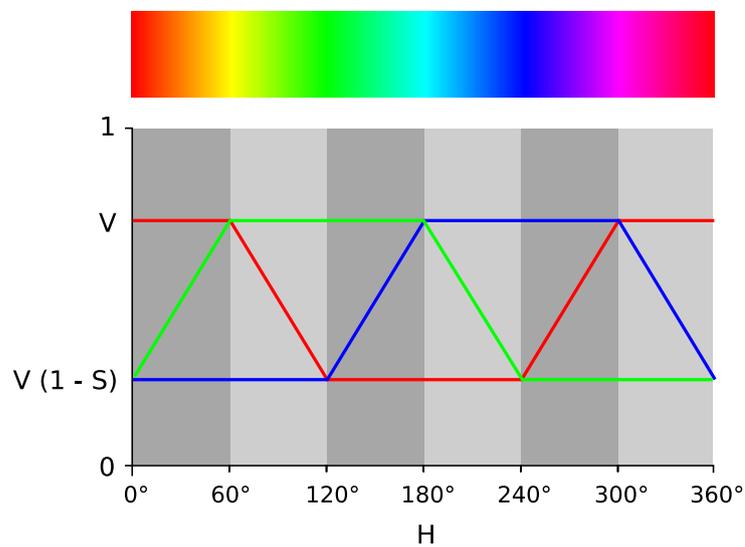


FIGURE III.1.3 – Proportion des couleurs primaires *RGB* en fonction des paramètres de la représentation *HSV*. La bande du dessus correspond aux couleurs pour $S = 1$, $V = 1$ et H allant de 0° à 360° .

Cette représentation a pour défaut de ne pas tenir compte de la réponse de l'œil.

CIE $L^*a^*b^*$

Afin d'avoir une représentation présentant une répartition des couleurs plus conforme à notre perception, a été développé le modèle $L^*a^*b^*$ par la Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) en 1976 [237]. Ce modèle peut être représenté par une sphère dont les dimensions sont :

- la *luminosité* L^* , qui prend des valeurs entre 0 (noir) à 100 (blanc de référence). Cette valeur est normalisée par rapport à la réponse de l'œil.
- le paramètre a^* , généralement codé par un nombre entier entre -128 à 127, soit 256 niveaux (8 bits), qui représente la valeur sur un axe vert \leftrightarrow rouge.
- le paramètre b^* , généralement codé par un nombre entier entre -128 à 127, soit 256 niveaux (8 bits), qui représente la valeur sur un axe bleu \leftrightarrow jaune.

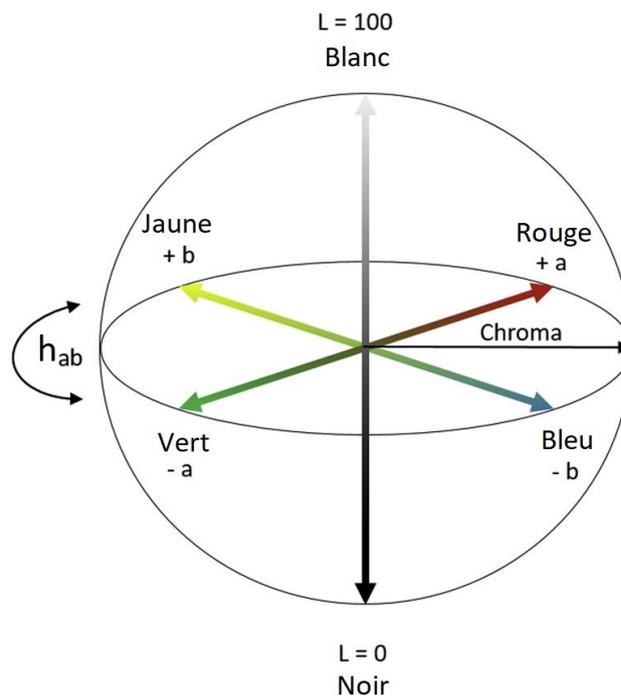


FIGURE III.1.4 – Sphère représentant l'espace des couleurs avec la représentation CIE $L^*a^*b^*$.

Si deux points de l'espace $L^*a^*b^*$ sont à la même distance, la différence de couleur est la même, c'est à dire que les deux couleurs contrastent de la même façon.

Nous pouvons en outre définir le chroma C_{ab}^* et l'angle de teinte h_{ab}^* tels que :

$$\begin{aligned} C_{ab}^* &= \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \\ h_{ab}^* &= \arctan(b^*/a^*) \end{aligned} \quad (\text{III.1.14})$$

III.1.2.2 Caractérisation des tables de couleurs

Une table de couleurs va permettre d'associer des valeurs à représenter, indexées sur n niveaux (par exemple 256 valeurs indexées, ce qui correspond à un codage sur 8 bits), à des couleurs, qui peuvent être représentées indifféremment en *RGB*, en *HSV*, etc.

Nous nous intéresserons ici à deux types particuliers de tables de couleurs : les tables de couleurs séquentielles, qui associent des valeurs indexées croissantes à des couleurs ayant une caractéristique croissante (par exemple la *Luminosité* L dans la représentation $L * a * b$), et les tables de couleurs cycliques, dont la dernière valeur indexée est associée à la même couleur que la première valeur indexée, utilisées notamment pour représenter des informations d'orientation.

Il n'existe pas de protocoles standardisés pour évaluer une table de couleur. Afin d'y remédier, P. Kovési a proposé un test [234], inspiré des réseaux sinusoïdaux utilisés dans les tests psychophysiques de sensibilité au contraste [238-240].

Ce test est décliné en une version pour les tables de couleurs séquentielles et une version pour les tables de couleurs cycliques. Une implémentation MATLAB de ce test est disponible sur le site internet de P. Kovési¹ et a été utilisée pour ce manuscrit.

Tables de couleurs séquentielles

La valeur des pixels de l'image de test forme le long de la largeur de l'image une rampe linéaire allant de 0 à gauche jusqu'à 1 à droite, sur laquelle un motif sinusoïdal est surimposé, tel que représenté sur la figure III.1.5, en haut. Ceci permet d'avoir de multiples motifs de même amplitude (sinusoïde) autour de valeurs de bases différentes (rampe linéaire), afin d'estimer le contraste sur toute la gamme des valeurs indexées de la table de couleurs, ici normalisées à 1.

La fréquence spatiale de la sinusoïde est choisie de manière à se trouver dans la zone la plus sensible de l'œil et son amplitude est choisie de manière à présenter une série de

1. <https://www.peterkovesi.com/matlabfns/>

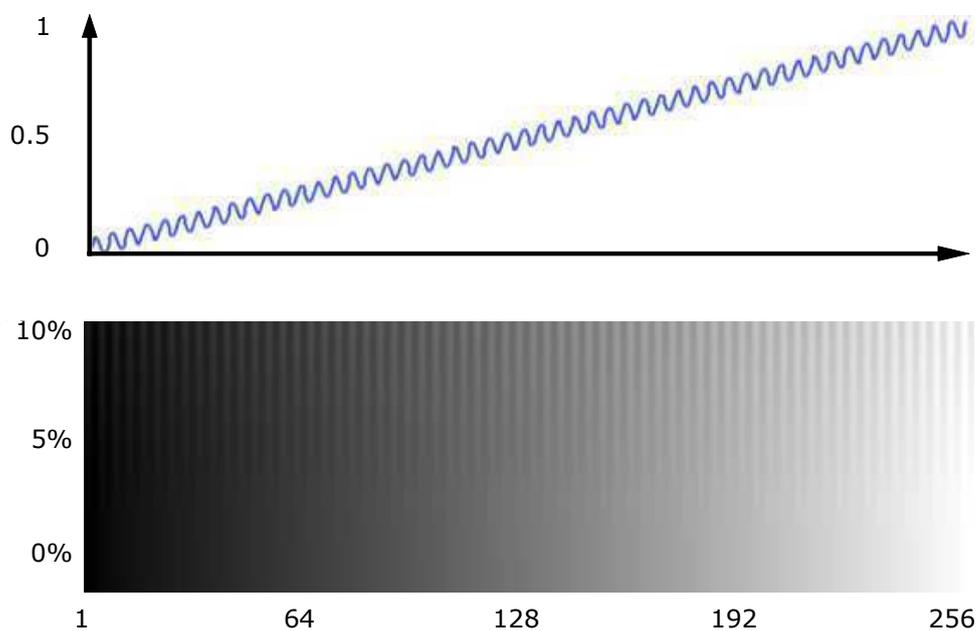


FIGURE III.1.5 – En bas, image de test d'une table de couleurs séquentielle, représentée en niveaux de gris, pour un index allant de 1 à 256 et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10% ; en haut, valeurs des pixels le long de la section du milieu de l'image de test.

motif représentant 10% de l'amplitude totale de la rampe. L'amplitude de la sinusoïde forme un dégradé entre le haut de l'image, où la modulation est maximale, et le bas de l'image où la modulation est nulle.

Ainsi, plus le contraste perceptuel est fort plus le motif sinusoïdal est visible vers le bas de l'image de test. Si la table de couleurs présente un contraste perceptuel uniforme, la sinusoïde doit être uniformément visible sur toute la largeur de l'image. Au bas de l'image, où l'amplitude de la sinusoïde est nulle, nous n'avons que la rampe linéaire, qui produit alors les couleurs successives de la table de couleurs.

Tables de couleurs cycliques

De manière équivalente, une version dédiée à l'évaluation des tables de couleurs cycliques a également été implémentée par P. Kovesi [234] (figure III.1.6).

Ici les valeurs des pixels de l'image de test forment une sinusoïde de 100 cycles surimposée à une rampe hélicoïdale, dont la valeur commence à 0, à droite, puis augmente dans le sens anti-horaire jusqu'à la valeur 2π (les valeurs indexées par la table de couleurs sont normalisés à 2π), formant ainsi le cercle complet. Il y a donc une discontinuité autour de la valeur 2π . L'amplitude de la sinusoïde forme un dégradé entre l'extérieur du cercle, où la modulation est maximale, et le centre du cercle où la modulation est nulle. L'amplitude de la modulation est de $\pi/10$, ce qui représente 10% de valeur maximale de la rampe hélicoïdale de 2π .

Choix du critère d'optimisation

Il a été mis en évidence que pour représenter des images présentant de fortes fréquences spatiales (c'est-à-dire de nombreux motifs fins), le paramètre essentiel à prendre en compte est la luminosité (paramètre L dans l'espace $L^*a^*b^*$), plutôt que la teinte ou la saturation de la couleur (respectivement les paramètres H et S dans la représentation HSV) [234, 241, 242].

Pour illustrer ceci, nous avons appliqué à notre image de test une table de couleur isoluminante, c'est à dire dont les couleurs possèdent la même luminosité pour chaque valeurs indexées, tel que le montre la figure III.1.7. Cette table de couleur appelée *Colorcet-II*, a été développée par P. Kovesi².

Sur l'image de test, figure III.1.8, le motif sinusoïdal est alors pratiquement invisible,

2. Disponible sur le site internet <https://colorcet.com/gallery.html>

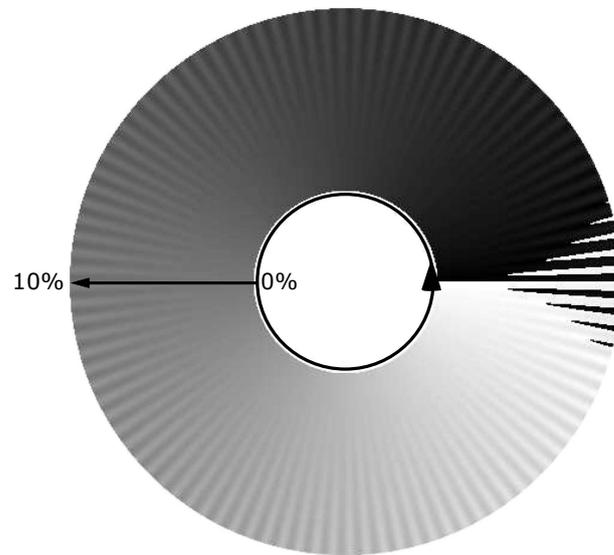


FIGURE III.1.6 – Image de test d'une table de couleurs cyclique, pour des valeurs indexées allant de 0 à 2π et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

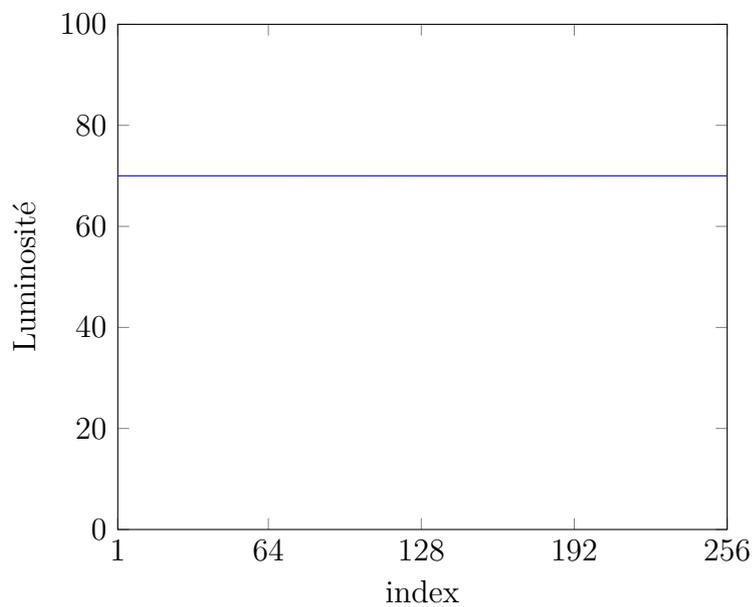


FIGURE III.1.7 – Luminosité d'une table de couleur *colorcet-II*, pour un index allant de 1 à 256.

même au sommet de l'image, là où son amplitude est la plus forte. Le contraste perceptuel est donc quasiment nul en l'absence de variation de luminosité entre les différentes couleurs successives de la table de couleurs.

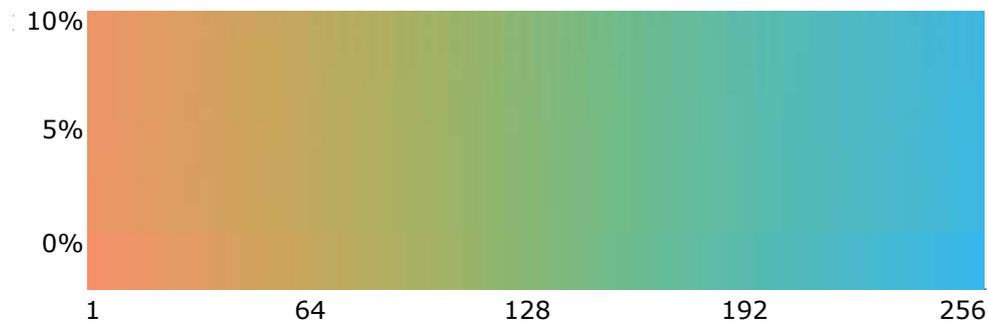


FIGURE III.1.8 – Image de test d'une table de couleur *colorcet-11*, pour un index allant de 1 à 256 et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

III.1.2.3 Codage couleur de la retardance linéaire

Dans cette sous-section, nous allons nous intéresser à la manière la plus appropriée de représenter l'amplitude de la retardance linéaire, soit une seule information polarimétrique.

Codage linéaire

Pour représenter fidèlement de telles images, il est recommandé d'utiliser une table de couleurs dont la luminosité est linéaire par rapport aux valeurs à représenter [234]. Afin de répondre à ce critère de nombreuses tables de couleurs ont été proposées, parmi lesquelles la table de couleurs *inferno*, développée par Stéfan van der Walt et Nathaniel Smith [243] (figure III.1.9)³.

Codage avec compression des hautes valeurs

Bien qu'elle soit la plus fidèle, une table de couleur dont la luminosité est linéaire par rapport aux valeurs à représenter n'est pas forcément la plus adéquate en pratique.

³. Aujourd'hui intégrée de manière standard dans de nombreux logiciels, par exemple la bibliothèque Matplotlib du langage de programmation Python.

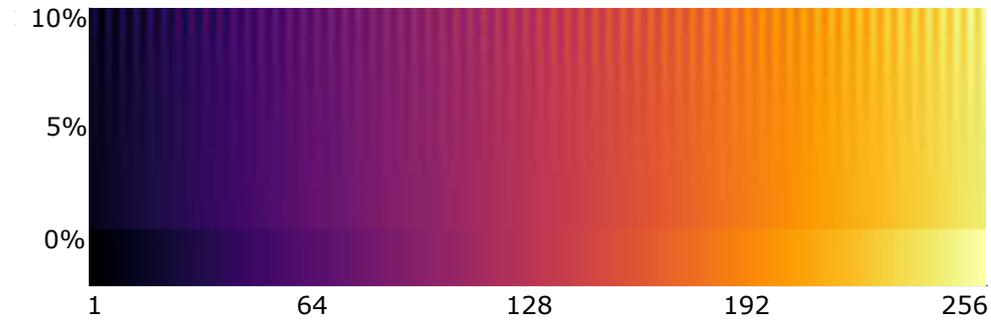


FIGURE III.1.9 – Image de test d'une table de couleur *inferno* [243], pour un index allant de 1 à 256 et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

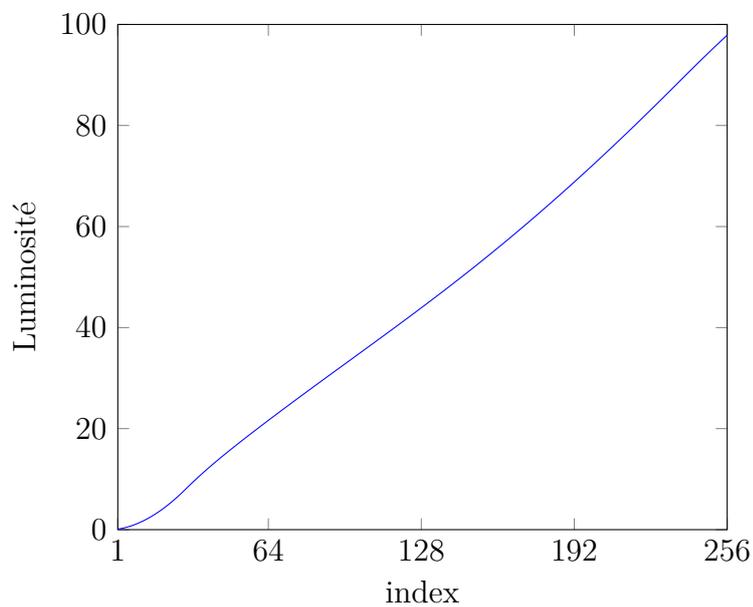


FIGURE III.1.10 – Luminosité d'une table de couleur *inferno* [243], pour un index allant de 1 à 256.

En effet dans le cas d'images présentant une grande dynamique de valeurs à représenter (ce qui est souvent le cas pour les milieux d'intérêt biomédical), une telle représentation a tendance à atténuer le contraste pour les faibles valeurs, la plus grande partie de la dynamique de luminosité étant occupée par les fortes valeurs.

Pour contourner ce problème et accentuer le contraste pour les valeurs faibles et intermédiaires, il faut réduire la part de la dynamique utilisée pour représenter les fortes valeurs et accroître celle utilisée pour représenter les faibles valeurs, à l'instar des techniques de compression dynamique de contraste, courante en photographie ou en vidéo [244].

Cela revient à augmenter la pente de la courbe de luminosité en fonction des valeurs à représenter pour les faibles valeurs et à réduire cette pente pour la représentation des fortes valeurs. La table de couleur *hot*, présentant cette caractéristique est présente de manière standard dans MATLAB. Elle est basée sur l'échelle de couleur du rayonnement du corps noir, d'où le nom de *temperature-color scale* qui est associée à ce type de table de couleur [245]. Sa courbe de luminosité en fonction de la valeur est représentée figure III.1.11.

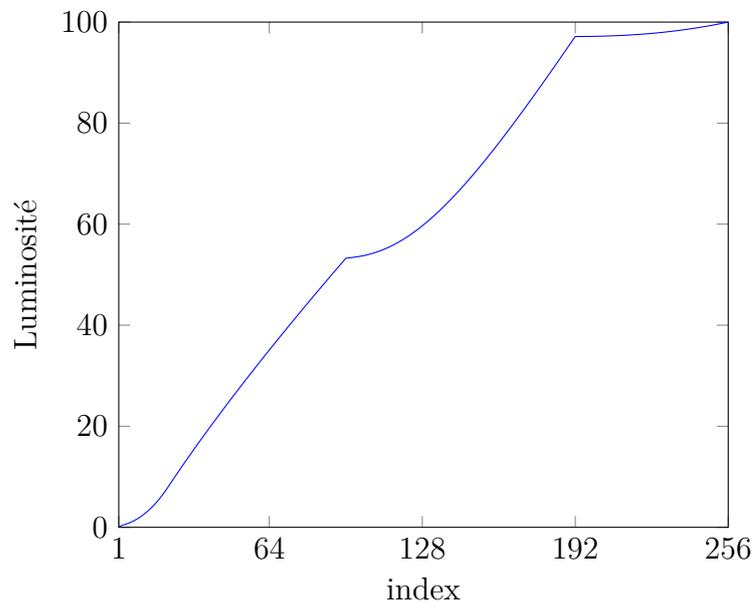


FIGURE III.1.11 – Luminosité d'une table de couleur *hot*, pour un index allant de 1 à 256.

Nous pouvons constater sur l'image de test, figure III.1.12, qu'elle présente un meilleur

contraste pour représenter les valeurs faibles et intermédiaires. Nous utiliserons donc cette table de couleur pour représenter l'amplitude de la retardance linéaire.

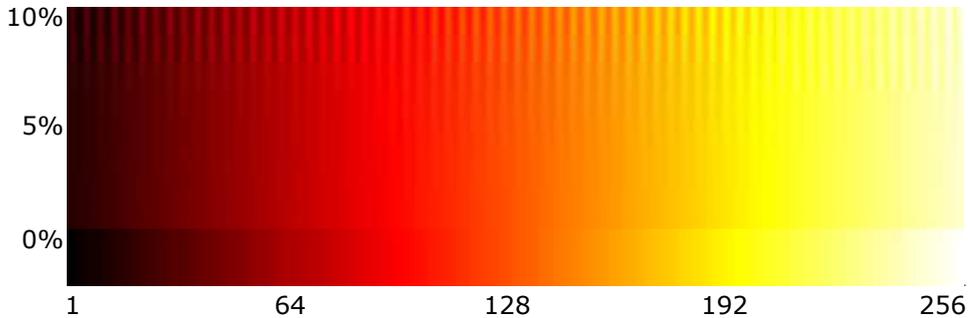


FIGURE III.1.12 – Image de test d'une table de couleur *hot*, pour un index allant de 1 à 256 et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

III.1.2.4 Codage couleur de l'azimut

Dans cette sous-section, nous allons nous intéresser à la manière la plus appropriée de représenter simultanément l'amplitude de la retardance linéaire et son azimut, soit deux informations polarimétriques.

Présentation du codage HSV classique

Pour représenter simultanément deux informations de type amplitude et orientation, il est usuel d'utiliser une table de couleurs basée sur la représentation *HSV* (*Hue*, *Saturation*, *Value*) [246], où la teinte (*Hue*) va servir à représenter l'orientation et l'intensité (*Value*) va servir à représenter l'amplitude. Ce type de représentation a été introduite pour les mesures polarimétriques en 1977 par G. Bernard et R. Wehner [247].

Ici nous allons utiliser l'intensité pour représenter l'amplitude de la retardance linéaire et la teinte pour représenter son azimut. Ainsi avec cette représentation nous pouvons représenter simultanément les deux informations polarimétriques. Notons que l'azimut n'étant connu qu'à π près, chaque teinte apparaît deux fois sur le cercle ($0 - 2\pi$).

Malheureusement à cause de son échelle de teinte, la table de couleurs HSV n'offre pas un contraste uniforme pour toutes les valeurs d'azimut à représenter, tel que l'illustre son image de test (figure III.1.13).

En effet, certaines zones présentent de très bons contrastes, par exemple autour du bleu, alors que d'autres zones ont un contraste médiocre, par exemple autour du vert.

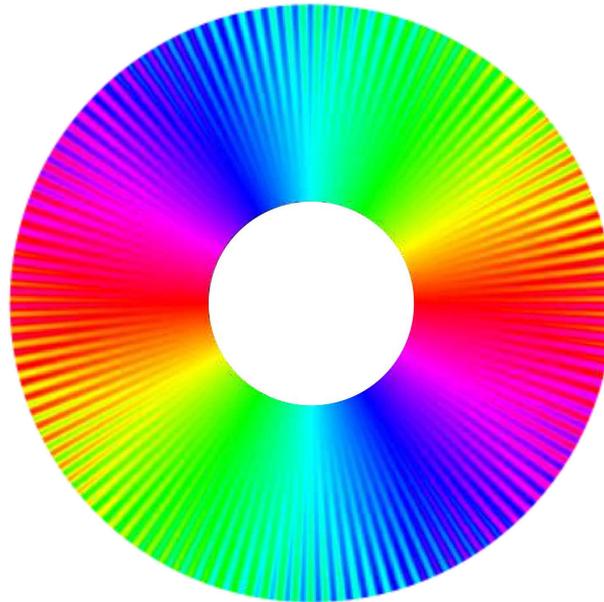


FIGURE III.1.13 – Image de test d’une table de couleur *HSV*, pour des valeurs indexées allant de 0 à 2π et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

Cela se traduit par la présence de plateaux sur la courbe de la luminosité en fonction de la valeur d’azimut à représenter (voir figure III.1.14).

Égalisation du contraste du codage HSV

Afin d’avoir un contraste homogène pour toutes les valeurs d’azimut, il faut que les teintes de la table de couleurs soient choisies de telle sorte qu’il n’y ait pas de plateaux sur la courbe de la luminosité en fonction de la valeur à représenter.

Afin de corriger cela, P. Kovesi a développé une fonction MATLAB appelée *equalisecolormap.m*, disponible sur son site internet personnel⁴, permettant d’égaliser la perception d’une table de couleur en réajustant ses teintes. Nous l’avons utilisée pour corriger la table de couleur HSV et nous avons ainsi obtenu une nouvelle table de couleurs que nous avons appelée *HSV-E*.

En traçant la courbe de la luminosité en fonction de la valeur à représenter (voir figure III.1.15), nous constatons la disparition des plateaux présents sur la courbe de la table de couleur HSV. Cette nouvelle courbe est une succession de segments de droites, ainsi la relation entre valeurs à représenter et luminosité est linéaire sur chaque segment.

4. <https://www.peterkovesi.com>

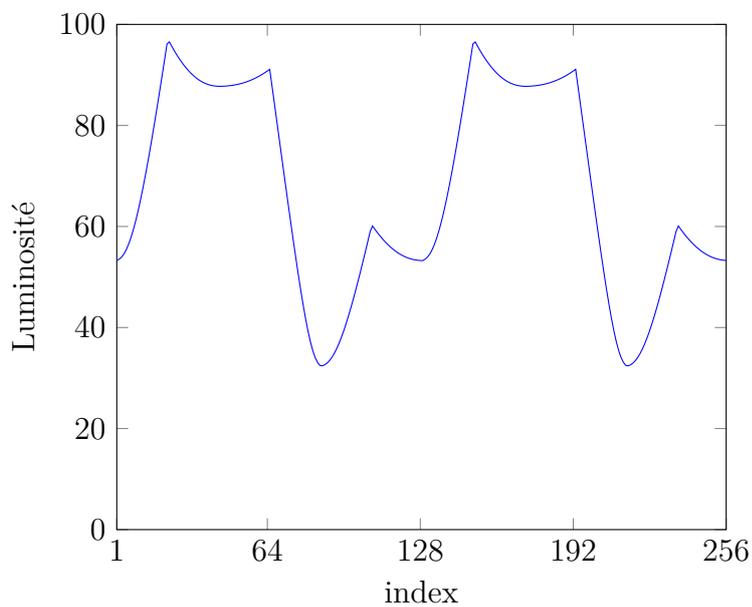


FIGURE III.1.14 – Luminosité d’une table de couleur *HSV*, pour un index allant de 1 à 256.

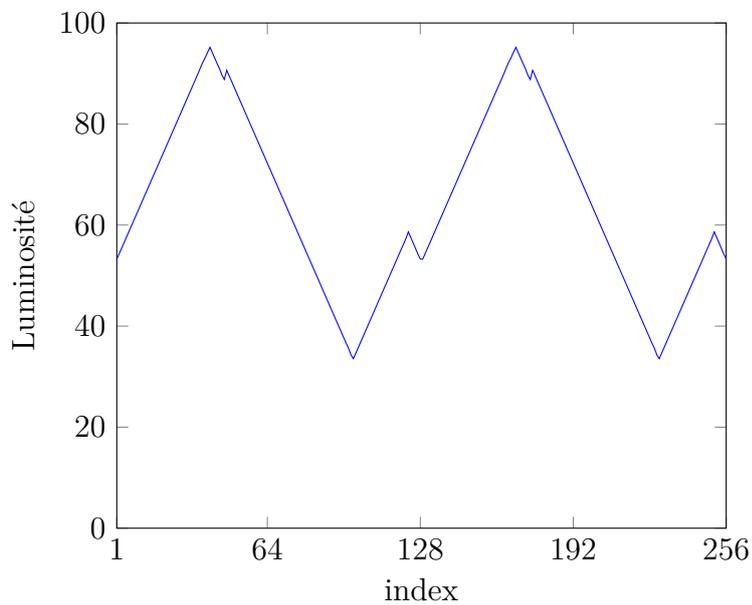


FIGURE III.1.15 – Luminosité d’une table de couleur *HSV-E*, pour un index allant de 1 à 256.

Ceci se traduit par un contraste bien plus uniforme quel que soit l'azimut à représenter, ainsi qu'il est possible de le constater sur l'image de test (figure III.1.16).

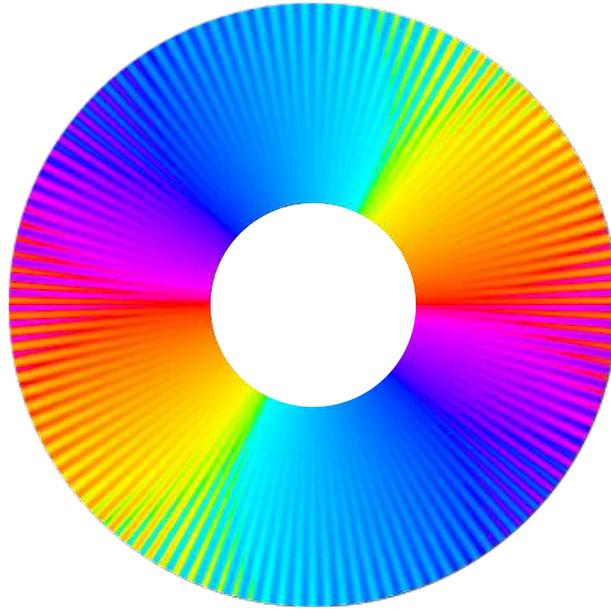


FIGURE III.1.16 – Image de test d'une table de couleur *HSV-E*, pour des valeurs indexées allant de 0 à 2π et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

Notons par ailleurs qu'il serait également possible à l'instar de G. Bernard et R. Wehner d'utiliser la dimension *Saturation* pour représenter en plus le degré de polarisation [247]. Toutefois par souci de lisibilité, nous avons préféré dans ce manuscrit afficher le degré de dépolarisation sur une image dédiée.

III.1.2.5 Codage couleur du degré de dépolarisation

Les milieux que nous souhaitons étudier étant fins (coupe histologique, culture cellulaire, etc.), ceux-ci ne présentent que peu de dépolarisation.

Plutôt que de représenter le degré de polarisation, dont les valeurs seraient toujours très proches de 1, nous avons choisi de représenter le degré de dépolarisation. Ainsi les zones où il n'y a pas de dépolarisation auront pour valeurs 0 et les zones présentant une dépolarisation une valeur strictement supérieure à 0.

Pour représenter ce degré de dépolarisation nous avons opté pour une table de couleur qui, à l'instar de la table de couleur *hot* utilisée pour l'affichage de l'amplitude de la retardance linéaire, accentue les faibles valeurs, c'est à dire que sa courbe de luminosité

en fonction des valeurs à représenter à une pente plus forte pour les faibles valeurs et plus faible pour les valeurs proches de 1.

Pour ce faire, nous avons créé une nouvelle table de couleur en permutant deux couleurs de la table de couleurs *hot*, que nous avons nommée *ddp*. Sa courbe de luminosité est présentée figure III.1.17.

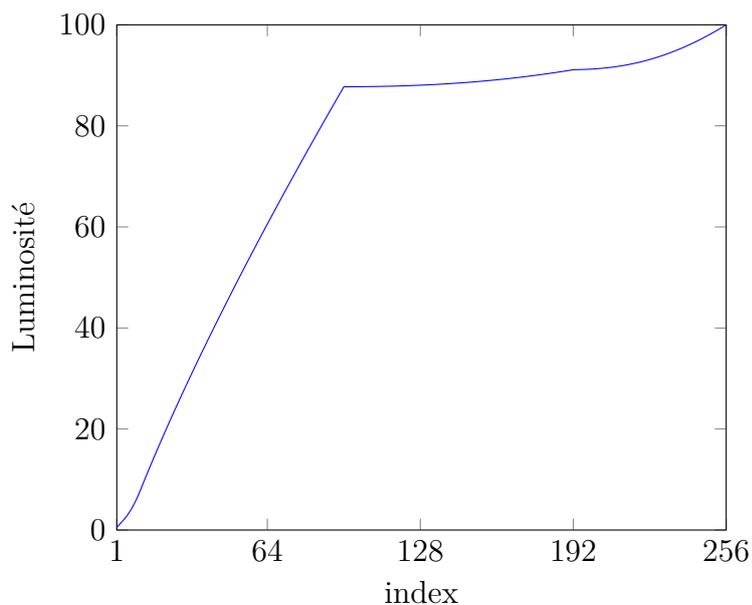


FIGURE III.1.17 – Luminosité d'une table de couleur *ddp*, pour un index allant de 1 à 256.

Cette table de couleurs accentue fortement les faibles valeurs et présente donc un contraste accru pour celles-ci tel que nous le montre l'image de test (figure III.1.18).

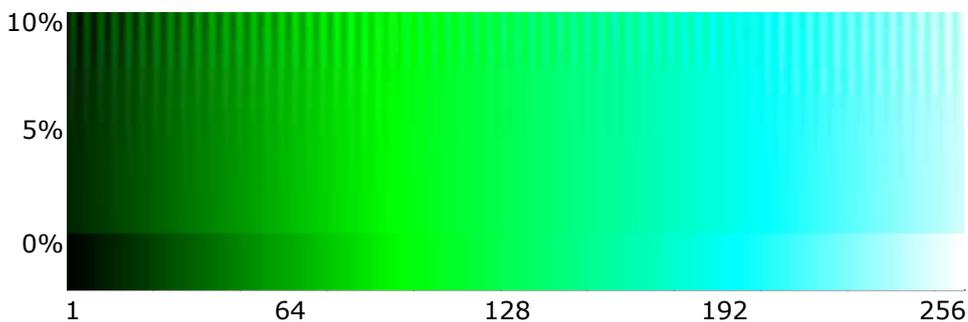


FIGURE III.1.18 – Image de test d'une table de couleur *ddp*, pour un index allant de 1 à 256 et un contraste du motif sinusoïdal allant de 0 à 10%.

III.1.2.6 Pistes de réflexions

De très nombreuses tables de couleurs alternatives ont été développées, avec toute sorte de spécificités, notamment par les auteurs précédemment cités, P. Kovesi⁵ et F. Crameri⁶, qui en proposent en téléchargement sur leurs sites internet respectifs.

Prise en compte des déficiences visuelles

Loin d'être un phénomène anecdotique, près de 8% des hommes et 0.5% des femmes souffrent d'une perception altérée des couleurs [248]. La prise en compte de ces déficiences visuelles est donc un enjeu important de la conception de tables de couleurs.

Aussi il est possible de simuler le rendu d'une table de couleurs tel que perçu par une personne atteinte de déficience visuelle et ainsi d'optimiser le choix des couleurs de la table afin d'elle soit robuste aux différents types de déficiences visuelles, c'est-à-dire que l'information transmise via ce codage couleur reste la même malgré ces différences de perception [248].

Utilisation de format d'image HDR

Classiquement les images RGB sont encodées sur 8 bits, c'est à dire que chaque canal R , G et B encode des valeurs sur $2^8 = 256$ niveaux.

Or pour représenter des images présentant de grandes dynamiques, il est possible d'utiliser des formats d'image dit *HDR* (*High Dynamic Range*), qui vont encoder chaque couleur sur un nombre de niveaux bien plus important, par exemple 16 bits, soit $2^{16} = 65536$ niveaux.

Ceci est particulièrement intéressant pour les milieux d'intérêt biomédical, afin de révéler des détails fins et/ou peu contrastés dans une image [249].

Toutefois l'utilisation d'un tel format d'image n'est pas sans difficulté [250]. En effet, celles-ci sont moins pratiques à manipuler car tous les logiciels ne permettent pas de les traiter. En outre, tous les écrans et rétroprojecteurs ne sont pas capables d'afficher ces images avec cette dynamique et leur impression avec une qualité appropriée n'est pas non plus aisée.

5. <https://colorcet.com/index.html>

6. <https://www.fabiocrameri.ch/colourmaps/>

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié comment la complexité du milieu d'étude pouvait affecter la mesure de la retardance linéaire. Aussi il conviendra d'être vigilant quant à l'interprétation des images obtenues lorsque le dispositif sera implémenté dans un microscope à balayage, dans le chapitre suivant.

Par ailleurs, nous avons étudié comment représenter les informations polarimétriques, en choisissant des tables de couleurs les plus adaptées à nos besoins. Nous démontrons l'intérêt de ces choix dans le prochain chapitre avec des images de milieux d'intérêt biomédical.

IMAGERIE DE BIRÉFRINGENCE À HAUTE SENSIBILITÉ AVEC UN MICROSCOPE À BALAYAGE LASER

Dans le chapitre II.3, nous avons démontré le principe de la mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimuth par codage spectral de la polarisation.

L'utilisation d'une source à balayage en fréquence optique rapide, qui permet de réaliser une mesure en seulement $10\mu s$, et d'une simple photodiode à avalanche comme détecteur, autorise l'implémentation de ce dispositif dans un microscope à balayage laser en transmission.

Dans ce type de microscope en effet, deux miroirs galvanométriques (*scanner*) sont ré-imaginés sur la pupille d'entrée de l'objectif du microscope, permettant de balayer le faisceau laser sur le milieu d'étude. Pour chacune des positions du faisceau laser, le signal est mesuré par un détecteur monocanal, dans notre cas une photodiode à avalanche (*APD*), en un temps de mesure de quelques μs , appelée temps de résidence ou *pixel-dwell time*, puis numérisé, de manière synchrone avec les signaux de commande des miroirs galvanométriques, formant alors un point de l'image. L'image est ainsi reconstruite point à point au fur et à mesure de l'acquisition.

Dans les milieux d'intérêt biomédical, fins, tels que des coupes histologiques ou des cultures cellulaires, l'anisotropie optique prépondérante est la biréfringence linéaire, associée à la présence de structures ordonnées telles que des fibres de collagène et d'élastine ou des fibres musculaires [16, 21, 22], comme présenté dans l'état de l'art, chapitre I.1.

Puisque ces milieux d'étude sont fins la retardance linéaire résultante est faible. L'intérêt de la mesure sur fond noir, beaucoup plus sensible que les techniques sur fond clair, est de permettre de révéler des structures fines et/ou faiblement biréfringentes dans ces milieux, en deçà de la résolution des techniques sur fond clair déjà existantes, en particulier le microscope à balayage permettant la mesure complète de la matrice de Mueller

développé lors d'une précédente thèse au sein du laboratoire OPTIMAG [30, 48].

Par ailleurs la biréfringence peut également être induite par contrainte mécanique ou par écoulement [251]. L'imagerie sur fond noir en temps réel de la retardance linéaire est donc un outil potentiellement intéressant pour étudier le rôle des contraintes mécaniques dans des phénomènes dynamiques à l'échelle cellulaire [23].

De plus, le dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire permet également d'estimer la dépolarisation et cela est notamment intéressant pour obtenir des informations complémentaires pour les coupes histologiques qui peuvent présenter de faibles dépolarisations.

La configuration microscope à balayage laser permet en outre d'envisager de coupler au sein d'un même instrument d'autres techniques d'imagerie, notamment les modalités non-linéaires, telles que la génération de seconde harmonique (*SHG*) et la fluorescence à deux photons (*TPEF*), déjà utilisées au sein du laboratoire OPTIMAG [25-27].

Ceci est particulièrement intéressant pour l'étude du collagène fibrillaire de type I, omniprésent dans la matrice extra-cellulaire des tissus animaux et humains (30% environ du poids sec d'un vertébré). En effet, ce type de collagène est biréfringent et présente également une réponse non-linéaire (*SHG*). En outre cette protéine est impliquée dans un certain nombre de pathologies (atteinte et régénération de tissus, fibrose, cancer, etc.).

L'imagerie du collagène fibrillaire de type I, soit par la mesure de la retardance linéaire associée, soit par la mesure de la seconde harmonique générée, permettant de connaître l'arrangement de ces fibres, est donc un outil puissant à la fois pour les études structurales et pour le diagnostic biomédical.

Dans le présent chapitre nous allons présenter l'implémentation optique, mécanique et électronique/logicielle du dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire dans un microscope à balayage laser.

Nous allons ensuite présenter quelques résultats illustrant les performances de cette configuration, notamment en terme de sensibilité. Nous verrons ensuite les complémentarités existantes avec les techniques non-linéaires.

III.2.1 Implémentation opto-mécanique

Nous avons intégré le dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire par codage spectral de la polarisation dans un microscope à balayage Thorlabs CM100 (voir la photographie III.2.1).

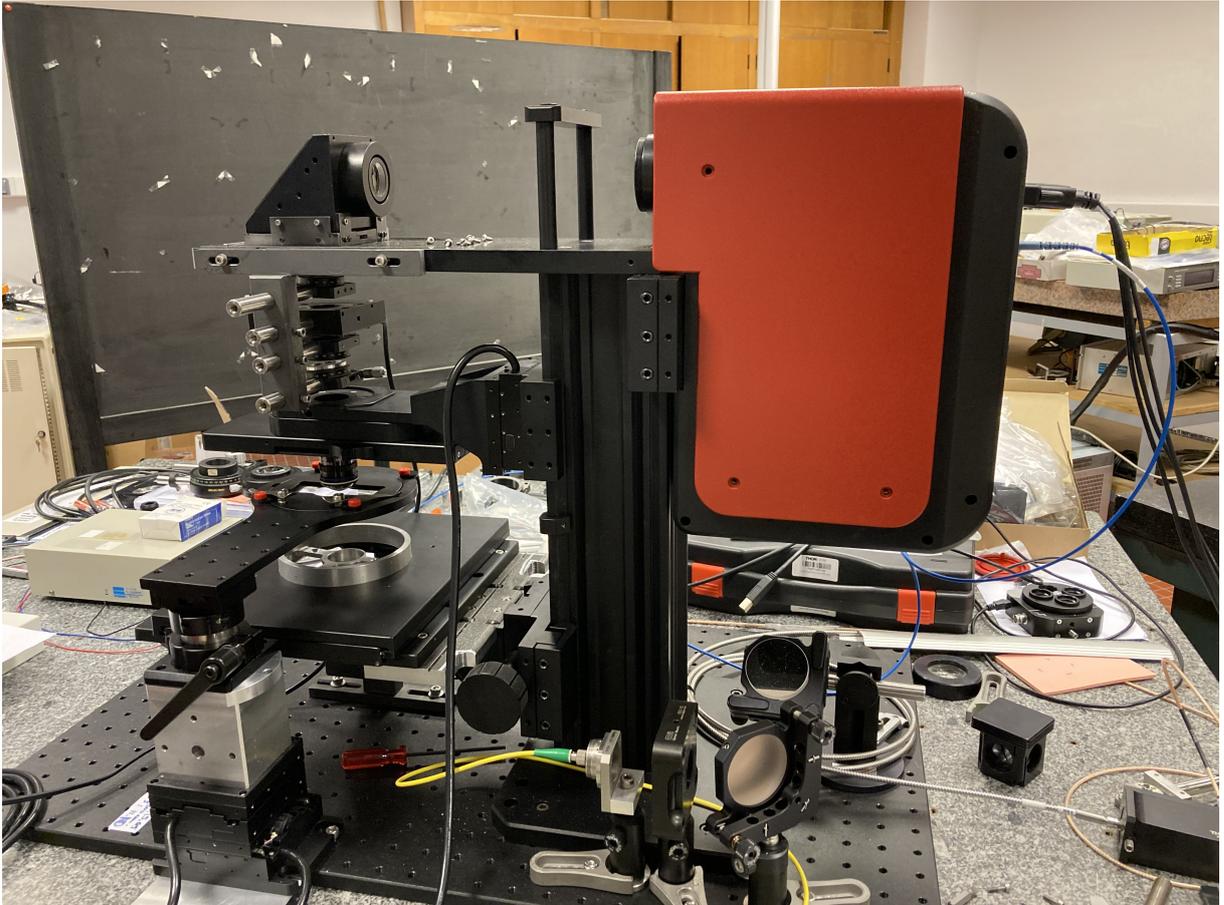


FIGURE III.2.1 – Photographie du dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire intégré à un microscope à balayage Thorlabs CM100.

Ce microscope a été acquis dans le cadre du CPER *SOPHIE*. Il s'agit d'un microscope destiné à la base à la microscopie confocale de réflectance, tout en étant modulable, ce qui a justifié le choix de celui-ci. Son montage et son alignement ont été réalisés dans le cadre des travaux présentés dans ce manuscrit.

III.2.1.1 Schéma général du microscope à balayage laser

La figure III.2.2 montre le schéma général du microscope, équipé du dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire par codage spectral de la polarisation.

Dans sa configuration nominale, c'est-à-dire de la mesure confocale en réflexion, le microscope CM100 est équipé d'un laser rouge Thorlabs S1FC660 ($\lambda = 660 \text{ nm}$, représenté en vert sur le schéma figure III.2.2) relié au microscope par une fibre optique (ref : P1-630PM-FC-2) et injecté par le côté du microscope. Ce faisceau est renvoyé vers le scanner à l'aide d'une lame semi-réfléchissante M_0 amovible et repositionnable. Nous avons conservé ce laser pour la phase d'alignement du microscope.

Dans la configuration nominale, le faisceau réfléchi par le milieu d'étude est transmis par la lame semi-réfléchissante, et arrive au niveau du *pin-hole* (filtrage spatial de la configuration confocale), puis est transmis par une fibre optique vers un PMT. Après quelques essais pour vérifier le bon fonctionnement du microscope dans sa configuration nominale, nous avons retiré le bloc *pin-hole* et d'injection dans la fibre optique.

Dans la configuration de mesure de la retardance linéaire, la source laser à balayage en fréquence optique est fibrée, et nous avons placé en sortie un système de collimation ajustable (Thorlabs PAFA-X-4-C) produisant un faisceau collimaté d'environ 1 mm de diamètre, aligné à l'horizontal, comme pour le montage sur table optique. A l'aide de deux miroirs d'injection (non représentés sur le schéma), nous renvoyons vers le haut ce faisceau et nous le dirigeons vers les miroirs du scanner, en passant par la voie auparavant utilisée par le signal en réflexion de la configuration confocale.

En aval du scanner la lentille dite de *scan* et la lentille dite de *tube* forment un montage $4f$ permettant de ré-imager les miroirs galvanométriques du scanner sur la pupille d'entrée de l'objectif du microscope Obj_1 , via le miroir de renvoi M_1 faisant passer le faisceau de l'horizontale à la verticale.

Le condenseur Obj_2 va collecter le signal en aval de l'échantillon puis le faisceau est renvoyé à l'horizontale par un miroir de renvoi M_2 , à travers une lentille de collection, nommée *collecteur* jusqu'au détecteur D .

Puisque les états de polarisation peuvent être modifiés par réflexion sur un miroir, nous

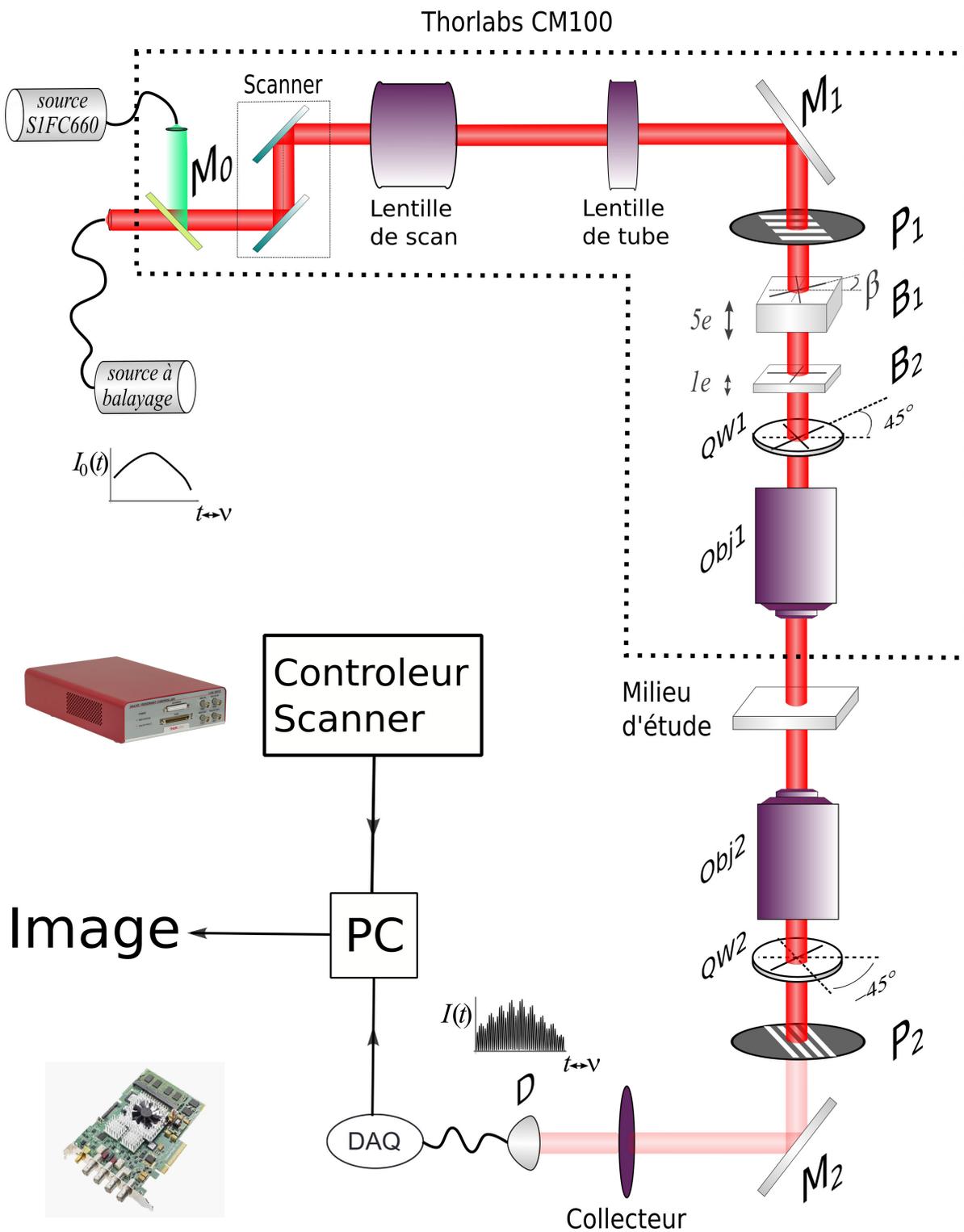


FIGURE III.2.2 – Schéma général du microscope à balayage, équipé du dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire par codage spectral de la polarisation.

plaçons l'ensemble générant les états de polarisation nécessaire à la mesure, comprenant le polariseur P_1 , les deux lames de codage B_1 et B_2 , orientées respectivement d'un angle β par rapport à l'axe du polariseur P_1 et aligné à l'axe du polariseur P_1 , ainsi que la première lame $\lambda/4$ QW_1 , orienté à -45° par rapport à l'axe du polariseur P_1 , entre le miroir de renvoi M_1 et l'objectif du microscope Obj_1 . Pour ce faire une nacelle permettant de supporter ces optiques a été conçue et fabriquée au sein du laboratoire.

De même l'ensemble permettant l'analyse des états de polarisation, comprenant la deuxième lame $\lambda/4$ QW_2 , orienté à $+45^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur P_1 , ainsi que l'analyseur P_2 , croisé avec le polariseur P_1 , est placé entre le condenseur Obj_2 et le miroir de renvoi M_2 . Ainsi, la mesure ne sera pas affectée par les réflexions sur les miroirs de renvoi. Ici un support fixé à la table et permettant d'installer ces optiques sous le condenseur a également été conçu et fabriqué au sein du laboratoire.

Nous utilisons ici la même source à balayage en fréquence optique et le même détecteur D , les mêmes lames de codages B_1 et B_2 ainsi que les mêmes lames $\lambda/4$ QW_1 et QW_2 que pour la configuration sur table optique développée dans le chapitre II.3. Nous avons en revanche changé de polariseurs P_1 et P_2 .

En effet, les polariseurs Glan-Taylor n'ayant pas une très bonne acceptation angulaire, de l'ordre $\pm 3^\circ$, ils ne sont pas très adaptés à un système imageur. Nous les avons donc remplacés par des polariseurs à base de nanoparticules d'argent (PolarcorsTM), dont le taux d'extinction a été évalué à $7.2 \cdot 10^4$, selon la même méthode que pour les polariseurs Glan-Taylor (voir annexe A.II) et dont l'acceptation angulaire est de $\pm 15^\circ$.

De même que pour le montage sur banc, la lame de codage B_1 est montée sur une monture rotative motorisée (Newport SR50PP) afin de pouvoir ajuster l'angle β . La lame de codage B_1 , les lames $\lambda/4$ QW_1 et QW_2 ainsi que les polariseurs P_1 et P_2 sont quant à eux montés dans des montures rotatives, à réglage manuel. Toutes ces montures peuvent être inclinées par rapport à l'horizontale, afin d'éliminer d'éventuelles réflexions parasites.

III.2.1.2 Configuration optique

Schéma optique

La figure III.2.3 présente le schéma optique du microscope à balayage, du scanner au détecteur. Dans un souci de lisibilité, les miroirs de renvoi M_1 et M_2 ainsi que les optiques du dispositif de mesure de la retardance n'y sont pas représentés.

Nous avons ici un montage $4f$ formé par la lentille de scan et la lentille de tube,

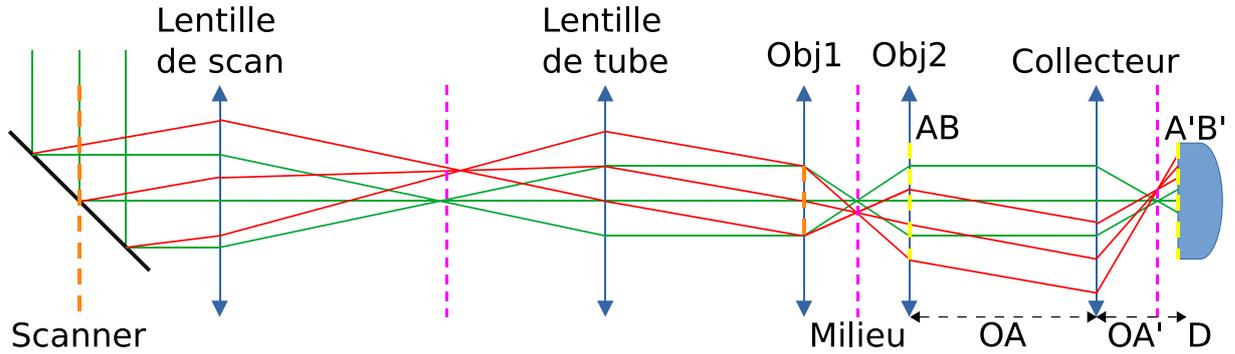


FIGURE III.2.3 – Schéma optique du microscope à balayage

qui vont ré-imager les miroirs du scanner sur la pupille d'entrée de l'objectif $Obj1$. Le mouvement angulaire des miroirs du scanner, ré-imagé sur la pupille d'entrée de l'objectif $Obj1$, va se traduire par un mouvement latéral du faisceau dans le plan focal de l'objectif $Obj1$, où est placé le milieu d'étude. Le condenseur $Obj2$ est placé de manière à former l'image du milieu à l'infini. Enfin, la lentille dite *collecteur* va permettre de ré-imager la pupille de sortie du condenseur $Obj2$ sur la surface sensible du détecteur.

La pupille de sortie du condenseur $Obj2$ est notée AB sur le schéma (figure III.2.3) et son diamètre est $\bar{AB} \approx 10 \text{ mm}$. Le collecteur est une lentille de focale 50 mm , placée à une distance $\bar{OA} \approx 600 \text{ mm}$. La surface sensible du détecteur est placée à une distance de $\bar{OA}' \approx 60 \text{ mm}$ du collecteur. Nous pouvons ainsi déterminer la taille de l'image de la pupille d'entrée sur la surface sensible du détecteur $A'B'$ par la relation :

$$\frac{\bar{A'B'}}{\bar{AB}} = \frac{\bar{OA}'}{\bar{OA}} \quad (\text{III.2.1})$$

Ceci donne $\bar{A'B'} = \bar{AB} \times \bar{OA}'/\bar{OA} = 10 \times 60/600 = 1 \text{ mm}$, ce qui est inférieur au diamètre de la surface sensible du détecteur (3 mm). Nous sommes donc assurés de ne pas vigneter le signal au niveau du détecteur.

Définition, zoom, résolution spatiale et champ de l'image

Nous appelons *définition* de l'image le nombre de pixels que contient sa largeur et sa hauteur. Celle-ci est réglable grâce au logiciel ThorImage®LS. Sauf mention contraire, les images présentées dans ce manuscrit ont une définition de 512×512 pixels.

Pour un nombre de pixels donné, il est possible d'augmenter ou de réduire la surface du milieu d'étude balayée par le faisceau laser, à l'aide du logiciel ThorImage®LS. Cela

correspond au *zoom*. Au zoom x1, notre image est vignetée par les polariseurs P_1 et P_2 , nous n'utilisons donc dans ce manuscrit que des zooms supérieurs ou égaux à x2.

La *résolution spatiale* r_s de l'image correspond à la taille minimale d'un détail observable. La résolution théorique est limitée par la diffraction, et dépend de l'ouverture numérique de l'objectif NA_{Obj1} , de celle du condenseur NA_{Obj2} et de la longueur d'onde λ_0 , selon le critère de Rayleigh :

$$r_s = \frac{1.22\lambda_0}{NA_{Obj1} + NA_{Obj2}} \quad (\text{III.2.2})$$

Nous avons listé dans le tableau III.2.1 la liste des couples objectif/condenseur utilisés dans ce manuscrit.

objectif Obj_1 /condenseur Obj_2	Références
10 × /10×	EF NA 0.25 IR P / UPlanFL N NA 0.30 P
20 × /10×	NA 0.35 IR / EF NA 0.25 IR P
60 × / <i>Cond</i>	UPlan SApo NA 1.2 W / Condenseur Olympus NA 0.9

TABLE III.2.1 – Références des couples objectif/condenseur utilisés dans ce manuscrit

Le tableau III.2.2 indique pour ces couples les ouvertures numériques de l'objectif et du condenseur ainsi que la limite de résolution théorique correspondante, à la longueur d'onde centrale de la swept-source $\lambda_0 = 1060 \text{ nm}$.

Obj_1/Obj_2	NA_{Obj1}	NA_{Obj2}	$r_s (\mu m)$
10 × /10×	0.25	0.30	2.4
20 × /10×	0.35	0.25	2.2
60 × / <i>Cond</i>	1.2	0.9	0.6

TABLE III.2.2 – Limite de résolution théorique avec les couples objectif/condenseur utilisés dans ce manuscrit, à $\lambda_0 = 1060 \text{ nm}$

Il n'a pas été fait de détermination expérimentale de la résolution spatiale et cela fait partie des expériences qu'il reste à mener sur ce microscope.

Le *champ* de l'image va correspondre à la portion du milieu d'étude observable dans une image. Celui-ci dépend du zoom et du grossissement de l'objectif et est dans notre cas limité par le vignettage sur les polariseurs P_1 et P_2 . Par exemple, le champ au zoom x4 est d'environ $65 \mu m$ avec le couple 60 × /*Cond*. Avec une définition de l'image de 512 pixels, cela correspond à une taille de pixel de $0.13 \mu m$, qui est inférieure à la résolution spatiale théorique de $0.6 \mu m$.

III.2.1.3 Procédures d'alignement

L'intégration de notre polarimètre dans le microscope à balayage requiert deux procédures d'alignement, une pour l'imagerie et une pour le dispositif de mesure de la retardance linéaire. Nous allons ici les décrire séparément mais en pratique les deux ont été effectuées conjointement.

Alignement de l'imagerie

Nous avons réalisé l'alignement de l'aspect imagerie en deux temps. En effet, le fabricant du microscope propose une procédure afin d'aligner le miroir de renvoi M_1 et le laser rouge (ainsi que le bloc détection pour la configuration confocale, que nous avons retiré). Nous avons donc d'abord suivi cette procédure puis aligné la swept-source sur le laser rouge. Enfin, nous avons aligné la partie objectif/condenseur, miroir de renvoi M_2 et détecteur.

- Après avoir allumé le laser rouge et fixé les miroirs galvanométriques en position centrée, via le logiciel ThorImage®LS, nous utilisons l'outil d'alignement fourni par le fabricant, préalablement vissé à la place de l'objectif, pour aligner le miroir de renvoi M_1 .
- Une fois le miroir M_1 aligné, nous retirons l'outil d'alignement et nous alignons le laser rouge de manière à avoir une distribution d'énergie uniforme dans le faisceau, observé sur un papier blanc au niveau de la table, toujours en suivant la procédure Thorlabs.
- Nous plaçons un diaphragme au point focal de la lentille de scan ainsi qu'un au niveau de l'échantillon, que nous alignons avec le faisceau rouge. Puis nous allumons la swept-source et nous réglons les miroirs d'injection de manière à aligner le faisceau de la swept-source sur le faisceau rouge. Il doit ainsi passer par les deux diaphragmes. Cela fait, nous éteignons le laser rouge et nous retirons la lame séparatrice, en vérifiant que cela ne fait pas bouger le faisceau de la swept-source.
- Nous plaçons alors le miroir de renvoi M_2 et nous l'orientons de manière à avoir un faisceau parallèle à la table, en nous aidant pour cela d'un diaphragme dont la hauteur est fixée.
- Nous installons ensuite le détecteur, que nous alignons d'abord grossièrement. Après avoir baissé la puissance incidente, nous l'allumons et nous ajustons finement son alignement en x/y à l'aide de vis micrométriques. Nous maximisons le

- signal mesuré par le détecteur et affiché en temps réel, grâce à un programme LabVIEW dédié.
- Nous plaçons alors l'objectif (position fixe) et le condenseur. Nous alignons ce dernier en x/y de manière à maximiser le signal.
 - Puis nous plaçons la lentille de collection. A ce moment, nous passons les miroirs galvanométriques en mode scanner. Il s'agit de positionner la lentille de telle sorte que le signal mesuré ne fluctue plus avec le balayage du scanner, cela signifie que nous sommes alors correctement imagés sur la surface sensible du détecteur. Nous commençons par travailler avec un fort zoom (x21) pour ajuster grossièrement la position de la lentille, puis nous affinons en diminuant au fur et à mesure le zoom.
 - Enfin, à l'aide d'un programme LabVIEW, nous affichons l'image obtenue et nous vérifions que l'intensité est homogène sur l'ensemble de l'image.

Alignement du dispositif de mesure de la retardance linéaire

Pour l'alignement du dispositif de mesure de la retardance linéaire, nous avons procédé ainsi, sans balayage, en mode faisceau-centré :

- Le faisceau en sortie de la swept-source étant polarisé, nous avons aligné le polariseur P_1 sur le miroir de renvoi M_1 de manière à maximiser la puissance transmise à l'aide d'un puissance-mètre Thorlabs S170C. L'axe du polariseur P_1 va alors servir de référence pour l'alignement des autres éléments.
- Nous plaçons l'analyseur P_2 et nous croisons son axe avec l'axe du polariseur P_1 en minimisant le signal mesuré par le détecteur.
- Nous installons alors la lame B_2 d'épaisseur $1e$. Celle-ci doit être alignée sur l'axe du polariseur P_1 . Si ce n'est pas le cas, le signal comporte une modulation à la fréquence $1f_0$. Nous tournons donc la lame de manière à éliminer cette modulation. Une fois cela fait, nous décroisons légèrement l'analyseur P_2 . Si une modulation à la fréquence $1f_0$ apparaît, c'est que la lame était alignée avec l'axe de l'analyseur P_2 au lieu d'être aligné sur l'axe du polariseur P_1 . Nous recommençons donc l'alignement jusqu'à ce qu'aucune modulation n'apparaisse lorsque nous décroisons l'analyseur. Une fois la bonne position trouvée, nous recroisons l'analyseur.
- Nous installons ensuite la lame B_1 d'épaisseur $5e$, sur son support motorisé. Une modulation à la fréquence $5f_0$ apparaît. Nous tournons la lame jusqu'à l'annuler : il s'agit là de la position de référence $\beta = 0^\circ$. Nous réglons ensuite $\beta \neq 0^\circ$ et nous ajustons l'analyseur P_2 de manière à annuler la modulation à la fréquence $6f_0$, ce

qui correspond à la position croisée.

- Nous plaçons ensuite la première lame $\lambda/4$ QW_1 , en ayant au préalable réduit la puissance optique incidente. Pour placer cette lame à 45° , il suffit de maximiser le signal mesuré par le détecteur ou en nous aidant d'un puissance-mètre.
- Nous terminons en installant la deuxième lame $\lambda/4$ QW_2 . Il s'agit ici, pour avoir une lame alignée à -45° , de minimiser la modulation à la fréquence $6f_0$. Ici nous pouvons ré-augmenter la puissance optique incidente.

III.2.1.4 Facteurs limitant la sensibilité de la mesure de la retardance linéaire

Dans la configuration microscope à balayage, deux facteurs supplémentaires par rapport à la configuration sur table optique, précédemment développée dans le chapitre II.3, vont venir limiter la sensibilité de la mesure. D'abord une perte de puissance optique incidente au niveau du milieu d'étude, liée aux pertes associées aux différentes optiques utilisées dans le microscope, mais aussi une perte du contraste des franges des spectres cannelés, qui semble liée aux taux d'extinction finis des couples objectif/condenseur ainsi qu'à des réflexions multiples entre polariseurs et objectif/condenseur.

Puissance optique transmise par le microscope

Afin de quantifier les pertes de puissance optique dans les différents étages du microscope et de déterminer les éléments qui en engendrent le plus, nous mesurons à l'aide d'un puissance-mètre Thorlabs S170C la puissance optique avant et après les différents éléments optiques de notre microscope et nous calculons pour chacun d'entre eux leur transmission, reportées dans le tableau III.2.3.

Étage	% transmis
scanner	85
lentille de scan	51
lentille de tube + M1	70
objectif x20 NA 0.35	50
condenseur x10 NA 0.25	70

TABLE III.2.3 – Transmission des éléments optiques du microscope à balayage

Nous constatons des pertes très importantes, notamment au niveau de la lentille de scan et de la lentille de tube. Ceci est lié au traitement de ces optiques, qui est surtout

destiné à travailler dans le domaine visible.

Nous constatons ainsi qu'à peine 11% de la puissance optique injectée dans le microscope est finalement collectée par le condenseur.

En reprenant l'équation II.1.31 :

$$\Delta LR = 2 \sqrt{\frac{n_{receiver}^2 + \sqrt{3/2} n_{shot} I_{sat}}{T_{acq} I_0 I_{sat}}} \quad (\text{III.2.3})$$

avec les paramètres mesurés expérimentalement dans la sous-section II.2.5.1, $n_{receiver} = 1.79 \text{ pW}/\text{Hz}^{1/2}$ ainsi que $n_{shot} = 2.26 \cdot 10^{-6} \text{ pW}/\text{Hz}$ et en considérant $I_{sat} \approx 5 \mu\text{W}$, nous pouvons calculer que la résolution théorique chute alors de $\Delta LR_{18mW} \approx 7.5 \cdot 10^{-4}^\circ$ pour $I_0 = 18 \text{ mW}$ à $\Delta LR_{1.9mW} \approx 2.3 \cdot 10^{-3}^\circ$ lorsque $I_0 = 1.9 \text{ mW}$.

Taux d'extinction des couples objectif/condenseur

Les couples objectif/condenseur utilisés (voir tableau III.2.1) ne sont pas neutres d'un point de vue polarimétrique [252, 253] et il convient donc d'en faire une caractérisation.

Afin d'étudier la réponse polarimétrique des couples objectifs/condenseurs, nous avons d'abord tracé sur la figure III.2.4 les spectres obtenus au centre de l'image, sans balayage et sans milieu d'étude, en se plaçant à $\beta = 2^\circ$ et en ajustant la puissance incidente de manière à ne pas saturer le détecteur le cas échéant, sans objectifs puis avec les couples $10 \times / 10 \times$, $20 \times / 10 \times$ et $60 \times / \text{Cond}$. La valeur de $\beta = 2^\circ$ correspond à la valeur permettant de saturer le détecteur avec la puissance incidente maximale, pour le couple $60 \times / \text{Cond}$. Celle-ci est plus importante que la valeur de β utilisée pour la configuration sur table optique ($\beta = 0.5^\circ$) du fait des pertes de puissance optique.

Nous voyons que la composante continue du signal est plus importante en présence des objectifs/condenseurs, cela au détriment du contraste de frange des spectres cannelés. Cela est particulièrement marqué avec le couple $60 \times / \text{Cond}$. Une modulation supplémentaire à la fréquence $6f_0$ est également présente sans et avec objectif. Elle correspond à la non-compensation des lames $\lambda/4$.

Aussi, afin de quantifier cet effet, nous avons évalué le taux d'extinction des couples objectifs/condenseurs, en se plaçant à $\beta = 0^\circ$. En effet le taux d'extinction du couple objectif/condenseur peut s'écrire :

$$\tau_{ext} = \frac{I_{\parallel}}{I_{\perp}} \quad (\text{III.2.4})$$

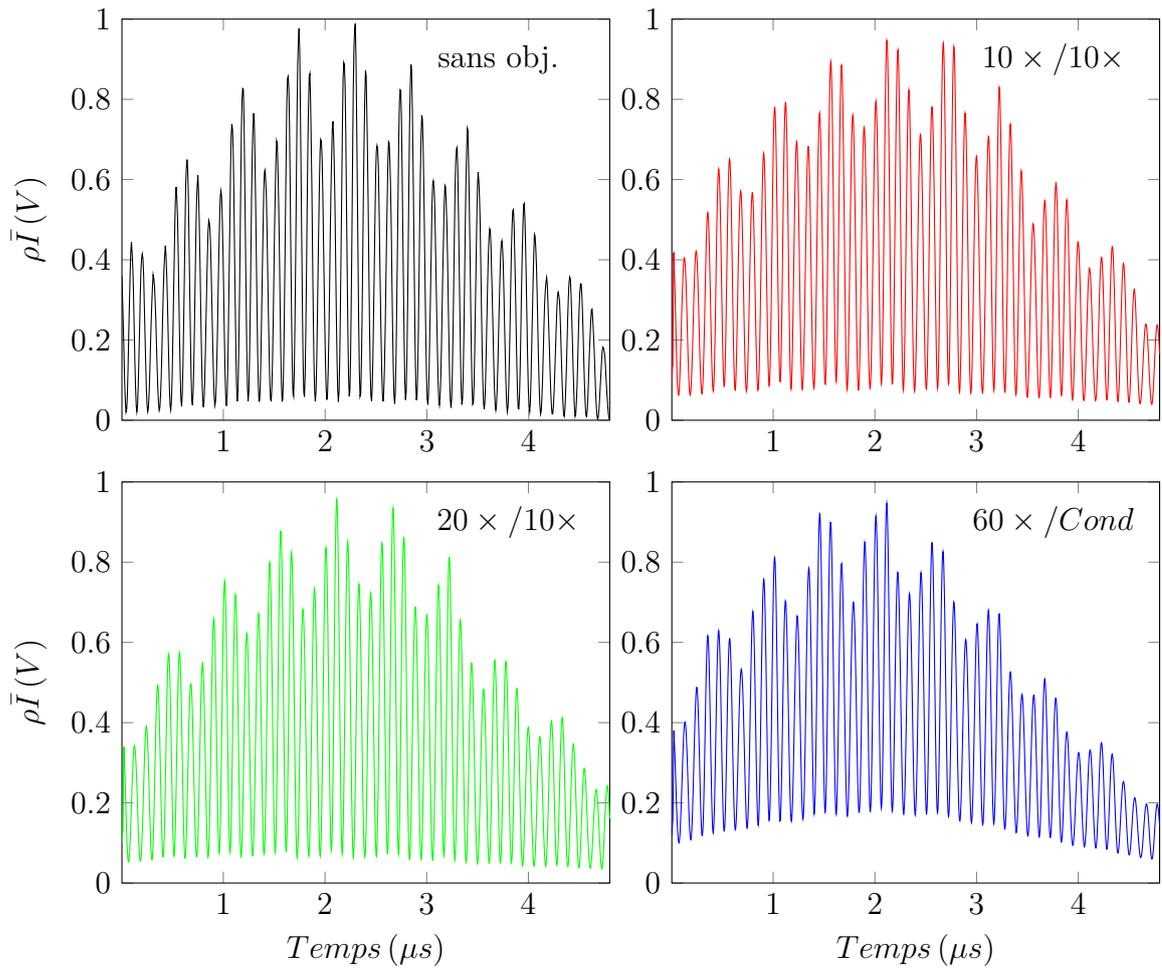


FIGURE III.2.4 – Spectres cannelés acquis sans objectifs, puis avec les couples $10 \times /10 \times$, $20 \times /10 \times$ et $60 \times /Cond$, avec $\beta = 2^\circ$

avec I_{\parallel} , la puissance maximale transmise, obtenue en orientant la lame QW_2 à $+45^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur P_1 et I_{\perp} , la puissance minimale transmise, obtenue en orientant la lame QW_2 à -45° par rapport à l'axe du polariseur P_1 . Ces puissances sont respectivement de l'ordre du mW et du μW . Nous obtenons alors les valeurs indiquées dans le tableau III.2.4.

Objectif/condenseur	$I_{\parallel}(mW)$	$I_{\perp}(\mu W)$	τ_{ext}
sans objectifs	7.6	0.1	$7.6 \cdot 10^4$
$10 \times / 10 \times$	1.79	0.7	$1.3 \cdot 10^3$
$20 \times / 10 \times$	2.07	1.6	$2.7 \cdot 10^3$
$60 \times / Cond$	0.77	1.5	$5.1 \cdot 10^2$

TABLE III.2.4 – Taux d'extinction des couples objectif Obj_1 /condenseur Obj_2 , calculés à partir de la mesure de I_{\parallel} et I_{\perp} , ainsi que sans objectifs

Notons que la valeur du taux d'extinction obtenue sans objectifs est proche de celle mesurée pour les PolarcorsTM avec une méthode différente, présentée en annexe A.II, soit $\tau_{ext} = 7.2 \cdot 10^4$. Ceci valide la pertinence de cette mesure.

Les valeurs obtenues pour les couples objectif/condenseur sont quant à elles similaires à celles de la littérature [253]. Il s'agit là d'un facteur limitant notre mesure, car elle va réduire le contraste des franges des spectres cannelés et donc la résolution de la mesure de la retardance linéaire.

L'origine de ce comportement n'est pas clairement établi mais nous supposons qu'il est lié à des réflexions multiples entre les différentes optiques de l'objectif, faisant perdre sa cohérence à une partie du signal. Celui-ci n'interférant plus, il apparaît alors dans la composante continue du signal détecté.

Réflexions multiples

Nous avons également constaté expérimentalement la présence de réflexions multiples entre polariseurs et objectif/condenseur. Or ces réflexions provoquent également une perte du contraste de franges des spectres cannelés.

Afin de simplifier l'explication, nous considérons notre dispositif sans lames de codage, et nous faisons le raisonnement sur des états de polarisation circulaire ou linéaire (en pratique, ils sont légèrement elliptiques).

Nous avons ainsi après le condenseur (Obj_2 , figure III.2.5), un état de polarisation circulaire gauche (figure III.2.5, a.), puis la lame $\lambda/4$ QW_2 transforme cet état de po-

larisation en un état linéaire, orthogonal à l'axe de l'analyseur P_2 (figure III.2.5, b.). Il s'agit de la situation normale où les états de polarisation en amont de l'analyseur ont un état de polarisation orthogonal à celui-ci. Si une partie de la lumière est réfléchie sur l'analyseur P_2 (figure III.2.5, c.) et retransverse la lame $\lambda/4$ QW_2 son état de polarisation devient circulaire gauche (figure III.2.5, d.) puis après réflexion sur la pupille de sortie de l'objectif, circulaire droit (figure III.2.5, e.). Lorsque l'onde retransverse la lame $\lambda/4$, son état de polarisation est désormais linéaire et aligné à l'axe de l'analyseur P_2 (figure III.2.5, f.). Aussi cette lumière parasite est entièrement transmise et est équivalente au signal qui serait obtenu pour une mesure sur fond clair (avec une composante continue très importante), venant ainsi diminuer le contraste des franges des spectres cannelés et ainsi la résolution de la mesure de la retardance linéaire.

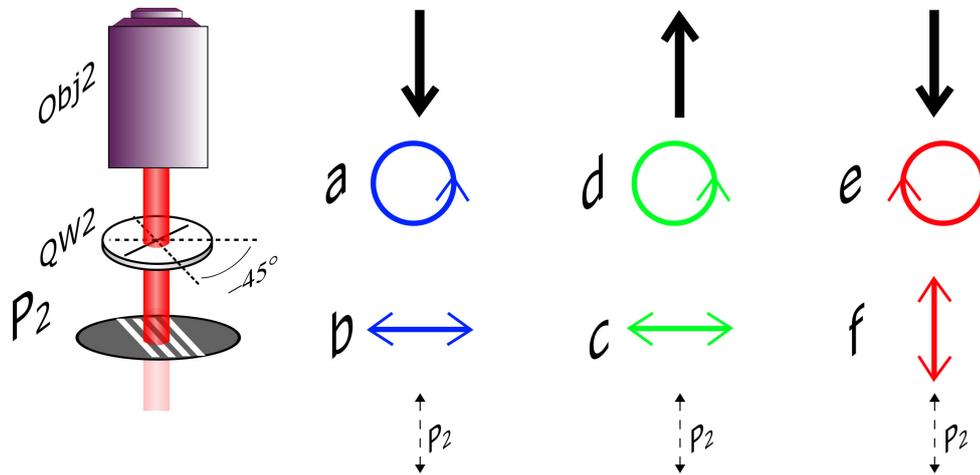


FIGURE III.2.5 – Réflexions multiples au niveau du condenseur Obj_2 , état de polarisation : a, circulaire gauche ; b, linéaire horizontal ; c, linéaire horizontal ; d, circulaire gauche ; e, circulaire droit ; f, linéaire vertical. La flèche en trait discontinu indique l'axe de l'analyseur P_2

Le même phénomène peut également s'observer en amont de l'objectif (figure III.2.6).

Puisque nous travaillons sur fond noir, la puissance optique entre les deux polariseurs est très supérieure à celle au niveau du détecteur (plusieurs mW contre quelques μW). Il suffit donc qu'une toute petite fraction de la lumière incidente subisse ces réflexions multiples pour que la puissance associée à ces réflexions soit du même ordre de grandeur que le signal utile.

En pratique, nous voyons qu'en inclinant légèrement l'analyseur P_2 par rapport à l'horizontale nous éliminons une partie de la lumière parasite et l'autre partie en inclinant

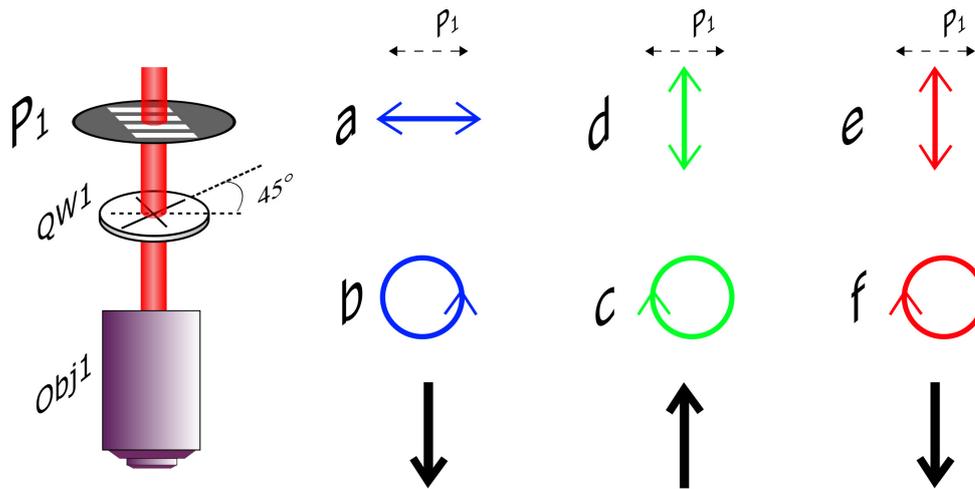


FIGURE III.2.6 – Réflexions multiples au niveau de l’objectif Obj_1 , état de polarisation : a, linéaire horizontal ; b, circulaire gauche ; c, circulaire droit ; d, linéaire vertical ; e, linéaire vertical ; f, circulaire droit. La flèche en trait discontinu indique l’axe du polariseur P_1

de même le polariseur P_1 ¹.

III.2.2 Synchronisation de la mesure de la retardance linéaire avec le balayage du microscope

Un point important de l’implémentation du dispositif de mesure de la retardance linéaire dans un microscope à balayage est la synchronisation de la mesure de la retardance linéaire avec le balayage du microscope, de sorte qu’à chaque point du milieu d’étude balayé par le faisceau laser soit réalisée l’acquisition d’une mesure de la retardance linéaire, afin de pouvoir ensuite reconstruire l’image, sans décalage.

Le balayage en fréquence optique de la swept-source n’étant pas déclenchable par un signal externe, celui-ci va fonctionner en continu dès l’allumage de la source. Cela signifie en pratique que la mesure de la retardance linéaire est indépendante du balayage du microscope.

Afin de pouvoir tout de même synchroniser cette mesure avec le balayage du microscope, nous avons donc besoin d’au moins un signal indiquant le démarrage du balayage du microscope.

1. Ceci confirme l’intérêt de travailler avec des polariseurs ayant une bonne acceptation angulaire, tel que les Polarcors™. Nous pouvons ainsi les incliner sans pertes notables d’extinction.

Pour ce faire, nous allons utiliser les signaux de *trig* délivrés par le contrôleur du scanner, de modèle Thorlabs LSK-GG. En effet celui-ci délivre un signal appelé *Line Trigger* et un signal appelé *Frame Trigger*, respectivement associés aux axes rapide (axe des x) et lent (axe des y) des miroirs galvanométriques.

Ainsi l'axe des x du scanner va correspondre au balayage d'une ligne, de gauche à droite. Le signal de commande associé est représenté sur la figure III.2.7, en haut. Le contrôleur va fournir le signal *Line Trigger* au format TTL (0-5V) qui va passer d'un état bas à un état haut au début de chaque ligne à gauche, puis revient à un état bas, et passe à nouveau à l'état haut à la ligne suivante, tel que sur la figure III.2.7, en bas.

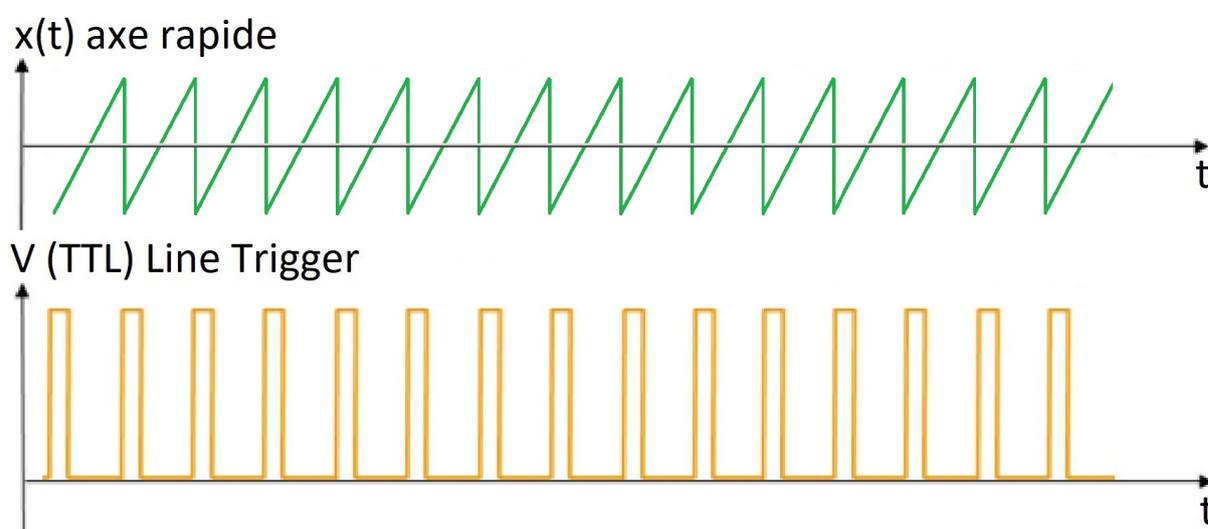


FIGURE III.2.7 – Signal de commande de l'axe rapide $x(t)$, en haut, et signal TTL *Line Trigger*, en bas

L'axe des y du scanner va correspondre quant à lui au balayage d'une ligne à la suivante. Le signal de commande associé est représenté sur la figure III.2.8, en haut. Le contrôleur va fournir le signal *Frame Trigger* au format TTL (0-5V) qui va passer d'un état bas à un état haut au début de chaque image puis d'un état haut à un état bas au moment où l'axe se repositionne en début de l'image (*Fly Back Time*) et ainsi de suite, tel que sur la figure III.2.8, en bas.

A l'aide du logiciel constructeur ThorImage®LS, qui sert notamment à contrôler le scanner, nous pouvons régler le *pixel-dwell time* à $10\mu s$ de sorte qu'il coïncide avec la durée de balayage de la swept-source. Cela correspond à jouer sur la période du signal *Line Trigger*.

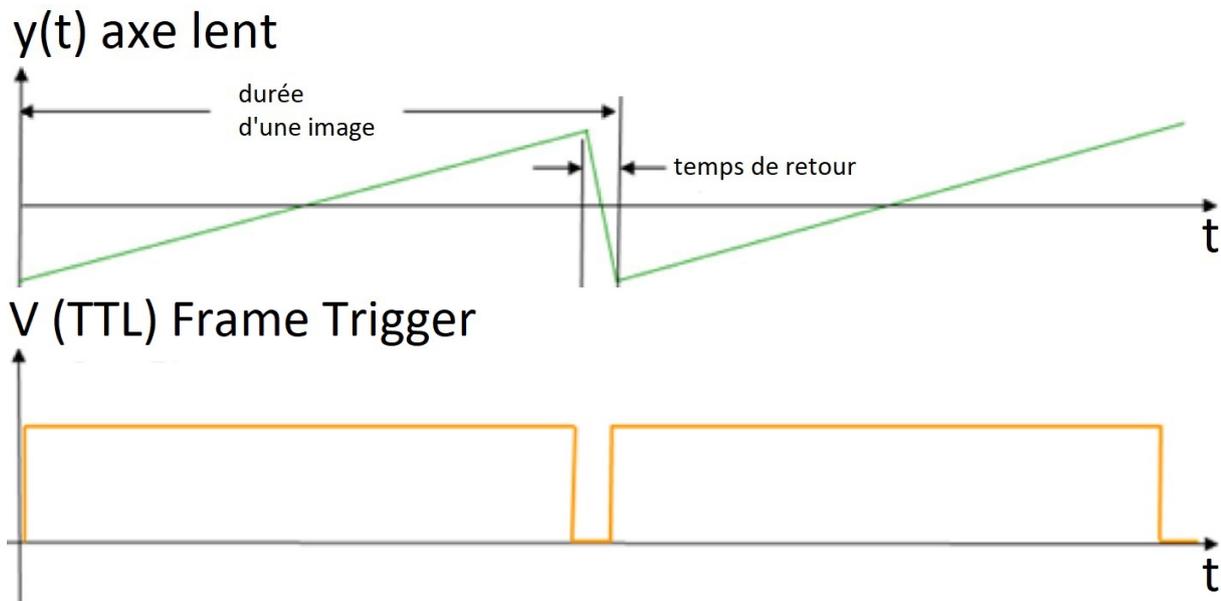


FIGURE III.2.8 – Signal de commande de l'axe lent $y(t)$, en haut, et signal TTL *Frame Trigger*, en bas

Le signal de trig au format TTL *Frame Trigger* est envoyé sur l'entrée auxiliaire *AUX IN* de la carte d'acquisition AlazarTech DAQ ATS9350 et va servir à déclencher le début de l'enregistrement des spectres cannelés, sur le front montant.

Il n'y a pas de raison pour que le moment précis où ce signal de trig (front montant) va être reçu par la carte d'acquisition coïncide avec le début de l'acquisition d'un spectre cannelé, c'est-à-dire d'un balayage de la swept-source. Il peut y avoir un décalage entre ces deux instants, d'une durée pouvant aller jusqu'à la durée d'un balayage de la swept-source, ce qui correspond à un décalage maximal d'un pixel sur l'image au début de chaque ligne.

Enfin à l'instar des montages sur banc présentés dans la précédente partie de ce manuscrit, les signaux *sweep-trigger* et *k-clock* vont être utilisés pour respectivement déclencher l'acquisition d'un spectre cannelé et pour échantillonner le signal mesuré par la photodiode de manière équidistante en fréquence optique.

Notons enfin que ce type de synchronisation est issue des techniques d'OCT [254], qui utilisent le même type de source et de détecteur.

A l'aide d'un programme développé sous LabVIEW, nous pouvons ainsi réaliser l'acquisition, le traitement et l'affichage de la retardance linéaire et de son azimut en temps réel, soit 0.4 *fps* pour une image de 512×512 pixels ou 1.5 *fps* pour une image de 256×256

pixels. Ceci est notamment très pratique pour rechercher une zone d'intérêt dans un milieu d'étude.

III.2.3 Résultats

Dans cette section, nous allons présenter quelques images illustrant les performances de la mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimuth. Nous parlerons ici en retard optique (Δne) (nm), grandeur indépendante de la longueur d'onde plutôt qu'en retardance linéaire LR , sauf mention contraire, ces deux grandeurs étant reliées par la relation $LR = 2\pi(\Delta ne)/\lambda_0$. Ceci donne pour $(\Delta ne) = 1 nm$, $LR = 0.34^\circ$ à $1060 nm$.

Nous nous intéresserons d'abord aux images de retard optique seul puis nous illustrerons la possibilité d'afficher à la fois le retard optique et son azimuth. Enfin, nous nous pencherons sur l'intérêt d'une mesure multimodale.

III.2.3.1 Imagerie de biréfringence d'un rotifère *Keratella cochlearis*

Le *Keratella cochlearis* est l'une des innombrables espèces de rotifère, organisme aquatique particulièrement répandu. Ces rotifères présentent des structures légèrement biréfringentes et la microscopie de polarisation classique a déjà été utilisée pour les étudier [255]. En 2015, M. Shribak en a également présenté une image afin d'illustrer sa méthode sur fond noir, qualitative, intégrée dans un microscope plein champ [203].

Les rotifères dont nous réalisons les images sont fixés sur lame de verre² et présentent une dynamique de retard optique allant de moins de un à une quinzaine de nanomètres. Aussi nous allons les utiliser pour illustrer la résolution de la méthode sur fond noir.

Comparaison des tables de couleurs *inferno* et *hot* pour la représentation du retard optique

Comme nous l'évoquions dans le chapitre précédent, le choix d'une table de couleur appropriée est crucial. Ici nous avons représenté sur la figure III.2.9 les mêmes données, à savoir l'image d'un rotifère *Keratella cochlearis* (x20/0.35NA), acquise avec $\beta = 1^\circ$, avec la table de couleurs *inferno* à gauche et *hot* à droite.

2. ces lames préparées ont été achetées chez JOHANNES LIEDER GmbH & Co. KG <https://www.lieder.de/>.

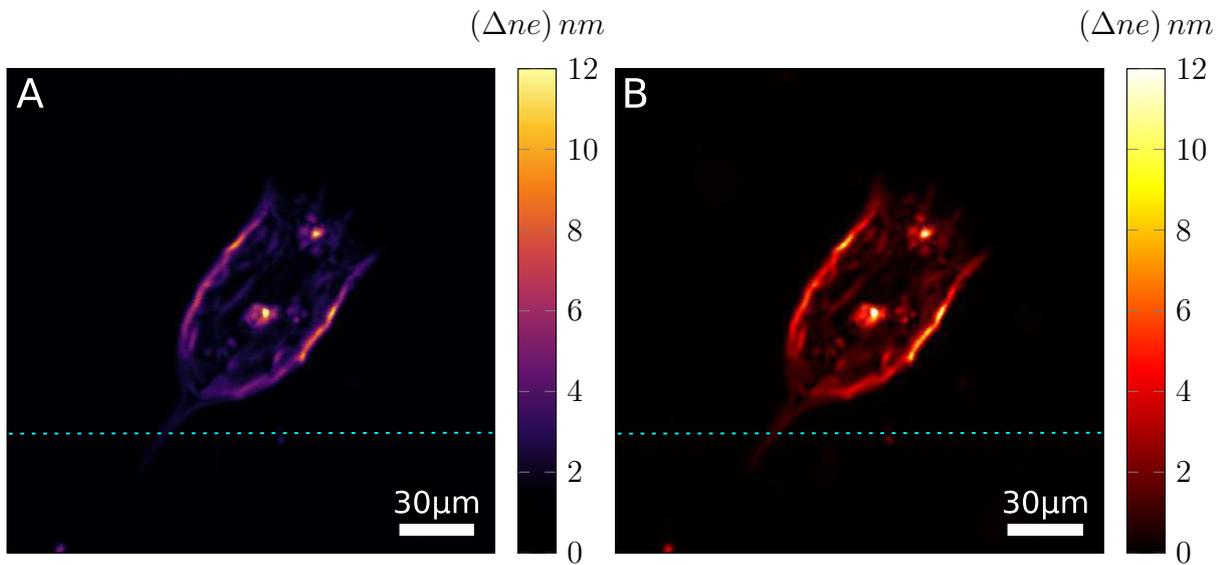


FIGURE III.2.9 – Images de retard optique d’un rotifère *Keratella cochlearis* ($\beta = 1^\circ$ - x20/0.35NA - zoom x4) : A, avec la table de couleurs *inferno* ; B, avec la table de couleurs *hot*

La valeur maximale de retard optique dans l’image présentée est d’environ 11 nm. Or si nous utilisons une table de couleurs dont la luminosité est linéaire par rapport aux valeurs à représenter, telle que la table de couleur *inferno*, la dynamique utilisée pour représenter les valeurs de retard faibles par rapport la valeur maximale de l’image est faible également. Les structures, potentiellement intéressantes, dont le retard est inférieur à environ 4 nm sont alors pratiquement invisibles. Et cela même si le contraste entre le fond de l’image et la structure est très fort, tel que l’illustre la coupe présentée figure III.2.10, qui correspond aux valeurs de retard optique mesurées le long de la ligne en pointillés bleus sur l’image III.2.9.

L’utilisation d’une table de couleurs qui encode les faibles valeurs de retard sur une dynamique plus grande telle que la table de couleurs *hot* permet de faire ressortir davantage ces structures et nous l’avons donc privilégiée par la suite.

Comparaison des mesures *sur fond clair* et *sur fond noir*

Il est possible de montrer que le dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire devient un dispositif de mesure sur fond clair lorsque l’angle de biais $\beta = 45^\circ$. Pour illustrer ceci, nous avons représenté sur la sphère de Poincaré (figure III.2.11) les

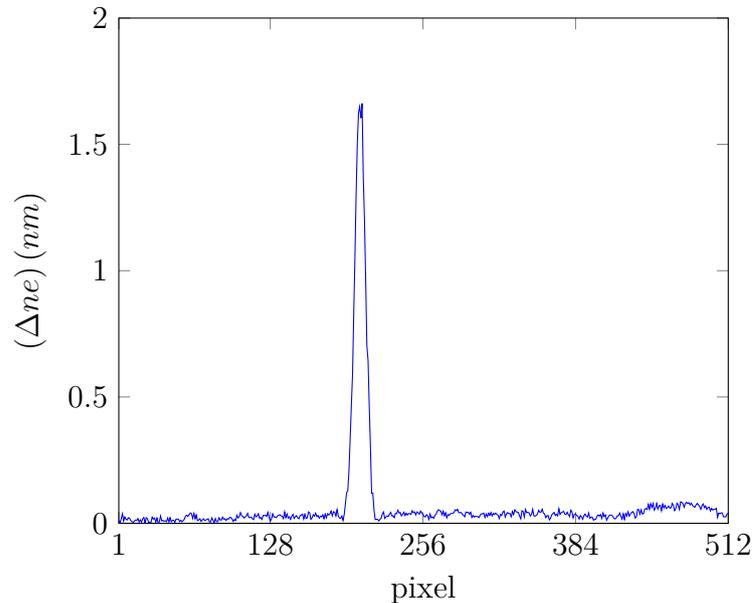


FIGURE III.2.10 – Coupe de l’image de retard optique d’un rotifère *Keratella cochlearis*, ligne en pointillés bleus figure III.2.9

états de polarisation qui sondent le milieu d’étude pour $\beta = 2^\circ$ et $\beta = 45^\circ$

Ces états de polarisation représentés sur la sphère de Poincaré forment une rosace, dont la largeur dépend de β . Dans le cas d’un faible β , ces états sont tous localisés proches de l’état de polarisation orthogonal à celui de l’analyseur, qui correspond au centre de la rosace. Ainsi la puissance au niveau du milieu d’étude est beaucoup plus forte que celle au niveau du détecteur et nous avons une mesure sur fond noir.

Lorsque $\beta = 45^\circ$, la rosace s’élargit jusqu’à couvrir l’ensemble de la sphère de Poincaré. Il en résulte qu’il y a toujours parmi les états de polarisation générés au moins un qui sera aligné avec l’état de polarisation de l’analyseur. Dans ce cas, la puissance optique au niveau du détecteur est la même que celle au niveau du milieu et nous devons réduire drastiquement la puissance optique incidente pour ne pas saturer le détecteur. Nous avons bien une mesure sur fond clair, ce qui serait aussi le cas avec une configuration mesurant la matrice de Mueller.

Aussi, nous allons nous servir de cette propriété pour pouvoir comparer la mesure sur fond noir et la mesure sur fond clair, réalisées dans des conditions identiques, avec les mêmes éléments optiques, source, détecteur, objectifs, etc., et sur la même zone du même milieu d’étude.

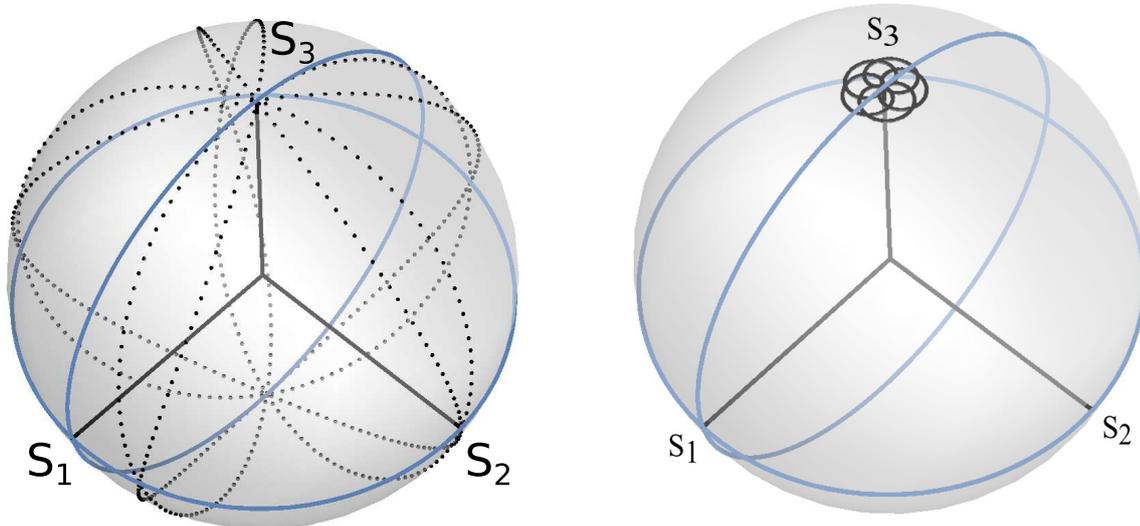


FIGURE III.2.11 – Sphères de Poincaré des états de polarisation en sortie du PSG : à gauche, avec $\beta = 45^\circ$, soit une mesure sur fond clair ; à droite, pour le montage de mesure sur fond noir de la retardance linéaire avec $\beta = 2^\circ$

Pour ce faire nous avons réalisé l'image d'un rotifère *Keratella cochlearis* (x20/0.35NA)³, à $\beta = 45^\circ$ pour la mesure sur fond clair, en réduisant la puissance optique incidente pour ne pas saturer le détecteur, et à $\beta = 1^\circ$ pour la mesure sur fond noir, représenté respectivement à gauche et à droite sur la figure III.2.12, avec la table de couleurs *hot*.

Lorsque le retard est important, de l'ordre d'une dizaine de nanomètres, la différence entre mesure sur fond clair et mesure sur fond noir n'est pas flagrante. En revanche si nous zoomons sur une zone où le retard est faible, ici l'épine du rotifère, encadrée en vert sur la figure III.2.12, dont le retard est $(\Delta ne) \approx 1 \text{ nm}$, et que nous ajustons l'échelle de couleurs, dont le maximum représente désormais une valeur de retard $(\Delta ne) = 3 \text{ nm}$, nous constatons que l'image est beaucoup plus bruitée avec la mesure sur fond clair.

Cela apparaît de manière encore plus nette sur la coupe présentée figure III.2.13, qui correspond aux valeurs de retard optique mesurées le long de la ligne en pointillés bleus sur l'image III.2.12, où nous pouvons constater que le bruit sur la courbe bleue, mesure sur fond clair, est beaucoup plus important que celui sur la courbe rouge, mesure sur fond noir.

3. Il ne s'agit pas du même spécimen que sur l'image III.2.9.

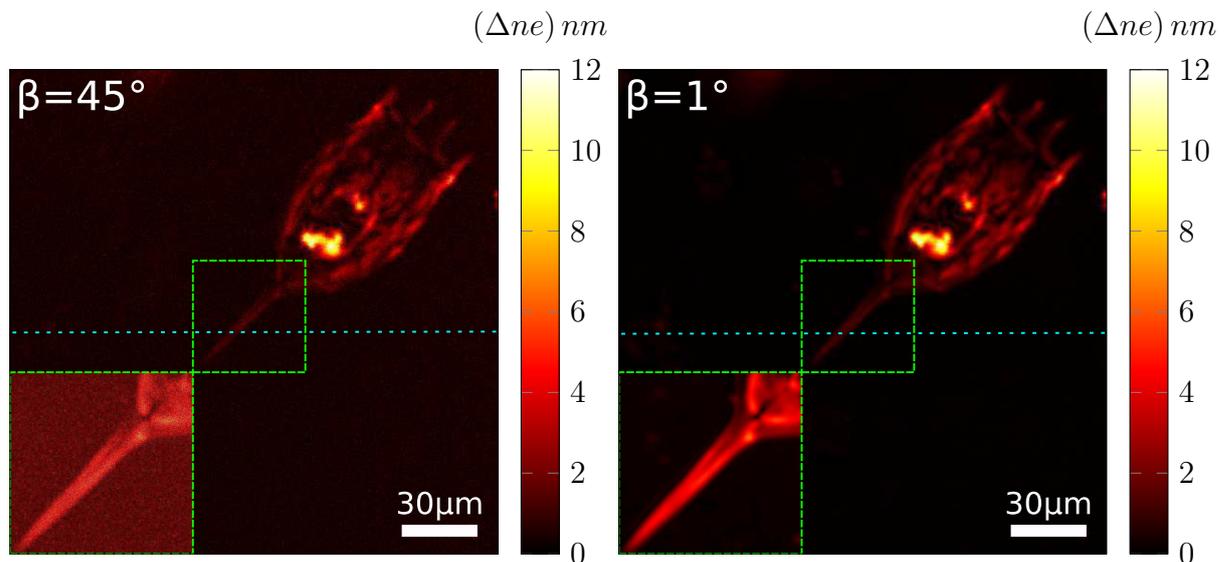


FIGURE III.2.12 – Images de retard optique d'un rotifère *Keratella cochlearis* (x20/0.35NA - zoom x4, pour l'image large; zoom x18, pour l'encadré vert) : à gauche, mesure *sur fond clair*, $\beta = 45^\circ$; à droite, mesure *sur fond noir*, $\beta = 1^\circ$. Pour l'encadré vert, le maximum de l'échelle de retard optique est ajusté à 3 nm

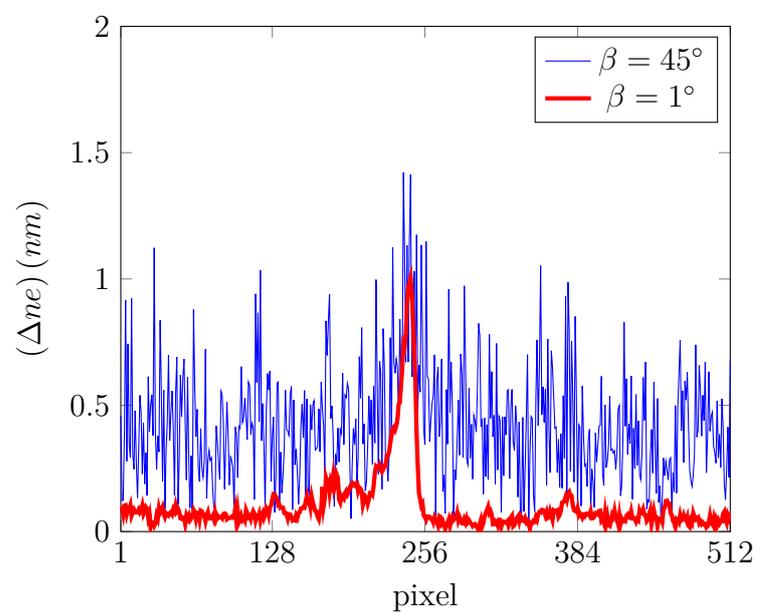


FIGURE III.2.13 – Coupe de l'image de retard optique d'un rotifère *Keratella cochlearis*, comparaison mesures *sur fond clair*, $\beta = 45^\circ$ et mesure *sur fond noir*, $\beta = 1^\circ$

Afin d'évaluer quantitativement la résolution respective des méthodes sur fond clair et sur fond noir, nous avons réalisé l'acquisition de 1000 mesures successives au centre de l'image, sans balayage et sans milieu d'étude, avec $\beta = 45^\circ$ et $\beta = 1^\circ$, puis calculé l'écart-type.

Nous avons obtenu pour la mesure sur fond clair, soit $\beta = 45^\circ$, $\Delta(\Delta ne) = 0.24 \text{ nm}$. Cette valeur est similaire à celle obtenue avec le montage de mesure de la matrice de Mueller précédemment développé [48], technique qui est sur fond clair et utilisant la même source et le même détecteur, soit $\Delta(\Delta ne) = 0.29 \text{ nm}$.

Pour la mesure sur fond noir, soit $\beta = 1^\circ$, la valeur obtenue est de $\Delta(\Delta ne) = 8.5 \cdot 10^{-3} \text{ nm}$, soit un gain d'un facteur presque 30 par rapport à la mesure sur fond clair, avec une configuration optique identique.

Cela correspond à un facteur 2 par rapport au microscope plein champ sur fond noir pour la mesure de la retardance linéaire développé par R. Oldenbourg et M. Shribak [151-155], présenté dans la première partie, section I.3.4, qui a une résolution de $\Delta(\Delta ne) = 2 \cdot 10^{-2} \text{ nm}$.

III.2.3.2 Imagerie de biréfringence, azimuth et dépolarisation d'un tissu cancéreux humain

Dans le cadre du projet MATRIX, financé par l'Inserm, A. Uguen du laboratoire LBAI (Lymphocytes B, Autoimmunité et Immunothérapies - UMR 1227 Univ. Brest/Inserm/CHRU Brest) a fourni au laboratoire des coupes histologiques fines ($e = 5 \mu\text{m}$) et non-paraffinées (la paraffine étant très biréfringente), de différents tissus cancéreux humains. Nous allons présenter les images réalisées pour l'une de ces coupes histologiques avec différentes modalités d'imagerie.

Retard optique et degré de dépolarisation

Lorsque nous imageons un milieu complexe tel qu'une coupe histologique, de nombreuses zones présentant un retard optique sont observables, pouvant aller ici jusqu'à $(\Delta ne) \approx 35 \text{ nm}$ (figure III.2.14, à gauche). Aussi nous réglons l'angle de biais à $\beta = 10^\circ$ pour nous adapter à ces valeurs. Ici la seule information de retard optique paraît limitée pour identifier les structures présentes, car elle manque de spécificité. Sur l'image de retard optique (figure III.2.14, A), nous voyons en effet une zone en bas de l'image présentant un fort retard et un aspect fibreux et en haut de l'image une zone présentant également

un fort retard mais d'un aspect plus granuleux.

Comme évoqué dans le chapitre précédent, il est possible de mettre en évidence les zones présentant de la dépolarisation. Celles-ci sont visibles sur la figure III.2.14, B. Dans ce tissu la dépolarisation se concentre dans la zone du haut de l'image, présentant sur l'image de retard optique un aspect granuleux. Nous pouvons inférer que cette zone est moins homogène spatialement, ce qui entraîne cette dépolarisation.

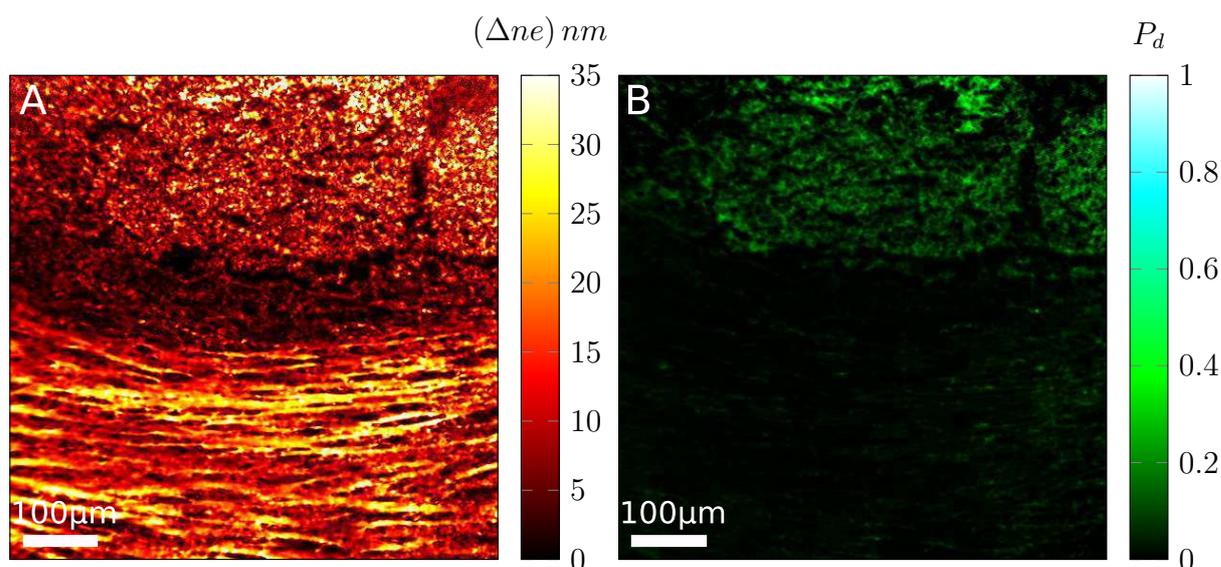


FIGURE III.2.14 – Images d'une coupe de colon cancéreux humain ($\beta = 10^\circ$ - $\times 10/0.25\text{NA}$ - zoom $\times 2$) : A, image de retard optique (nm) ; B, image de dépolarisation

Comparaison des tables de couleurs *HSV* et *HSV-E* pour la représentation de l'azimut

Puisque l'image de l'amplitude de la retardance linéaire seule n'est pas assez spécifique, nous pouvons sur une même image représenter à la fois l'amplitude et l'azimut de la retardance linéaire, tel que sur la figure III.2.15.

Nous constatons que la zone fibreuse en bas de l'image présente une orientation régulière, ce qui n'est pas le cas de la zone granuleuse en haut de l'image. Nous pouvons supposer qu'il s'agit de fibres de collagène.

Ici également, le choix de la table de couleurs est crucial pour obtenir une représentation pertinentes des données. Nous constatons qu'avec la table de couleurs *HSV-E* (figure

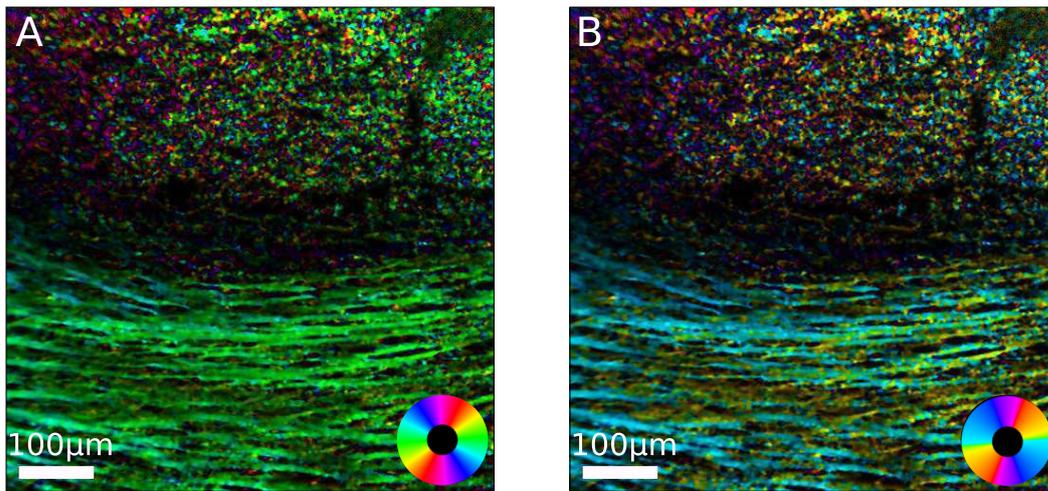


FIGURE III.2.15 – Images d’une coupe de colon cancéreux humain en retard optique et azimut ($\beta = 10^\circ$ - $\times 10/0.25\text{NA}$ - zoom $\times 2$) : A, *HSV* ; B, *HSV-E*

III.2.15, à droite), nous distinguons mieux les différences d’orientation des fibres qu’avec la table de couleur *HSV* (figure III.2.15, à gauche), où elles semblent toutes alignées.

III.2.3.3 Évolution temporelle de la biréfringence dans une cellule cancéreuse humaine *HGT-1*

La lignée de cellule gastrique cancéreuse humaine *HGT-1* [256] est un modèle largement répandu pour l’étude des tumeurs. Des cultures de ces cellules nous ont été fournies par G. Alzeeb du laboratoire GGFB (Génétique, Génomique Fonctionnelle et Biotechnologies - UMR 1078 Inserm/Univ. Brest/EFS/CHRU Brest).

Les cellules sont généralement très faiblement biréfringentes, $(\Delta ne) < 1\text{nm}$. Lorsqu’une cellule n’est plus maintenue dans les bonnes conditions de température, de milieu nutritif, etc., elle meurt au bout de quelques heures. Nous avons ainsi observé une cellule *HGT-1* mourante et réalisé des images à intervalle de temps régulier, toute les neuf minutes, pendant une durée d’une heure et demie. Au delà la cellule se décroche de la lamelle sur laquelle elle adhérait, et nous ne pouvons plus l’observer.

Au temps $T=0\text{min}$, il n’y a quasiment pas de retard observable dans la cellule, hormis quelques structures sphériques, des gouttelettes lipidiques, dont la rotation de l’azimut est caractéristique (voir figure III.2.16, à droite, indiquées par les flèches blanches horizontales), et ce qui pourrait être la membrane du noyau de la cellule (indiquée par la flèche

blanche verticale). Ces structures présentent un retard d'environ $(\Delta ne) \approx 0.5 \text{ nm}$.

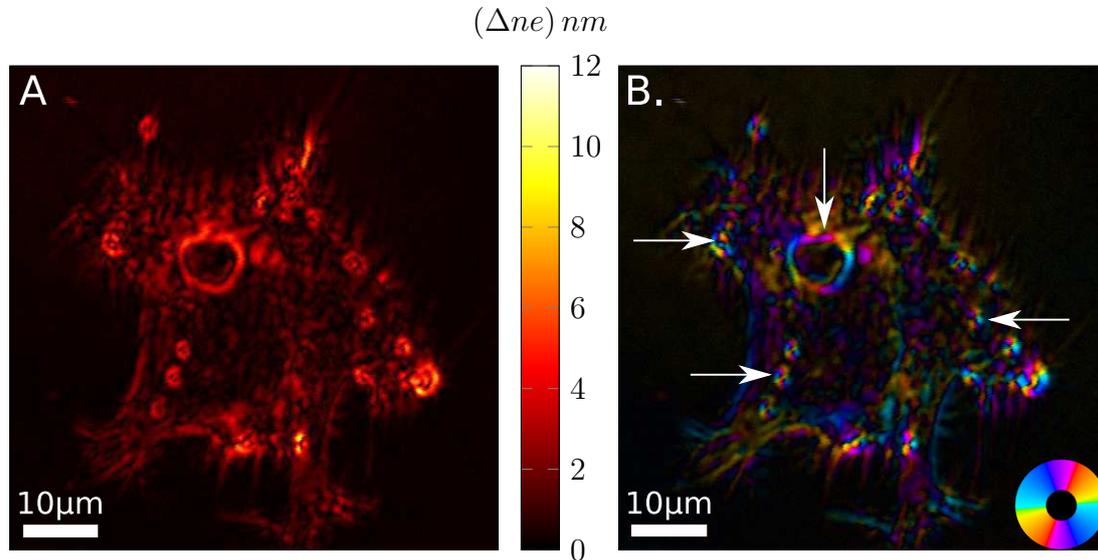


FIGURE III.2.16 – Images d'une cellule cancéreuse HGT-1 ($\beta = 2^\circ$ - x60/1.2NA - zoom x4) : A, image de retard optique (nm) ; B, image de retard optique et azimut

Nous nous focalisons sur l'évolution du retard au cours du temps et nous avons donc représenté une partie des images de retard acquises au fil du temps sur la figure III.2.17.

Par la suite, au fur et à mesure du temps, la cellule se contracte et nous observons une augmentation du retard sur son pourtour qui atteint alors près de $(\Delta ne) \approx 1.5 \text{ nm}$.

En l'état actuel de nos investigations, l'origine de cette augmentation du retard n'est pas clairement établie. Elle pourrait être liée à un changement de structure ou à une biréfringence de bord mais elle pourrait également provenir des contraintes mécaniques locales, liées à la contraction de la cellule.

En effet, W. Wang et al. ont montré qu'il y avait une relation linéaire entre la mesure de la retardance et la contractibilité des cellules, aussi bien pour une cellule isolée, que dans un tissu ou un organoïde [23], en combinant la mesure de la retardance linéaire avec la microscopie à force de traction [52]. Par ailleurs, les travaux de Sugita et al. ont également montré qu'il était possible de mesurer la force de traction associée aux filaments d'actine à l'échelle cellulaire [24].

Il y a un enjeu important pour la mesure de ces contraintes mécaniques à l'échelle cellulaire et des tissus [257] car les contraintes mécaniques à l'échelle cellulaire jouent un

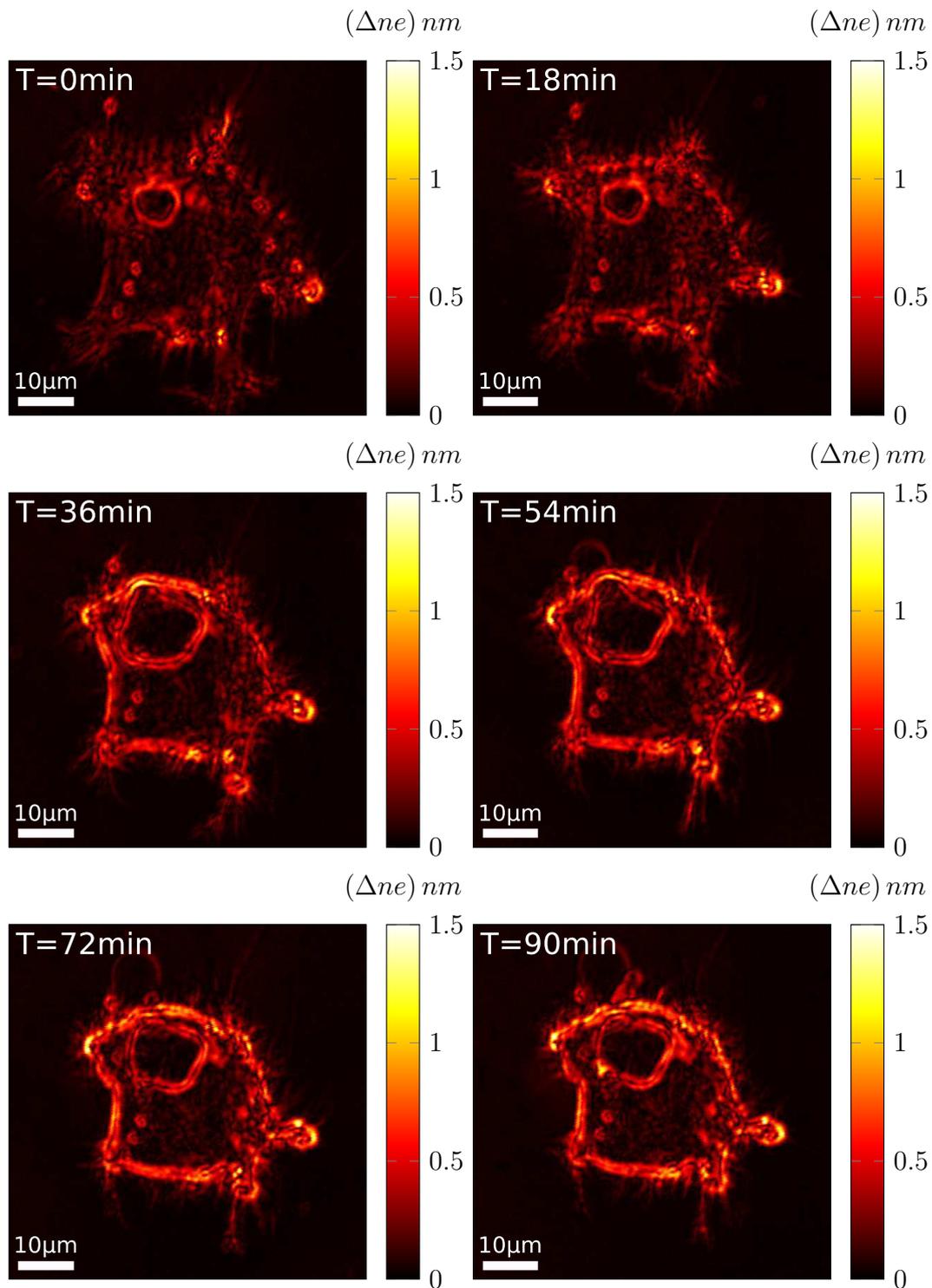


FIGURE III.2.17 – Évolution temporelle du retard optique dans une cellule cancéreuse humaine *HGT-1* ($\beta = 2^\circ$ - x60/1.2NA - zoom x4)

rôle crucial dans l'embryogenèse [258, 259] ou dans le développement des cancers [260].

Aussi la mesure sur fond noir de la retardance linéaire présente un potentiel intéressant pour répondre à cette problématique, d'autant qu'elle est plus facile à mettre en œuvre que d'autres méthodes alternatives telle que la microscopie de Brillouin [261].

III.2.3.4 Adaptation du calibre pour l'imagerie d'un échantillon très fortement biréfringent (ruban adhésif)

Parfois, de grandes dynamiques de retard optique peuvent être présentes dans un milieu d'étude. Dans le cas où le retard est fort, c'est à dire $(\Delta ne) > 10 nm$, il est nécessaire d'ajuster l'angle β de manière à garder une résolution relative optimale, à l'instar de ce qui a été démontré pour le pouvoir rotatoire dans le chapitre II.2.

Pour l'illustrer, nous avons choisi un milieu simple, à savoir un morceau de ruban adhésif, qui présente un retard optique très fort $(\Delta ne) \approx 350 nm$ et homogène. Nous avons réalisé des images de la retardance linéaire avec différents angles de biais $\beta = 1^\circ$, $\beta = 3^\circ$, $\beta = 10^\circ$ et $\beta = 45^\circ$

Nous constatons que l'image est fortement bruitée avec $\beta = 1^\circ$, puis à mesure que nous augmentons l'angle β , ce bruit diminue et nous voyons apparaître des détails qui étaient jusque là masqués. Ici, il y a peu de différences visibles entre $\beta = 10^\circ$ et $\beta = 45^\circ$, il n'y a donc pas nécessité d'ajuster très précisément l'angle de biais β à la gamme de retard mesurée et nous pouvons donc utiliser seulement quelques calibres, c'est à dire quelques valeurs fixées de β , pour couvrir l'ensemble des retards optiques de 0 à $\lambda/2$.

III.2.3.5 Couplage avec des techniques non-linéaires (*SHG* et *TPEF*)

Au cours des dernières années le laboratoire OPTIMAG a développé une expertise dans l'utilisation de modalités de microscopie non-linéaires, génération de seconde harmonique (*SHG*) et fluorescence à deux photons (*TPEF*), pour l'imagerie de tissus ou de modèles de tumeurs [25-27].

Nous avons ainsi réalisé l'imagerie en *SHG* et en *TPEF* de la même coupe de colon cancéreux humain précédemment utilisée, d'épaisseur $5 \mu m$, sans marquage. Nous pouvons alors observer sur l'image en *SHG* (figure III.2.19, ligne du haut, à gauche), que les structures d'aspect fibreux sont bien des fibres de collagène de type I, la réponse en *SHG* étant très spécifique, alors que l'image en *TPEF* est moins spécifique et donne des

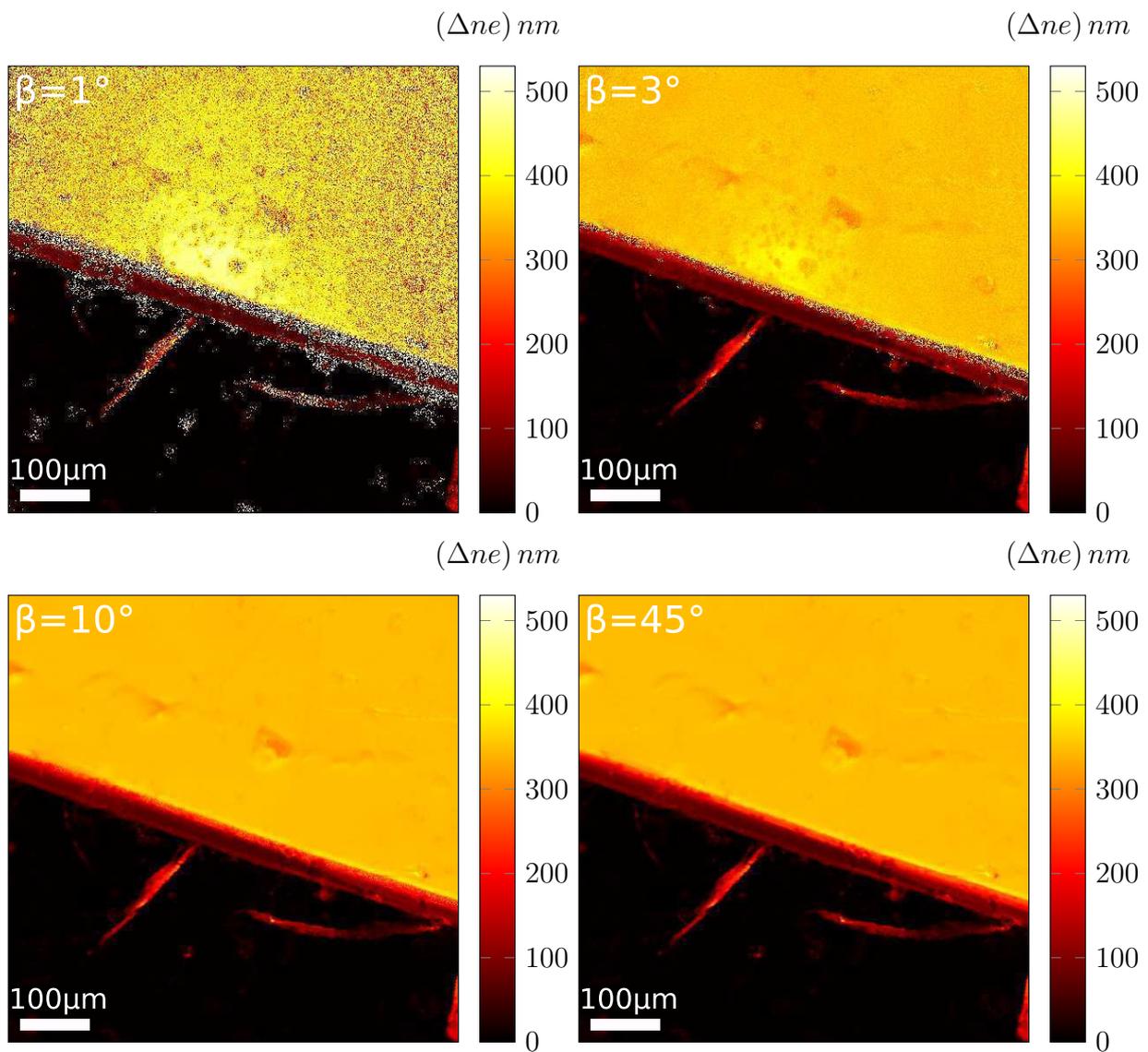


FIGURE III.2.18 – Adaptation du calibre pour l'imagerie d'un milieu d'étude (ruban adhésif) très fortement biréfringent (x20/0.35NA - zoom x4). En haut, à gauche, $\beta = 1^\circ$; en haut, à droite, $\beta = 3^\circ$; en bas, à gauche, $\beta = 10^\circ$; en bas, à droite, $\beta = 45^\circ$

informations similaires à l'image de retard optique seule (figure III.2.19, ligne du haut, à droite).

Nous constatons que des zones de forts retards optiques correspondent aux zones de fortes réponses SHG, liées à la présence de fibres de collagène, mais d'autres structures présentent de forts retards optiques, là où de la matière désordonnée est révélée par la TPEF. Ces dernières zones apparaissent sur l'image du degré de dépolarisation.

Attention toutefois, les images en SHG et en TPEF n'ont pas été réalisées avec le même microscope que pour les images du retard optique et de son azimuth. Ici nous avons utilisé un microscope Olympus Fluoview FV300, avec comme source un laser femtoseconde Coherent Chameleon vision II et comme détecteur un PMT Hamamatsu, déjà implémenté au laboratoire. La longueur d'onde d'excitation est de 830 nm . Avec un objectif x20/0.75NA et un condenseur Olympus 0.9NA, la résolution spatiale expérimentale est de $r_s = 0.5\ \mu\text{m}$, contre une résolution spatiale théorique de $r_s = 2.4\ \mu\text{m}$ pour la modalité retard optique avec le couple $10\times/10\times$. Aussi, les définitions des images sont ici de 1024×1024 (contre 512×512) et la zone du milieu d'étude imagée n'est pas exactement la même.

De cet exemple, il se dégage tout de même une complémentarité d'information entre la mesure du retard optique et de son azimuth, l'évaluation de la dépolarisation ainsi que de la mesure en SHG, beaucoup plus spécifique. Il conviendrait pour aller plus loin de comparer la mesure du retard optique et les modalités de microscopie non-linéaires résolues en polarisation, en particulier la P-SHG (*Polarization-resolved Second Harmonic Generation*) [28].

III.2.3.6 Pistes d'améliorations

Afin d'améliorer les performances de notre microscope, il conviendrait d'utiliser :

- des couples objectif/condenseur présentant un meilleur taux d'extinction, pour limiter les pertes de contraste de franges associées
- des optiques (notamment la lentille de scan et la lentille de tube) présentant une transmission optimale autour de la bande spectrale utilisée, pour réduire les pertes de puissance optique et certainement améliorer la résolution spatiale.
- des polariseurs ayant de meilleurs traitements anti-reflet, pour éliminer les multiples réflexions générant des pertes de contraste de franges

En outre, nous n'avons pas implémenté la compensation des erreurs systématiques avec une 3ème lame $\lambda/4$, faute de temps. Cela permettrait également de gagner encore en sensibilité.

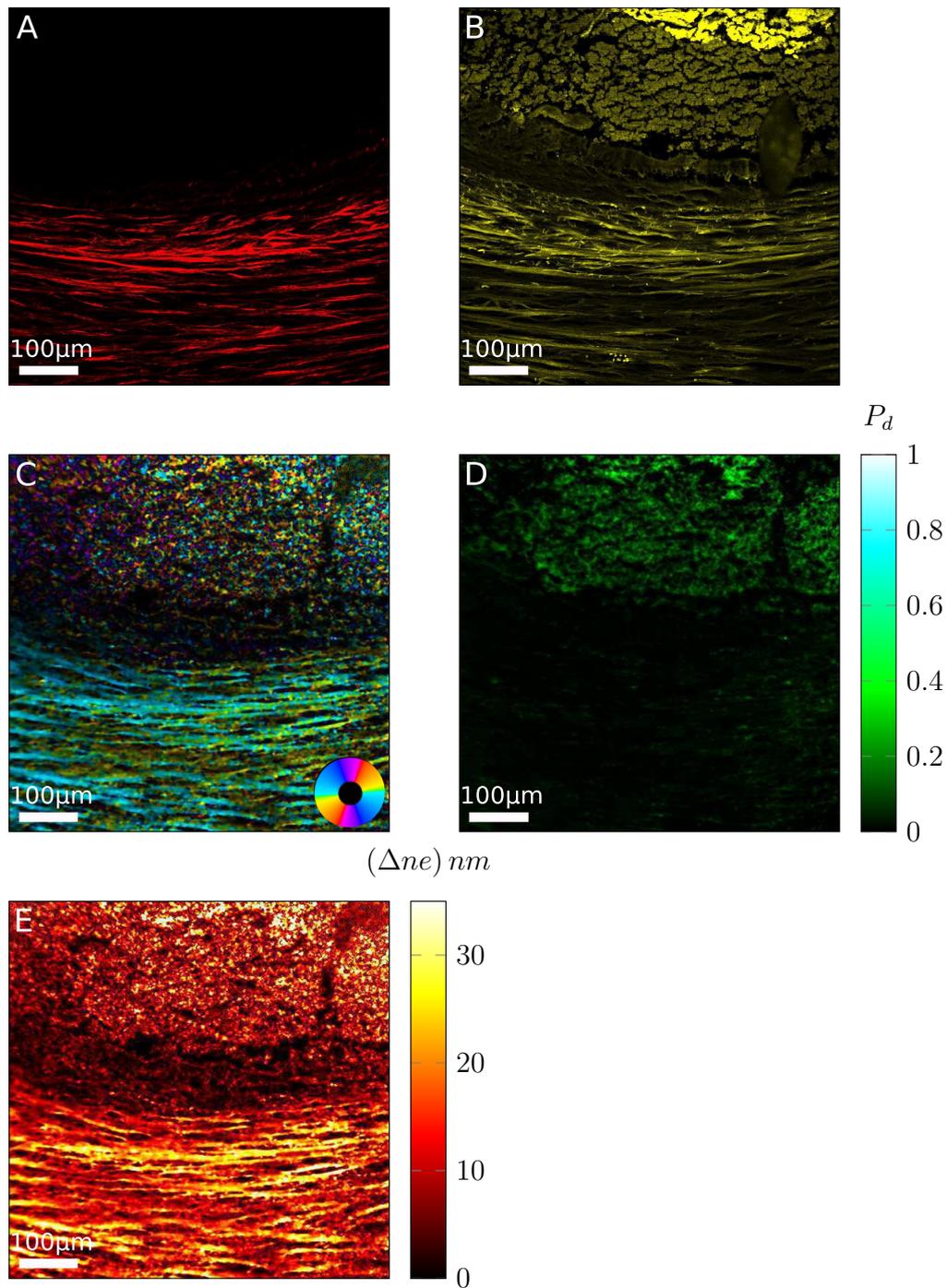


FIGURE III.2.19 – Images d’une coupe de colon cancéreux humain avec des techniques non-linéaires ($\times 20/0.75\text{NA}$) et polarimétrique ($\beta = 10^\circ$ - $\times 10/0.25\text{NA}$ - zoom $\times 2$) : A, *SHG*; B, *TPEF*; C, retard optique et azimut; D, degré de dépolarisation; E, retard optique

Par ailleurs, il serait judicieux d'implémenter cette nouvelle modalité polarimétrique et les modalités non-linéaires (SHG et TPEF) dans un même microscope.

Conclusion

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons présenté le développement d'un microscope à balayage permettant la mesure sur fond noir de la retardance linéaire et de son azimuth ainsi que du degré de dépolarisation.

Nous avons d'abord montré l'implémentation optique et mécanique du dispositif de mesure de la retardance linéaire dans un microscope à balayage Thorlabs CM100, en évoquant les limitations liées aux optiques utilisées. Puis le principe de la synchronisation du balayage et de la mesure de la retardance a été expliqué.

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons présenté quelques résultats illustrant les performances de cette nouvelle modalité de microscopie, que ce soit en terme de résolution, de mesure de phénomènes dynamiques ou de gamme de mesure. Nous avons également montré avec l'exemple d'une coupe histologique d'un tissu cancéreux, toute la richesse des informations mesurées et la complémentarité de cette modalité avec les modalités de microscopie non-linéaires.

Conclusion générale et perspectives

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Conclusion

Au cours de cette thèse, une nouvelle technique de mesure polarimétrique sur fond noir, basée sur le principe du codage spectral de la polarisation a été développée sur table optique puis intégrée dans un microscope à balayage. L'utilisation du codage spectral de la polarisation permet des cadences de mesure compatibles avec le balayage du microscope. La configuration intégrée à un microscope à balayage permet d'envisager le couplage avec les modalités non-linéaires (SHG, TPEF) en un même instrument. Enfin la mesure sur fond noir permet d'atteindre une résolution sur la mesure de la retardance linéaire bien inférieure à celle qu'il est possible d'obtenir par une mesure sur fond clair (par exemple les techniques faisant la mesure complète de la matrice de Mueller).

Dans un premier temps, nous avons implémenté cette nouvelle méthode en configuration horizontale sur table optique en utilisant une source à balayage en fréquence optique (*swept-source*) et un détecteur monocanal (photodiode), permettant d'acquérir un spectre à une cadence de 100 kHz .

Les états de polarisation sont générés par un jeu de deux lames de phase dites *de codage*, placées en aval d'un polariseur linéaire, d'épaisseurs respectives $5e = 2\text{ mm}$ et $1e = 0.4\text{ mm}$, et orientées respectivement à β et 0° par rapport à l'axe du premier polariseur. Les états de polarisation sont ensuite analysés par un polariseur linéaire orthogonal au premier. Nous avons vu qu'il est possible d'ajuster l'angle de biais β de manière à utiliser toute la puissance incidente sans saturer le détecteur, permettant ainsi de réaliser une mesure sur fond noir.

Dans le cas de la mesure de la retardance linéaire, deux lames $\lambda/4$, respectivement orientées à $+45^\circ$ et -45° , encadrent le milieu d'étude et permettent de transformer les états de polarisations générés proches d'un état linéaire en des états proches d'un état circulaire et réciproquement au niveau de l'analyse.

Lors de l'implémentation expérimentale de la configuration dédiée à la mesure du

pouvoir rotatoire, nous avons validé le principe de la mesure et notre modèle de bruit, permettant ainsi de déterminer la valeur optimale de l'angle de biais β pour minimiser la résolution.

Le passage à la configuration destinée à la mesure de la retardance linéaire s'est révélé non-trivial, à cause de l'introduction des deux lames $\lambda/4$ supplémentaires. En effet, l'ajout de ces lames augmente les sources d'erreurs systématiques. Cependant des simulations ont montré qu'il était possible de compenser en partie ces erreurs, par la soustraction d'une mesure vide d'une part et par l'ajout d'une 3ème lame $\lambda/4$, alignée à l'axe du premier polariseur, d'autre part. Ces méthodes ont été ensuite validées expérimentalement.

Enfin le dispositif dédié à la mesure de la retardance linéaire a été intégré dans un microscope à balayage laser. Outre le montage et l'alignement de celui-ci, un travail d'intégration opto-mécanique a été nécessaire, pour placer les éléments optiques du dispositif de mesure de la retardance dans le microscope. Nous avons également identifié les facteurs limitant la résolution de la mesure de la retardance linéaire.

Nous avons finalement exploré les potentialités de cette nouvelle modalité d'imagerie avec divers milieux d'étude, en collaboration avec des biologistes. Ceci nous a permis de valider que la résolution sur la mesure de la retardance linéaire est bien supérieure avec cette approche sur fond noir qu'avec une approche sur fond clair. Enfin, cela a conduit à nous interroger sur la meilleure façon de représenter les informations polarimétriques ainsi mesurées.

Perspectives

Ce travail portait sur le développement d'une nouvelle modalité de mesure polarimétrique sur fond noir par codage spectral de la polarisation, intégrée à un microscope à balayage laser en transmission.

Nous pouvons envisager deux grands axes d'évolution pour la suite. D'une part améliorer cette configuration de microscope à balayage en transmission, en travaillant notamment sur la source laser. D'autre part, il est également possible de décliner ce principe de mesure pour d'autres types de configuration.

Améliorations de la configuration optique

Ainsi que nous l'évoquons dans le chapitre III.2, divers améliorations sont possibles au niveau de la configuration optique du microscope afin de gagner en résolution sur la

mesure de la retardance linéaire et de nous rapprocher des performances obtenues sur table optique :

- utiliser des couples objectif/condenseur présentant un meilleur taux d’extinction, pour limiter les pertes de contraste de franges associées
- utiliser des optiques (notamment la lentille de scan et la lentille de tube) présentant une transmission optimale autour de la bande spectrale utilisée, pour réduire les pertes de puissance optique
- utiliser des polariseurs ayant de meilleurs traitements anti-reflet, pour éliminer les multiples réflexions générant des pertes de contraste de franges
- implémenter la compensation des erreurs systématiques avec une 3ème lame $\lambda/4$, pour minimiser leurs impacts sur la résolution de la mesure

Enfin l’implémentation de cette nouvelle modalité polarimétrique et les modalités non-linéaires (SHG et TPEF) dans un même microscope permettrait de faciliter le travail de couplage et de comparaison de ces techniques amorcé dans ce travail de thèse.

Améliorations de la source

La technologie des sources à balayage en fréquence optique est récente et fait l’objet de nombreux nouveaux développements, notamment pour les applications en OCT [262-264]. Aussi nous pouvons tirer parti de certaines de ces avancées.

Nous pouvons notamment mentionner la possibilité d’accroître la cadence de balayage jusqu’à 1 MHz [265], permettant de réduire la durée d’une mesure à seulement 1 μs . Ceci offrirait la possibilité d’accélérer le balayage afin de suivre des phénomènes dynamiques, d’acquérir des images sur un plus grand nombre de pixels pour une même durée d’acquisition.

En 2019, S. Karpf et B. Jalali ont démontré la possibilité d’amplifier une source à balayage en fréquence optique et de la doubler en fréquence [266, 267]. Ceci présente un très grand intérêt pour la technique développée dans ce manuscrit. D’abord, nous avons vu que la puissance incidente est un facteur déterminant de la résolution de la mesure de la retardance. Amplifier la source permettrait donc d’améliorer cette résolution, dans la limite où le taux d’extinction n’est pas limitant. En outre le doublage en fréquence présente deux intérêts. Le premier est que la retardance est proportionnelle à la fréquence optique. Ainsi en doublant en fréquence la source, la retardance mesurée est double pour un même retard optique. Ceci permettrait donc de mesurer des retards optiques deux

fois plus faibles, c'est-à-dire des structures bien plus fines. Par ailleurs, à ces longueurs d'onde, il est plus facile de trouver des optiques et détecteurs adaptés. Enfin, la résolution spatiale étant limitée par la diffraction, diviser par deux la longueur d'onde permettrait également de gagner en résolution spatiale.

En 2022, Y. Feng et al. ont démontré la possibilité d'utiliser un laser femtoseconde, afin de réaliser une mesure complète de la matrice de Mueller par codage spectral de la polarisation en seulement 10 ns [268], dans une configuration de mesure ponctuelle.

Outre le gain important sur la durée de la mesure, ce type de source est déjà utilisée pour les modalités de microscopie non-linéaires et il est envisageable de l'utiliser également pour réaliser la mesure sur fond noir de la retardance linéaire par codage spectral. Nous aurions ainsi accès avec une même source à la modalité de mesure de la retardance et aux modalités non-linéaires. Toutefois du fait de l'utilisation d'un spectromètre comme détecteur, cette approche ne serait pas possible dans une configuration de microscope à balayage laser en transmission.

Configurations alternatives

Nous avons fait le choix dans ce manuscrit d'intégrer le dispositif de mesure sur fond noir de la retardance linéaire par codage spectral de la polarisation dans une configuration de microscopie à balayage en transmission. Cependant d'autres configurations sont possibles, par exemple :

- une configuration de mesure ponctuelle, qui pourrait être utilisée (1) en rhéoptique, pour mesurer des biréfringence d'écoulement [6], (2) en pharmacie, couplée à un dispositif de chromatographie liquide à haute-pression (*HPLC*), pour la séparation des énantiomères via la mesure du pouvoir rotatoire [269], (3) pour la réalisation de capteurs de champ magnétiques via la mesure du pouvoir rotatoire induit par effet Faraday [270].
- une configuration de microscopie à balayage en réflexion, utilisant une source large bande et un spectromètre comme détecteur, dans une configuration similaire à celle proposée par C. Li et Y. Zhu, pour une mesure sur fond clair [192].
- une configuration de microscopie plein champ en transmission, utilisant une source large bande et une caméra hyperspectrale comme détecteur.

Au fil de ce manuscrit nous avons revisité la polarimétrie sur fond noir grâce au principe du codage spectral de la polarisation. Ceci nous a permis de l'appliquer à l'imagerie

de faibles biréfringences dans une configuration de microscope à balayage laser. La combinaison de cette nouvelle technique avec les techniques non-linéaires ouvre des perspectives intéressantes pour l'étude des milieux biologiques.

ANNEXES

A.I Vecteurs de Jones et de Stokes pour différents états de polarisation

État de polarisation	Représentation temporelle	Vecteur de Jones	Vecteur de Stokes
Linéaire // Ox	$\begin{cases} E_x(t) = E_{0x} \cos \omega t \\ E_y(t) = 0 \end{cases}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$
Linéaire // Oy	$\begin{cases} E_x(t) = 0 \\ E_y(t) = E_{0y} \cos \omega t \end{cases}$	$\begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$
Linéaire à 45°	$\begin{cases} E_x(t) = E_0 \cos \omega t \\ E_y(t) = E_0 \cos \omega t \end{cases}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix}$
Linéaire à -45°	$\begin{cases} E_x(t) = E_0 \cos \omega t \\ E_y(t) = -E_0 \cos \omega t \end{cases}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix}$
Circulaire gauche	$\begin{cases} E_x(t) = E_0 \cos \omega t \\ E_y(t) = E_0 \sin \omega t \end{cases}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ -i \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix}$
Circulaire droite	$\begin{cases} E_x(t) = E_0 \cos \omega t \\ E_y(t) = -E_0 \sin \omega t \end{cases}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ i \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}$
Elliptique	$\begin{cases} E_x(t) = E_{0x} \cos \omega t \\ E_y(t) = E_{0y} \cos(\omega t + \phi) \end{cases}$	$\begin{bmatrix} \cos v \\ \sin v e^{j\phi} \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ \cos 2v \\ \sin 2v \cos \phi \\ \sin 2v \sin \phi \end{bmatrix}$
Totalement dépolarisé	$\begin{cases} E_x(t) = E_{0x}(t) \cos \omega t \\ E_y(t) = E_{0y}(t) \cos(\omega t + \phi(t)) \end{cases}$	non défini	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$

TABLE A.I.1 – Vecteurs de Jones et de Stokes pour différents états de polarisation.

A.II Détermination expérimentale du drop-off ϖ et du taux d'extinction des polariseurs ϵ

D'après les équations II.2.8 :

$$\begin{aligned}
 I_{DC} &= \frac{1}{2} T_{samp} I_0 T_{pol} (1 - \epsilon^2 - (1 - 3\epsilon^2) \cos(2\beta)^2 \cos(2\theta)) \\
 F_5 &= -\frac{1}{4} T_{samp} I_0 \varpi T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \sin(2\beta)^2 \cos(2\theta) e^{ja\phi_0} \\
 F_6 &= -\frac{1}{2} T_{samp} I_0 \varpi T_{pol} (1 - 3\epsilon^2) \cos(\beta)^3 \sin(\beta) \sin(2\theta) e^{j(a+b)\phi_0}
 \end{aligned}$$

il vient pour un pouvoir rotatoire $\theta = 0^\circ$ et un faible angle de biais β , la relation suivante :

$$\frac{I_{DC}}{F_5} = \frac{\epsilon^2}{\varpi} \frac{1}{\beta^2} + \frac{2}{\varpi} \quad (\text{A.II.1})$$

avec $\tau_{ext} = 1/\epsilon^2$, le taux d'extinction des polariseurs et ϖ , le drop-off affectant le pic F_5 . En traçant la courbe $I_{DC}/F_5 = f(1/\beta^2)$, nous pouvons remonter au drop-off ϖ_5 ainsi qu'au taux d'extinction des polariseurs τ_{ext} .

Polariseurs Glan-Taylor

Pour les polariseurs Glan-Taylor, nous avons réalisé les acquisitions (cf. figure A.II.1) en fixant $I_0 = 7.18 \text{ mW}$ et en faisant varier β de 0.22° à 0.85° .

Par régression linéaire, nous trouvons pour le pic F_5 un drop-off $\varpi = 0.94$ et un taux d'extinction $\tau_{ext} = 3.8 \cdot 10^4$. Ceci est un peu inférieur à la valeur nominale de 10^5 . Cela est peut-être lié à la sensibilité de la réponse des polariseurs Glan-Taylor à leurs orientations.

Polariseurs Polarcors™

Pour les polariseurs Polarcors™, nous avons réalisé les acquisitions (cf. figure A.II.2) en fixant $I_0 = 7.66 \text{ mW}$ et en faisant varier β de 0.15° à 0.60° .

De la même façon, nous obtenons $\tau_{ext} = 7.2 \cdot 10^4$ pour les Polarcors™.

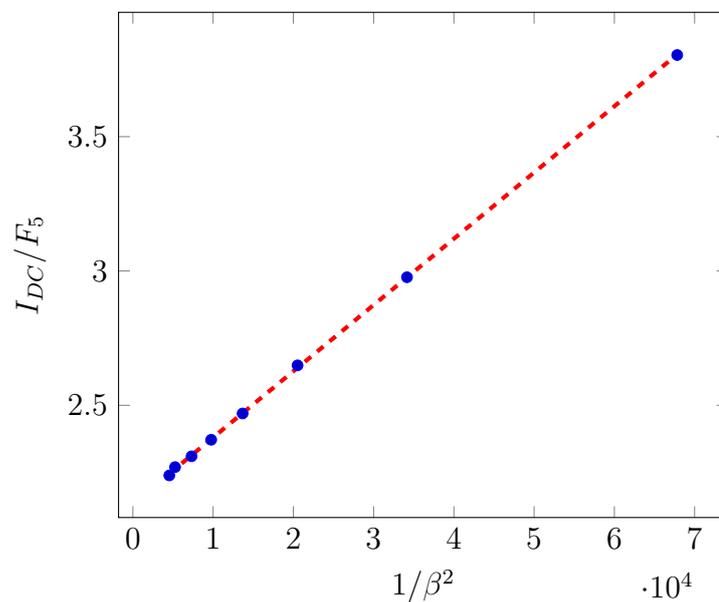


FIGURE A.II.1 – Rapport I_{DC}/F_5 en fonction $1/\beta^2$ (avec β en rad), pour $\theta = 0^\circ$ et $I_0 = 7.18 \text{ mW}$ (Glan-Taylor).

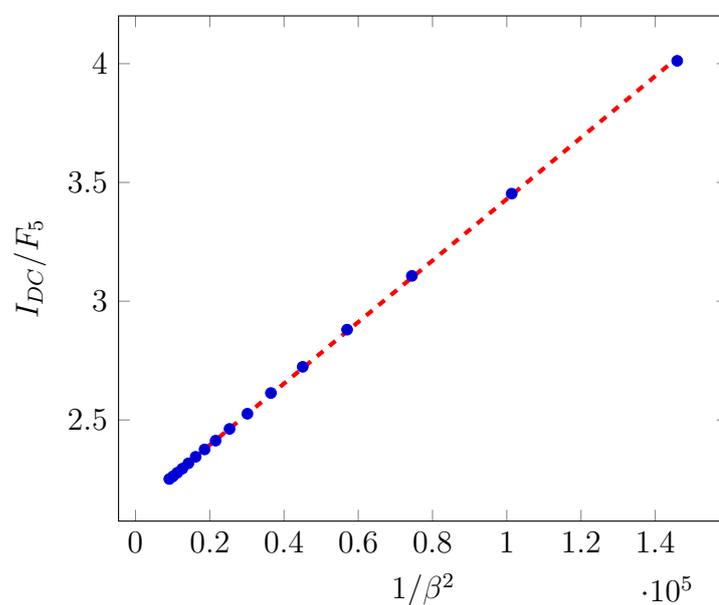


FIGURE A.II.2 – Rapport I_{DC}/F_5 en fonction $1/\beta^2$ (avec β en rad), pour $\theta = 0^\circ$ et $I_0 = 7.66 \text{ mW}$ (Polarcors™).

BIBLIOGRAPHIE

Introduction Générale

- [1] E. BARTHOLIN, *Experimenta crystalli Islandici disdiacastici, quibus mira et insolita refractio detegitur*, Copenhagen, 1669.
- [2] Jean ROSMORDUC, *La polarisation rotatoire naturelle, de la structure de la lumière à celle des molécules*, Paris : Librairie Scientifique et Technique A. BLANCHARD, 1983.
- [3] Louis PASTEUR, « Recherches sur les relations qui peuvent exister entre la forme cristalline, la composition chimique et le sens de la polarisation rotatoire », in : *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e sér. 24 (1848), p. 442-459.
- [4] Kenneth W. BUSCH et Marianna A. BUSCH, *Chiral Analysis*, Amsterdam : Elsevier, 2006, DOI : [10.1016/B978-0-444-51669-5.X5000-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51669-5.X5000-5).
- [5] Matthias SCHULZ et al., « Giant intrinsic circular dichroism of prolinol-derived squaraine thin films », in : *Nature Communications* 9.2413 (2018), DOI : [10.1038/s41467-018-04811-7](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04811-7).
- [6] Jean-Paul DECRUPPE, « Rhéologie et biréfringence d'écoulement, du macroscopique au microscopique. », in : *Rhéologie* 10 (2006), p. 1-12, URL : <https://www.legfr.fr/IMG/pdf/Revue/Vol10/Decruppe%201-12.pdf>.
- [7] Kinglston SOARES, Adillys Marcelo DA CUNHA SANTOS et Sebastião V. CANEVAROLO, « In-line rheo-polarimetry : A method to measure in real time the flow birefringence during polymer extrusion », in : *Polymer Testing* 30.8 (2011), p. 848-855, DOI : [10.1016/j.polymeresting.2011.08.007](https://doi.org/10.1016/j.polymeresting.2011.08.007).
- [8] J. Scott TYO et al., « Review of passive imaging polarimetry for remote sensing applications », in : *Applied Optics* 45.22 (août 2006), p. 5453-5469, DOI : [10.1364/AO.45.005453](https://doi.org/10.1364/AO.45.005453).
- [9] Shane CLOUDE, *Polarisation : Applications in Remote Sensing*, Oxford : Oxford University Press, 2009, DOI : [10.1093/acprof:oso/9780199569731.001.0001](https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199569731.001.0001).

-
- [10] Lei YAN et al., « General review of optical polarization remote sensing », in : *International Journal of Remote Sensing* 41.13 (2020), p. 4853-4864, DOI : [10.1080/01431161.2020.1724350](https://doi.org/10.1080/01431161.2020.1724350).
- [11] K. Y. BLOKH et al., « Spin-orbit interactions of light », in : *Nature Photonics* 9 (2015), p. 796-808, DOI : [10.1038/nphoton.2015.201](https://doi.org/10.1038/nphoton.2015.201).
- [12] Bienvenu NDAGANO et al., « Characterizing quantum channels with non-separable states of classical light », in : *Nature Physics* 13 (2017), p. 397-402, DOI : [10.1038/nphys4003](https://doi.org/10.1038/nphys4003).
- [13] Aaron Z. GOLDBERG et al., « Quantum concepts in optical polarization », in : *Advances in Optics and Photonics* 13.1 (mars 2021), p. 1-73, DOI : [10.1364/AOP.404175](https://doi.org/10.1364/AOP.404175).
- [14] David CLARKE, *Stellar Polarimetry*, John Wiley et Sons, Ltd, 2009, DOI : [10.1002/9783527628322](https://doi.org/10.1002/9783527628322).
- [15] Franc SNIK et Christoph U. KELLER, « Astronomical Polarimetry : Polarized Views of Stars and Planets », in : *Planets, Stars and Stellar Systems : Volume 2 : Astronomical Techniques, Software and Data*, sous la dir. de Terry D. OSWALT et Howard E. BOND, Dordrecht : Springer Netherlands, 2013, p. 175-221, DOI : [10.1007/978-94-007-5618-2_4](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5618-2_4).
- [16] Nirmalya GHOSH et Alex I. VITKIN, « Tissue polarimetry : concepts, challenges, applications, and outlook », in : *Journal of Biomedical Optics* 16.11 (2011), p. 110801, DOI : [10.1117/1.3652896](https://doi.org/10.1117/1.3652896).
- [17] Tomomi TANI, Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Living Cells and Dynamic Molecules Observed with the Polarized Light Microscope : the Legacy of Shinya Inoué », in : *The Biological bulletin* 231 (août 2016), p. 85-95, DOI : [10.1086/689593](https://doi.org/10.1086/689593).
- [18] Tatiana NOVIKOVA et al., « Special Section Guest Editorial : Polarized Light for Biomedical Applications », in : *Journal of Biomedical Optics* 21.7 (2016), p. 071001, DOI : [10.1117/1.JBO.21.7.071001](https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.7.071001).
- [19] Jessica C RAMELLA-ROMAN, Ilyas SAYTASHEV et Mattia PICCINI, « A review of polarization-based imaging technologies for clinical and preclinical applications », in : *Journal of Optics* 22.12 (nov. 2020), p. 123001, DOI : [10.1088/2040-8986/abbf8a](https://doi.org/10.1088/2040-8986/abbf8a).

-
- [20] Chao HE et al., « Polarisation optics for biomedical and clinical applications : a review », in : *Light : Science and Applications* 10.194 (2021), DOI : [10.1038/s41377-021-00639-x](https://doi.org/10.1038/s41377-021-00639-x).
- [21] S. INOUÉ, *Collected Works of Shinya Inoué : Microscopes, Living Cells, and Dynamic Molecules*, World Scientific, 2008, DOI : [10.1142/6315](https://doi.org/10.1142/6315).
- [22] Hien Thi-Thu PHAM et al., « Optical parameters of human blood plasma, collagen, and calfskin based on the Stokes-Mueller technique », in : *Applied Optics* 57.16 (juin 2018), p. 4353-4359, DOI : [10.1364/AO.57.004353](https://doi.org/10.1364/AO.57.004353).
- [23] Wenjun WANG et al., « Quantitative assessment of cell contractility using polarized light microscopy », in : *Journal of Biophotonics* 11.11 (2018), e201800008, DOI : [10.1002/jbio.201800008](https://doi.org/10.1002/jbio.201800008).
- [25] Matthieu DUBREUIL et al., « Polarization-resolved second harmonic microscopy of skeletal muscle in sepsis », in : *Biomedical Optics Express* 9.12 (déc. 2018), p. 6350-6358, DOI : [10.1364/BOE.9.006350](https://doi.org/10.1364/BOE.9.006350).
- [26] Matthieu DUBREUIL et al., « Linear diattenuation imaging of biological tissues with near infrared Mueller scanning microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 12.1 (jan. 2021), p. 41-54, DOI : [10.1364/BOE.408354](https://doi.org/10.1364/BOE.408354).
- [27] George ALZEEB et al., « Gastric cancer multicellular spheroid analysis by two-photon microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 13.5 (mai 2022), p. 3120-3130, DOI : [10.1364/BOE.450518](https://doi.org/10.1364/BOE.450518).
- [28] Sophie BRASSELET, « Polarization-resolved nonlinear microscopy : application to structural molecular and biological imaging », in : *Advances in Optics and Photonics* 3.3 (sept. 2011), p. 205, DOI : [10.1364/AOP.3.000205](https://doi.org/10.1364/AOP.3.000205).
- [29] Nirmal MAZUMDER et al., « Label-Free Non-linear Multimodal Optical Microscopy-Basics, Development, and Applications », in : *Frontiers in Physics* 7.170 (oct. 2019), DOI : [10.3389/fphy.2019.00170](https://doi.org/10.3389/fphy.2019.00170).
- [30] A. LE GRATIET, « Développement d'un polarimètre de Mueller à codage spectral utilisant une Swept-source : application à la microscopie à balayage laser », thèse de doct., Université de Bretagne Occidentale, 2016.

I Anisotropies optiques et techniques de mesures

- [16] Nirmalya GHOSH et Alex I. VITKIN, « Tissue polarimetry : concepts, challenges, applications, and outlook », in : *Journal of Biomedical Optics* 16.11 (2011), p. 110801, DOI : [10.1117/1.3652896](https://doi.org/10.1117/1.3652896).
- [17] Tomomi TANI, Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Living Cells and Dynamic Molecules Observed with the Polarized Light Microscope : the Legacy of Shinya Inoué », in : *The Biological bulletin* 231 (août 2016), p. 85-95, DOI : [10.1086/689593](https://doi.org/10.1086/689593).
- [18] Tatiana NOVIKOVA et al., « Special Section Guest Editorial : Polarized Light for Biomedical Applications », in : *Journal of Biomedical Optics* 21.7 (2016), p. 071001, DOI : [10.1117/1.JBO.21.7.071001](https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.7.071001).
- [19] Jessica C RAMELLA-ROMAN, Ilyas SAYTASHEV et Mattia PICCINI, « A review of polarization-based imaging technologies for clinical and preclinical applications », in : *Journal of Optics* 22.12 (nov. 2020), p. 123001, DOI : [10.1088/2040-8986/abbf8a](https://doi.org/10.1088/2040-8986/abbf8a).
- [20] Chao HE et al., « Polarisation optics for biomedical and clinical applications : a review », in : *Light : Science and Applications* 10.194 (2021), DOI : [10.1038/s41377-021-00639-x](https://doi.org/10.1038/s41377-021-00639-x).
- [21] S. INOUÉ, *Collected Works of Shinya Inoué : Microscopes, Living Cells, and Dynamic Molecules*, World Scientific, 2008, DOI : [10.1142/6315](https://doi.org/10.1142/6315).
- [22] Hien Thi-Thu PHAM et al., « Optical parameters of human blood plasma, collagen, and calfskin based on the Stokes-Mueller technique », in : *Applied Optics* 57.16 (juin 2018), p. 4353-4359, DOI : [10.1364/AO.57.004353](https://doi.org/10.1364/AO.57.004353).
- [23] Wenjun WANG et al., « Quantitative assessment of cell contractility using polarized light microscopy », in : *Journal of Biophotonics* 11.11 (2018), e201800008, DOI : [10.1002/jbio.201800008](https://doi.org/10.1002/jbio.201800008).
- [24] Shukei SUGITA et al., « Photoelasticity-based evaluation of cellular contractile force for phenotypic discrimination of vascular smooth muscle cells », in : *Scientific reports* 9.1 (2019), p. 1-9, DOI : [10.1038/s41598-019-40578-7](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40578-7).

-
- [25] Matthieu DUBREUIL et al., « Polarization-resolved second harmonic microscopy of skeletal muscle in sepsis », in : *Biomedical Optics Express* 9.12 (déc. 2018), p. 6350-6358, DOI : [10.1364/BOE.9.006350](https://doi.org/10.1364/BOE.9.006350).
- [26] Matthieu DUBREUIL et al., « Linear diattenuation imaging of biological tissues with near infrared Mueller scanning microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 12.1 (jan. 2021), p. 41-54, DOI : [10.1364/BOE.408354](https://doi.org/10.1364/BOE.408354).
- [27] George ALZEEB et al., « Gastric cancer multicellular spheroid analysis by two-photon microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 13.5 (mai 2022), p. 3120-3130, DOI : [10.1364/BOE.450518](https://doi.org/10.1364/BOE.450518).
- [28] Sophie BRASSELET, « Polarization-resolved nonlinear microscopy : application to structural molecular and biological imaging », in : *Advances in Optics and Photonics* 3.3 (sept. 2011), p. 205, DOI : [10.1364/AOP.3.000205](https://doi.org/10.1364/AOP.3.000205).
- [29] Nirmal MAZUMDER et al., « Label-Free Non-linear Multimodal Optical Microscopy-Basics, Development, and Applications », in : *Frontiers in Physics* 7.170 (oct. 2019), DOI : [10.3389/fphy.2019.00170](https://doi.org/10.3389/fphy.2019.00170).
- [30] A. LE GRATIET, « Développement d'un polarimètre de Mueller à codage spectral utilisant une Swept-source : application à la microscopie à balayage laser », thèse de doct., Université de Bretagne Occidentale, 2016.
- [31] Ewa M. SPIESZ, Werner KAMINSKY et Philippe K. ZYSSET, « A quantitative collagen fibers orientation assessment using birefringence measurements : Calibration and application to human osteons », in : *Journal of Structural Biology* 176.3 (2011), p. 302-306, ISSN : 1047-8477, DOI : [10.1016/j.jsb.2011.09.009](https://doi.org/10.1016/j.jsb.2011.09.009).
- [32] Frédéric BOULVERT, « Analyse de milieux fortement diffusants par polarimétrie de Mueller et méthodes optiques cohérentes : Application à l'étude du syndrome cutané d'irradiations aiguë », thèse de doct., Université de Bretagne Occidentale, 2006.
- [33] Xin FENG, Rakesh PATEL et Anna N. YAROSLAVSKY, « Wavelength optimized cross-polarized wide-field imaging for noninvasive and rapid evaluation of dermal structures », in : *Journal of Biophotonics* 8.4 (2015), p. 324-331, DOI : [10.1002/jbio.201400105](https://doi.org/10.1002/jbio.201400105).

-
- [34] Jarno RIEPPO et al., « Practical considerations in the use of polarized light microscopy in the analysis of the collagen network in articular cartilage », in : *Microscopy Research and Technique* 71.4 (2008), p. 279-287, DOI : [10.1002/jemt.20551](https://doi.org/10.1002/jemt.20551).
- [35] Ching-Min CHANG et al., « Optical characterization of porcine articular cartilage using a polarimetry technique with differential Mueller matrix formulism », in : *Applied Optics* 57.9 (mars 2018), p. 2121-2127, DOI : [10.1364/AO.57.002121](https://doi.org/10.1364/AO.57.002121).
- [36] Neil M. KALWANI et al., « Quantitative polarized light microscopy of unstained mammalian cochlear sections », in : *Journal of Biomedical Optics* 18.2 (2013), p. 026021, DOI : [10.1117/1.JBO.18.2.026021](https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.2.026021).
- [37] Jacob C. M. LOW et al., « Quantitative polarized light microscopy of human cochlear sections », in : *Biomedical Optics Express* 6.2 (fév. 2015), p. 599-606, DOI : [10.1364/BOE.6.000599](https://doi.org/10.1364/BOE.6.000599).
- [38] Tomomi TANI et al., « Postnatal structural development of mammalian basilar membrane provides anatomical basis for the maturation of tonotopic maps and frequency tuning », in : *Scientific reports* 11.1 (2021), p. 1-12, DOI : [10.1038/s41598-021-87150-w](https://doi.org/10.1038/s41598-021-87150-w).
- [39] Ewa M. SPIESZ et al., « Structure and collagen crimp patterns of functionally distinct equine tendons, revealed by quantitative polarised light microscopy (qPLM) », in : *Acta Biomaterialia* 70 (2018), p. 281-292, ISSN : 1742-7061, DOI : [10.1016/j.actbio.2018.01.034](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.034).
- [40] Genoveva L. F. LUNA et al., « Effects of mesenchymal stromal cells on motor function and collagen in the skeletal muscles of rats with type I diabetes », in : *International Journal of Experimental Pathology* 100.5-6 (2019), p. 359-368, DOI : [10.1111/iep.12340](https://doi.org/10.1111/iep.12340).
- [41] Kelsey D. HAMILTON, Adam J. CHRZAN et Arthur J. MICHALEK, « Reflected cross-polarized light microscopy as a method for measuring collagen fiber crimp in musculoskeletal tissues », in : *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 125 (2022), p. 104953, DOI : [10.1016/j.jmbbm.2021.104953](https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104953).
- [42] Shukei SUGITA et Takeo MATSUMOTO, « Quantitative measurement of the distribution and alignment of collagen fibers in unfixed aortic tissues », in : *Journal of Biomechanics* 46.7 (2013), p. 1403-1407, DOI : [10.1016/j.jbiomech.2013.02.003](https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.02.003).

-
- [43] Ning-Jiun JAN, Kira LATHROP et Ian A. SIGAL, « Collagen Architecture of the Posterior Pole : High-Resolution Wide Field of View Visualization and Analysis Using Polarized Light Microscopy », in : *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 58.2 (fév. 2017), p. 735-744, DOI : [10.1167/iovs.16-20772](https://doi.org/10.1167/iovs.16-20772).
- [44] E. DU et al., « Mueller matrix polarimetry for differentiating characteristic features of cancerous tissues », in : *Journal of Biomedical Optics* 19.7 (2014), p. 076013, DOI : [10.1117/1.JBO.19.7.076013](https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.7.076013).
- [45] Adib KEIKHOSRAVI et al., « Real-time polarization microscopy of fibrillar collagen in histopathology », in : *Scientific reports* 11.1 (2021), p. 11, DOI : [10.1038/s41598-021-98600-w](https://doi.org/10.1038/s41598-021-98600-w).
- [46] Matthieu DUBREUIL et al., « Mueller matrix polarimetry for improved liver fibrosis diagnosis », in : *Optics Letters* 37.6 (mars 2012), p. 1061-1063, DOI : [10.1364/OL.37.001061](https://doi.org/10.1364/OL.37.001061).
- [47] Ye WANG et al., « Mueller matrix microscope : a quantitative tool to facilitate detections and fibrosis scorings of liver cirrhosis and cancer tissues », in : *Journal of Biomedical Optics* 21.7 (2016), p. 071112, DOI : [10.1117/1.JBO.21.7.071112](https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.7.071112).
- [48] Sylvain RIVET et al., « Fast spectrally encoded Mueller optical scanning microscopy », in : *Scientific Reports* 9.3972 (2019), DOI : [10.1038/s41598-019-40467-z](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40467-z).
- [49] Y. GOULAM HOUSSEN et al., « Monitoring micrometer-scale collagen organization in rat-tail tendon upon mechanical strain using second harmonic microscopy », in : *Journal of Biomechanics* 44.11 (2011), p. 2047-2052, DOI : [10.1016/j.jbiomech.2011.05.009](https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.05.009).
- [50] Ivan E. IVANOV et al., « Correlative imaging of the spatio-angular dynamics of biological systems with multimodal instant polarization microscope », in : *Biomedical Optics Express* 13.5 (mai 2022), p. 3102-3119, DOI : [10.1364/BOE.455770](https://doi.org/10.1364/BOE.455770).
- [51] Jeffrey R. KUHN, Zhuoru WU et Martin POENIE, « Modulated Polarization Microscopy : A Promising New Approach to Visualizing Cytoskeletal Dynamics in Living Cells », in : *Biophysical Journal* 80.2 (2001), p. 972-985, DOI : [10.1016/S0006-3495\(01\)76076-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)76076-6).
- [52] Robert STYLE et al., « Traction force microscopy in physics and biology », in : *Soft matter* 10 (avr. 2014), DOI : [10.1039/c4sm00264d](https://doi.org/10.1039/c4sm00264d).

-
- [53] Ernst FISCHER, « The relation between birefringence and contractile power of normal, hypertrophied, and atrophied skeletal muscle », in : *American Journal of Physiology-Legacy Content* 131.1 (1940), p. 156-164, DOI : [10.1152/ajplegacy.1940.131.1.156](https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1940.131.1.156).
- [54] Joseph NEEDHAM et al., « Myosin birefringence and adenylypyrophosphate », in : *Nature* 147.3738 (1941), p. 766-768, DOI : [10.1038/147766a0](https://doi.org/10.1038/147766a0).
- [55] M. IRVING, « Birefringence changes associated with isometric contraction and rapid shortening steps in frog skeletal muscle fibres. », in : *The Journal of Physiology* 472.1 (1993), p. 127-156, DOI : [10.1113/jphysiol.1993.sp019940](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1993.sp019940).
- [56] R.C. HASKELL, F.D. CARLSON et P.S. BLANK, « Form birefringence of muscle », in : *Biophysical Journal* 56.2 (1989), p. 401-413, DOI : [10.1016/S0006-3495\(89\)82686-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(89)82686-4).
- [57] M. PECKHAM, M.A. FERENCZI et M. IRVING, « A birefringence study of changes in myosin orientation during relaxation of skinned muscle fibers induced by photolytic ATP release », in : *Biophysical Journal* 67.3 (1994), p. 1141-1148, ISSN : 0006-3495, DOI : [10.1016/S0006-3495\(94\)80581-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(94)80581-8).
- [58] Marco SPREAFICO et al., « Targeting HDAC8 to ameliorate skeletal muscle differentiation in Duchenne muscular dystrophy », in : *Pharmacological Research* 170 (2021), p. 105750, DOI : [10.1016/j.phrs.2021.105750](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105750).
- [59] James R. LAFOUNTAIN et Rudolf OLDENBOURG, « Kinetochore-driven outgrowth of microtubules is a central contributor to kinetochore fiber maturation in crane-fly spermatocytes », in : *Molecular Biology of the Cell* 25.9 (2014), p. 1437-1445, DOI : [10.1091/mbc.e14-01-0008](https://doi.org/10.1091/mbc.e14-01-0008).
- [60] Rudolf OLDENBOURG, « Chapter 10. Polarized Light Microscopy of Spindles », in : sous la dir. de Conly L. RIEDER, t. 61, *Methods in Cell Biology*, Academic Press, 1998, p. 175-208, DOI : [10.1016/S0091-679X\(08\)61981-0](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(08)61981-0).
- [61] Lin LIU et al., « A reliable, noninvasive technique for spindle imaging and enucleation of mammalian oocytes », in : *Nature biotechnology* 18.2 (2000), p. 223-225, DOI : [10.1038/72692](https://doi.org/10.1038/72692).
- [62] David KEEFFE et al., « Imaging meiotic spindles by polarization light microscopy : principles and applications to IVF », in : *Reproductive BioMedicine Online* 7.1 (2003), p. 24-29, DOI : [10.1016/S1472-6483\(10\)61724-5](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61724-5).

-
- [63] Rudolf OLDENBOURG, « Analysis of Microtubule Dynamics by Polarized Light », in : *Microtubule Protocols*, sous la dir. de Jun ZHOU, Humana Press, 2007, p. 111-123, DOI : [10.1007/978-1-59745-442-1_8](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-442-1_8).
- [64] J. A. BYRNE et al., « Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer », in : *Nature* (2007), p. 497-502, DOI : [10.1038/nature06357](https://doi.org/10.1038/nature06357).
- [65] Akihiro MORIMOTO et al., « Visualization of mitotic HeLa cells by advanced polarized light microscopy », in : *Micron* 39.5 (2008), p. 635-638, ISSN : 0968-4328, DOI : [10.1016/j.micron.2007.05.001](https://doi.org/10.1016/j.micron.2007.05.001).
- [66] J.N. CAAMAÑO et al., « Assessment of Meiotic Spindle Configuration and Post-Warming Bovine Oocyte Viability Using Polarized Light Microscopy », in : *Reproduction in Domestic Animals* 48.3 (2013), p. 470-476, DOI : [10.1111/rda.12111](https://doi.org/10.1111/rda.12111).
- [67] Maki KOIKE-TANI et al., « Polarized light microscopy in reproductive and developmental biology », in : *Molecular Reproduction and Development* 82.7-8 (2015), p. 548-562, DOI : [10.1002/mrd.22221](https://doi.org/10.1002/mrd.22221).
- [68] Rajesh DESAPOGU et al., « Label-free microscopy of mitotic chromosomes using the polarization orthogonality breaking technique », in : *Biomedical Optics Express* 12.8 (août 2021), p. 5290-5304, DOI : [10.1364/B0E.426630](https://doi.org/10.1364/B0E.426630).
- [69] A. L. HODGKIN et A. F. HUXLEY, « A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve », in : *The Journal of Physiology* 117.4 (1952), p. 500-544, DOI : [10.1113/jphysiol.1952.sp004764](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1952.sp004764).
- [70] J. MOLLINK et al., « White matter changes in the perforant path area in patients with amyotrophic lateral sclerosis », in : *Neuropathology and Applied Neurobiology* 45.6 (2019), p. 570-585, DOI : [10.1111/nan.12555](https://doi.org/10.1111/nan.12555).
- [71] Maki KOIKE-TANI et al., « Birefringence Changes of Dendrites in Mouse Hippocampal Slices Revealed with Polarizing Microscopy », in : *Biophysical Journal* 118.10 (2020), p. 2366-2384, DOI : [10.1016/j.bpj.2020.03.016](https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.03.016).
- [72] Nathan BLANKE et al., « Quantitative birefringence microscopy for imaging the structural integrity of CNS myelin following circumscribed cortical injury in the rhesus monkey », in : *Neurophotonics* 8.1 (2021), p. 015010, DOI : [10.1117/1.NPh.8.1.015010](https://doi.org/10.1117/1.NPh.8.1.015010).

-
- [73] Megan Lynn MORGAN et al., « Label-free assessment of myelin status using birefringence microscopy », in : *Journal of Neuroscience Methods* 360 (2021), p. 109226, DOI : [10.1016/j.jneumeth.2021.109226](https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109226).
- [74] L. B. COHEN, B. HILLE et R. D. KEYNES, « Light scattering and birefringence changes during activity in the electric organ of *Electrophorus electricus* », in : *The Journal of Physiology* 203.2 (1969), p. 489-509, DOI : [10.1113/jphysiol.1969.sp008876](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1969.sp008876).
- [75] R. A. STEPANOSKI et al., « Noninvasive detection of changes in membrane potential in cultured neurons by light scattering. », in : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88.21 (1991), p. 9382-9386, DOI : [10.1073/pnas.88.21.9382](https://doi.org/10.1073/pnas.88.21.9382).
- [76] Ali H. BADREDDINE, Tomas JORDAN et Irving J. BIGIO, « Real-time imaging of action potentials in nerves using changes in birefringence », in : *Biomedical Optics Express* 7.5 (mai 2016), p. 1966-1973, DOI : [10.1364/BOE.7.001966](https://doi.org/10.1364/BOE.7.001966).
- [77] B. B. AARON et J. M. GOSLINE, « Elastin as a random-network elastomer : A mechanical and optical analysis of single elastin fibers », in : *Biopolymers* 20.6 (1981), p. 1247-1260, DOI : [10.1002/bip.1981.360200611](https://doi.org/10.1002/bip.1981.360200611).
- [78] George N. IOANNOU et al., « Hepatic cholesterol crystals and crown-like structures distinguish NASH from simple steatosis [S] », in : *Journal of Lipid Research* 54.5 (mai 2013), p. 1326-1334, DOI : [10.1194/jlr.M034876](https://doi.org/10.1194/jlr.M034876).
- [79] Lee-Way JIN et al., « Imaging linear birefringence and dichroism in cerebral amyloid pathologies », in : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.26 (2003), p. 15294-15298, DOI : [10.1073/pnas.2534647100](https://doi.org/10.1073/pnas.2534647100).
- [80] Van K. LAM et al., « Dual-modality digital holographic and polarization microscope to quantify phase and birefringence signals in biospecimens with a complex microstructure », in : *Biomedical Optics Express* 13.2 (fév. 2022), p. 805-823, DOI : [10.1364/BOE.449125](https://doi.org/10.1364/BOE.449125).
- [81] Yael ABRAHAM et Rivka ELBAUM, « Quantification of microfibril angle in secondary cell walls at subcellular resolution by means of polarized light microscopy », in : *New Phytologist* 197.3 (2013), p. 1012-1019, DOI : [10.1111/nph.12070](https://doi.org/10.1111/nph.12070).

-
- [82] Kaili HU et al., « Investigation of the multilayered structure and microfibril angle of different types of bamboo cell walls at the micro/nano level using a LC-PolScope imaging system », in : *Cellulose* 24 (nov. 2017), p. 4611-4625, DOI : [10.1007/s10570-017-1447-y](https://doi.org/10.1007/s10570-017-1447-y).
- [83] Huaxi XIAO et al., « The study on starch granules by using darkfield and polarized light microscopy », in : *Journal of Food Composition and Analysis* 92 (2020), p. 103576, DOI : [10.1016/j.jfca.2020.103576](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103576).
- [84] Ishita CHAKRABORTY et al., « Advanced microscopy techniques for revealing molecular structure of starch granules », in : *Biophysical Reviews* 12.1 (fév. 2020), p. 105-122, DOI : [10.1007/s12551-020-00614-7](https://doi.org/10.1007/s12551-020-00614-7).
- [85] R. OLDENBOURG, « Analysis of edge birefringence », in : *Biophysical Journal* 60.3 (1991), p. 629-641, DOI : [10.1016/S0006-3495\(91\)82092-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(91)82092-6).
- [86] Kaoru KATOH et al., « Birefringence Imaging Directly Reveals Architectural Dynamics of Filamentous Actin in Living Growth Cones », in : *Molecular Biology of the Cell* 10.1 (1999), p. 197-210, DOI : [10.1091/mbc.10.1.197](https://doi.org/10.1091/mbc.10.1.197).
- [87] Pal G. ELLINGSEN et al., « Quantitative characterization of articular cartilage using Mueller matrix imaging and multiphoton microscopy », in : *Journal of Biomedical Optics* 16.11 (2011), p. 116002, DOI : [10.1117/1.3643721](https://doi.org/10.1117/1.3643721).
- [88] V. N. DU LE et al., « Depth-resolved Mueller matrix polarimetry microscopy of the rat cornea », in : *Biomedical Optics Express* 11.10 (oct. 2020), p. 5982-5994, DOI : [10.1364/BOE.402201](https://doi.org/10.1364/BOE.402201).
- [89] Stéphane BANCELIN et al., « Determination of collagen fiber orientation in histological slides using Mueller microscopy and validation by second harmonic generation imaging », in : *Optics Express* 22.19 (sept. 2014), p. 22561-22574, DOI : [10.1364/OE.22.022561](https://doi.org/10.1364/OE.22.022561).
- [90] Yoshio WATANABE, « Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit) : Incidence and development of atherosclerosis and xanthoma », in : *Atherosclerosis* 36.2 (1980), p. 261-268, DOI : [10.1016/0021-9150\(80\)90234-8](https://doi.org/10.1016/0021-9150(80)90234-8).
- [91] H.G. JERRARD, « Modern description of polarized light : matrix methods », in : *Optics and Laser Technology* 14.6 (1982), p. 309-319, DOI : [10.1016/0030-3992\(82\)90034-2](https://doi.org/10.1016/0030-3992(82)90034-2).

-
- [92] Pierre PELLAT-FINET, « Représentation des états et des Opérateurs de Polarisation de la Lumière Par des Quaternions », in : *Optica Acta : International Journal of Optics* 31.4 (1984), p. 415-434, DOI : [10.1080/713821517](https://doi.org/10.1080/713821517).
- [93] Serge HUARD, *Polarisation de la lumière*, Masson, 1994.
- [94] M. BORN et E. WOLF, *Principles of Optics*, Pergamon Press, 1983.
- [95] Colin J. R. SHEPPARD et al., « A Table of Some Coherency Matrices, Coherency Matrix Factors, and Their Respective Mueller Matrices », in : *Photonics* 9.394 (6 2022), DOI : [10.3390/photonics9060394](https://doi.org/10.3390/photonics9060394).
- [96] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems I. Description and Discussion of the Calculus », in : *Journal of the Optical Society of America* 31.7 (juill. 1941), p. 488-493, DOI : [10.1364/JOSA.31.000488](https://doi.org/10.1364/JOSA.31.000488).
- [97] Henry HURWITZ et R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems II. Proof of Three General Equivalence Theorems », in : *Journal of the Optical Society of America* 31.7 (juill. 1941), p. 493-499, DOI : [10.1364/JOSA.31.000493](https://doi.org/10.1364/JOSA.31.000493).
- [98] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems III. The Sohncke Theory of Optical Activity », in : *Journal of the Optical Society of America* 31.7 (juill. 1941), p. 500-503, DOI : [10.1364/JOSA.31.000500](https://doi.org/10.1364/JOSA.31.000500).
- [99] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems IV. », in : *Journal of the Optical Society of America* 32.8 (août 1942), p. 486-493, DOI : [10.1364/JOSA.32.000486](https://doi.org/10.1364/JOSA.32.000486).
- [100] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems V. A More General Formulation, and Description of Another Calculus », in : *Journal of the Optical Society of America* 37.2 (fév. 1947), p. 107-110, DOI : [10.1364/JOSA.37.000107](https://doi.org/10.1364/JOSA.37.000107).
- [101] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems VI. Experimental Determination of the Matrix », in : *Journal of the Optical Society of America* 37.2 (fév. 1947), p. 110-112, DOI : [10.1364/JOSA.37.000110](https://doi.org/10.1364/JOSA.37.000110).
- [102] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems VII. Properties of the N-Matrices », in : *Journal of the Optical Society of America* 38.8 (août 1948), p. 671-685, DOI : [10.1364/JOSA.38.000671](https://doi.org/10.1364/JOSA.38.000671).

-
- [103] R. Clark JONES, « A New Calculus for the Treatment of Optical Systems VIII. Electromagnetic Theory », in : *Journal of the Optical Society of America* 46.2 (fév. 1956), p. 126-131, DOI : [10.1364/JOSA.46.000126](https://doi.org/10.1364/JOSA.46.000126).
- [104] George G. STOKES, « On the Composition and Resolution of Streams of Polarized Light from different Sources », in : *Transactions of the Cambridge Philosophical Society* 9.16 (1852), p. 399-416, DOI : [10.1017/CB09780511702266.010](https://doi.org/10.1017/CB09780511702266.010).
- [105] Henri PONCARÉ, *Théorie mathématique de la lumière*, t. 2, Paris : Georges Carré, 1892.
- [106] Paul SOLEILLET, « Sur les paramètres caractérisant la polarisation partielle de la lumière dans les phénomènes de fluorescence », in : *Annales de Physique* 10.12 (1929), p. 23-97, DOI : [10.1051/anphys/192910120023](https://doi.org/10.1051/anphys/192910120023).
- [107] Francis PERRIN, « Polarization of Light Scattered by Isotropic Opalescent Media », in : *The Journal of Chemical Physics* 10.7 (1942), p. 415-427, DOI : [10.1063/1.1723743](https://doi.org/10.1063/1.1723743).
- [108] Hans MUELLER, « The foundations of optics », in : *Journal of the Optical Society of America* 38.7 (juill. 1948), p. 661, DOI : [10.1364/JOSA.38.000657](https://doi.org/10.1364/JOSA.38.000657).
- [109] R. SIMON, « The connection between Mueller and Jones matrices of polarization optics », in : *Optics Communications* 42.5 (1982), p. 293-297, DOI : [10.1016/0030-4018\(82\)90234-6](https://doi.org/10.1016/0030-4018(82)90234-6).
- [110] S.R. CLOUDE, « Lie Groups in Electromagnetic Wave Propagation and Scattering », in : *Journal of Electromagnetic Waves and Applications* 6.7 (1992), p. 947-974, DOI : [10.1163/156939392X01552](https://doi.org/10.1163/156939392X01552).
- [111] Donald G. M. ANDERSON et Richard BARAKAT, « Necessary and sufficient conditions for a Mueller matrix to be derivable from a Jones matrix », in : *Journal of the Optical Society of America A* 11.8 (août 1994), p. 2305-2319, DOI : [10.1364/JOSAA.11.002305](https://doi.org/10.1364/JOSAA.11.002305).
- [112] Shih-Yau LU et Russell A. CHIPMAN, « Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition », in : *Journal of the Optical Society of America A* 13.5 (mai 1996), p. 1106-1113, DOI : [10.1364/JOSAA.13.001106](https://doi.org/10.1364/JOSAA.13.001106).
- [113] R. OSSIKOVSKI et al., « Depolarizing Mueller matrices : how to decompose them ? », in : *Physica Status Solidi (a)* 205.4 (2008), p. 720-727, DOI : [10.1002/pssa.200777793](https://doi.org/10.1002/pssa.200777793).

-
- [114] J. J. GIL, « Polarimetric characterization of light and media : Physical quantities involved in polarimetric phenomena », in : *The European Physical Journal - Applied Physics* 40.1 (2007), p. 1-47, DOI : [10.1051/epjap:2007153](https://doi.org/10.1051/epjap:2007153).
- [115] Honghui HE et al., « Mueller Matrix Polarimetry - An Emerging New Tool for Characterizing the Microstructural Feature of Complex Biological Specimen », in : *Journal of Lightwave Technology* 37.11 (2019), p. 2534-2548, DOI : [10.1109/JLT.2018.2868845](https://doi.org/10.1109/JLT.2018.2868845).
- [116] M. K. SWAMI et al., « Polar decomposition of 3 x 3 Mueller matrix : a tool for quantitative tissue polarimetry », in : *Optics Express* 14.20 (oct. 2006), p. 9324-9337, DOI : [10.1364/OE.14.009324](https://doi.org/10.1364/OE.14.009324).
- [117] Yunfei WANG et al., « Study on the validity of 3 x 3 Mueller matrix decomposition », in : *Journal of Biomedical Optics* 20.6 (2015), p. 065003, DOI : [10.1117/1.JBO.20.6.065003](https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.6.065003).
- [118] Jintao CHANG et al., « Division of focal plane polarimeter-based 3x4 Mueller matrix microscope : a potential tool for quick diagnosis of human carcinoma tissues », in : *Journal of Biomedical Optics* 21.5 (2016), p. 056002, DOI : [10.1117/1.JBO.21.5.056002](https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.5.056002).
- [119] Eric COMPAIN, Stéphane POIRIER et Bernard DREVILLON, « General and self-consistent method for the calibration of polarization modulators, polarimeters, and Mueller-matrix ellipsometers », in : *Applied Optics* 38.16 (juin 1999), p. 3490-3502, DOI : [10.1364/AO.38.003490](https://doi.org/10.1364/AO.38.003490).
- [120] C. MACIAS-ROMERO et P. TÖRÖK, « Eigenvalue calibration methods for polarimetry », in : *Journal of the European Optical Society - Rapid publications* 7.0 (2012), DOI : [10.2971/jeos.2012.12004](https://doi.org/10.2971/jeos.2012.12004).
- [121] Omar RODRÍGUEZ-NUÑEZ et al., « Calibration and data extraction in nonoptimized Mueller matrix polarimeters », in : *Applied Optics* 56.15 (mai 2017), p. 4398-4405, DOI : [10.1364/AO.56.004398](https://doi.org/10.1364/AO.56.004398).
- [122] Razvigor OSSIKOVSKI et al., « Polarizer calibration method for Mueller matrix polarimeters », in : *Applied Optics* 59.33 (nov. 2020), p. 10389-10395, DOI : [10.1364/AO.409799](https://doi.org/10.1364/AO.409799).

-
- [123] Ruoyu MENG et al., « Comparison of different calibration methods for Mueller matrix microscopy of cells », in : *Applied Optics* 60.5 (fév. 2021), p. 1380-1386, DOI : [10.1364/AO.411625](https://doi.org/10.1364/AO.411625).
- [124] Sheng SHENG et al., « Eigenvalue calibration method for dual rotating-compensator Mueller matrix polarimetry », in : *Optics Letters* 46.18 (sept. 2021), p. 4618-4621, DOI : [10.1364/OL.437542](https://doi.org/10.1364/OL.437542).
- [125] Binguo CHEN et al., « Analysis and calibration of linear birefringence orientation parameters derived from Mueller matrix for multi-layered tissues », in : *Optics and Lasers in Engineering* 146 (2021), p. 106690, ISSN : 0143-8166, DOI : [10.1016/j.optlaseng.2021.106690](https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2021.106690).
- [126] Xiaobo LI, François GOUDAIL et Shih-Chi CHEN, « Self-calibration for Mueller polarimeters based on DoFP polarization imagers », in : *Optics Letters* 47.6 (mars 2022), p. 1415-1418, DOI : [10.1364/OL.452621](https://doi.org/10.1364/OL.452621).
- [127] K. M. TWIETMEYER et R. A. CHIPMAN, « Optimization of Mueller matrix polarimeters in the presence of error sources », in : *Optics Express* 16.15 (juill. 2008), p. 11589-11603, DOI : [10.1364/OE.16.011589](https://doi.org/10.1364/OE.16.011589).
- [128] François GOUDAIL, « Optimal Mueller matrix estimation in the presence of additive and Poisson noise for any number of illumination and analysis states », in : *Optics Letters* 42.11 (juin 2017), p. 2153-2156, DOI : [10.1364/OL.42.002153](https://doi.org/10.1364/OL.42.002153).
- [129] H. PHILPOTT et al., « Optimizing Mueller polarimetry in noisy systems through overdetermination », in : *Applied Optics* 60.31 (nov. 2021), p. 9594-9606, DOI : [10.1364/AO.435085](https://doi.org/10.1364/AO.435085).
- [130] Zheng HU, Qianhao ZHAO et Hui MA, « Optimal Configurations of Mueller Polarimeter for Gaussian-Poisson Mixed Noise », in : *Applied Sciences* 12.13 (2022), DOI : [10.3390/app12136521](https://doi.org/10.3390/app12136521).
- [131] D. S. SABATKE et al., « Optimization of retardance for a complete Stokes polarimeter », in : *Optics Letters* 25.11 (juin 2000), p. 802-804, DOI : [10.1364/OL.25.000802](https://doi.org/10.1364/OL.25.000802).
- [132] Matthieu DUBREUIL, « Développement d'un polarimètre de Mueller instantané par codage en longueur d'onde. Application à la caractérisation de cristaux liquides ferroélectriques. », thèse de doct., Université de Bretagne Occidentale, 2010.

-
- [133] Matthew H. SMITH, « Optimization of a dual-rotating-retarder Mueller matrix polarimeter », in : *Applied Optics* 41.13 (mai 2002), p. 2488-2493, DOI : [10.1364/AO.41.002488](https://doi.org/10.1364/AO.41.002488).
- [134] J. Scott TYO, « Design of optimal polarimeters : maximization of signal-to-noise ratio and minimization of systematic error », in : *Applied Optics* 41.4 (fév. 2002), p. 619-630, DOI : [10.1364/AO.41.000619](https://doi.org/10.1364/AO.41.000619).
- [135] A. M. GLAZER, J. G. LEWIS et W. KAMINSKY, « An automatic optical imaging system for birefringent media », in : *Proceedings of the Royal Society of London. Series A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 452.1955 (1996), p. 2751-2765, DOI : [10.1098/rspa.1996.0145](https://doi.org/10.1098/rspa.1996.0145).
- [136] Dennis H. GOLDSTEIN, « Mueller matrix dual-rotating retarder polarimeter », in : *Applied Optics* 31.31 (nov. 1992), p. 6676-6683, DOI : [10.1364/AO.31.006676](https://doi.org/10.1364/AO.31.006676).
- [137] Oriol ARTEAGA et al., « Mueller matrix microscope with a dual continuous rotating compensator setup and digital demodulation », in : *Applied Optics* 53.10 (avr. 2014), p. 2236-2245, DOI : [10.1364/AO.53.002236](https://doi.org/10.1364/AO.53.002236).
- [138] Alexander RUDER et al., « Mueller matrix imaging microscope using dual continuously rotating anisotropic mirrors », in : *Optics Express* 29.18 (août 2021), p. 28704-28724, DOI : [10.1364/OE.435972](https://doi.org/10.1364/OE.435972).
- [139] H. CARY et al., « A recording spectropolarimeter », in : *Applied Optics* 3 (3 1964), p. 329-337, DOI : [10.1364/AO.3.000329](https://doi.org/10.1364/AO.3.000329).
- [140] B. RABINOVITCH, W. F. MARCH et R. L. ADAMS, « Noninvasive glucose monitoring of the aqueous humor of the eye : Part I. Measurement of very small optical rotations », in : *Diabetes Care* 5 (1982), p. 254-258, DOI : [10.2337/diacare.5.3.254](https://doi.org/10.2337/diacare.5.3.254).
- [141] A. ARNAUD et al., « Precision synchronous polarimeter with linear response for the measurement of small rotation angles », in : *Applied Optics* 10.39 (2000), p. 2601-2604, DOI : [10.1364/AO.39.002601](https://doi.org/10.1364/AO.39.002601).
- [142] Bochun WU, Hongzhi JIA et Guizhen XIA, « Measuring the optical rotation based on the Fast Fourier Transform », in : *Optik* 123.15 (2012), p. 1404-1406, DOI : [10.1016/j.ijleo.2011.08.020](https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2011.08.020).

-
- [143] E. J. GILLHAM, « A high-precision photoelectric polarimeter », in : *Journal of Scientific Instruments* 34.11 (nov. 1957), p. 435-439, DOI : [10.1088/0950-7671/34/11/302](https://doi.org/10.1088/0950-7671/34/11/302).
- [144] Edward S. YEUNG et al., « Detector based on optical activity for high performance liquid chromatographic detection of trace organics », in : *Analytical Chemistry* 52.9 (1980), p. 1399-1402, DOI : [10.1021/ac50059a006](https://doi.org/10.1021/ac50059a006).
- [145] Masayuki YOKOTA et al., « A compact polarimetric glucose sensor using a high-performance fibre-optic Faraday rotator », in : *Measurement Science and Technology* 15.1 (nov. 2004), p. 143-147, DOI : [10.1088/0957-0233/15/1/020](https://doi.org/10.1088/0957-0233/15/1/020).
- [146] Christian STARK et al., « Real-time compensation method for robust polarimetric determination of glucose in turbid media », in : *Biomedical Optics Express* 10.1 (jan. 2019), p. 308-321, DOI : [10.1364/BOE.10.000308](https://doi.org/10.1364/BOE.10.000308).
- [147] J. BADOZ, M. P. SILVERMAN et J. C. CANIT, « A New Model Of A Photoelastic Modulator With Distributed Birefringence », in : *Polarization Considerations for Optical Systems II*, sous la dir. de Russell A. CHIPMAN, t. 1166, International Society for Optics et Photonics, SPIE, 1990, p. 478-488, DOI : [10.1117/12.962919](https://doi.org/10.1117/12.962919).
- [148] Sanaz ALALI, Adam GRIBBLE et I. Alex VITKIN, « Rapid wide-field Mueller matrix polarimetry imaging based on four photoelastic modulators with no moving parts », in : *Optics Letters* 41.5 (mars 2016), p. 10381041, DOI : [10.1364/OL.41.001038](https://doi.org/10.1364/OL.41.001038).
- [149] Robert D. ALLEN, James BRAULT et Robert D. MOORE, « A NEW METHOD OF POLARIZATION MICROSCOPIC ANALYSIS : I. Scanning with a Birefringence Detection System », in : *Journal of Cell Biology* 18.2 (août 1963), p. 223-235, DOI : [10.1083/jcb.18.2.223](https://doi.org/10.1083/jcb.18.2.223).
- [150] Timothy W. KING et al., « Multispectral polarimetric glucose detection using a single Pockels cell », in : *Optical Engineering* 33.8 (1994), p. 2746-2753, DOI : [10.1117/12.173556](https://doi.org/10.1117/12.173556).
- [151] R. OLDENBOURG et G. MEI, « New polarized light microscope with precision universal compensator », in : *Journal of Microscopy* 180.2 (1995), p. 140-147, DOI : [10.1111/j.1365-2818.1995.tb03669.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1995.tb03669.x).
- [152] Rudolf OLDENBOURG, « A new view on polarization microscopy », in : *Nature* 381.6585 (1996), p. 811-812, DOI : [10.1038/381811a0](https://doi.org/10.1038/381811a0).

-
- [153] Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions », in : *Applied Optics* 42.16 (juin 2003), p. 3009-3017, DOI : [10.1364/AO.42.003009](https://doi.org/10.1364/AO.42.003009).
- [154] Michael SHRIBAK, « Complete polarization state generator with one variable retarder and its application for fast and sensitive measuring of two-dimensional birefringence distribution », in : *Journal of the Optical Society of America A* 28.3 (mars 2011), p. 410-419, DOI : [10.1364/JOSAA.28.000410](https://doi.org/10.1364/JOSAA.28.000410).
- [155] Shalin B. MEHTA, Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Polarized light imaging of birefringence and diattenuation at high resolution and high sensitivity », in : *Journal of Optics* 15.9 (sept. 2013), p. 094007, DOI : [10.1088/2040-8978/15/9/094007](https://doi.org/10.1088/2040-8978/15/9/094007).
- [156] Blandine LAUDE-BOULESTEIX, « Développements instrumentaux en imagerie tomographique et polarimétrique », thèse de doct., Ecole Polytechnique, 2004.
- [157] Blandine LAUDE-BOULESTEIX et al., « Mueller polarimetric microscopy », in : *Three-Dimensional and Multidimensional Microscopy : Image Acquisition and Processing XI*, sous la dir. de Jose-Angel CONCHELLO, Carol J. COGSWELL et Tony WILSON, t. 5324, International Society for Optics et Photonics, SPIE, 2004, p. 112-123, DOI : [10.1117/12.527975](https://doi.org/10.1117/12.527975).
- [158] Blandine LAUDE-BOULESTEIX et al., « Mueller polarimetric imaging system with liquid crystals », in : *Applied Optics* 43.14 (mai 2004), p. 2824-2832, DOI : [10.1364/AO.43.002824](https://doi.org/10.1364/AO.43.002824).
- [159] Lars Martin Sandvik AAS, Pål Gunnar ELLINGSEN et Morten KILDEMO, « Near infra-red Mueller matrix imaging system and application to retardance imaging of strain », in : *Thin Solid Films* 519.9 (2011), 5th International Conference on Spectroscopic Ellipsometry (ICSE-V), p. 2737-2741, DOI : [10.1016/j.tsf.2010.12.093](https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.12.093).
- [160] Mircea MUJAT et al., « Mueller Matrix Microscopy », in : *Biomedical Optics and 3-D Imaging*, Optica Publishing Group, 2010, BSuD60, DOI : [10.1364/BIOMED.2010.BSuD60](https://doi.org/10.1364/BIOMED.2010.BSuD60).
- [161] Alba PEINADO, Angel LIZANA et Juan CAMPOS, « Optimization and tolerance analysis of a polarimeter with ferroelectric liquid crystals », in : *Applied Optics* 52.23 (août 2013), p. 5748-5757, DOI : [10.1364/AO.52.005748](https://doi.org/10.1364/AO.52.005748).

-
- [162] Arvid LINDBERG et al., « Innovative integrated numerical-experimental method for high-performance multispectral Mueller polarimeters based on ferroelectric liquid crystals », in : *Applied Optics* 58.19 (juill. 2019), p. 5187-5199, DOI : [10.1364/AO.58.005187](https://doi.org/10.1364/AO.58.005187).
- [163] Emanuel CHIRONI et Claudio IEMMI, « Mueller matrix polarimeter based on twisted nematic liquid crystal devices », in : *Applied Optics* 59.27 (sept. 2020), p. 8098-8105, DOI : [10.1364/AO.402204](https://doi.org/10.1364/AO.402204).
- [164] R. M. A. AZZAM, « Arrangement of four photodetectors for measuring the state of polarization of light », in : *Optics Letters* 10.7 (juill. 1985), p. 309-311, DOI : [10.1364/OL.10.000309](https://doi.org/10.1364/OL.10.000309).
- [165] G. E. JELLISON, « Four-channel polarimeter for time-resolved ellipsometry », in : *Optics Letters* 12.10 (oct. 1987), p. 766-768, DOI : [10.1364/OL.12.000766](https://doi.org/10.1364/OL.12.000766).
- [166] Eric COMPAIN et Bernard DREVILLON, « Broadband division-of-amplitude polarimeter based on uncoated prisms », in : *Applied Optics* 37.25 (sept. 1998), p. 5938-5944, DOI : [10.1364/AO.37.005938](https://doi.org/10.1364/AO.37.005938).
- [167] Aymeric LE GRATIET et al., « Zebrafish structural development in Mueller-matrix scanning microscopy », in : *Scientific Reports* 9.1 (2019), p. 1-10, DOI : [10.1038/s41598-019-56610-9](https://doi.org/10.1038/s41598-019-56610-9).
- [168] J. Larry PEZZANITI et David B. CHENAULT, « A division of aperture MWIR imaging polarimeter », in : *Polarization Science and Remote Sensing II*, sous la dir. de Joseph A. SHAW et J. Scott TYO, t. 5888, International Society for Optics et Photonics, SPIE, 2005, p. 58880V, DOI : [10.1117/12.623543](https://doi.org/10.1117/12.623543).
- [169] Stéphane ROUSSEL, Matthieu BOFFETY et François GOUDAIL, « On the optimal ways to perform full Stokes measurements with a linear division-of-focal-plane polarimetric imager and a retarder », in : *Optics Letters* 44.11 (juin 2019), p. 2927-2930, DOI : [10.1364/OL.44.002927](https://doi.org/10.1364/OL.44.002927).
- [170] Tongyu HUANG et al., « Fast Mueller matrix microscope based on dual DoFP polarimeters », in : *Optics Letters* 46.7 (avr. 2021), p. 1676-1679, DOI : [10.1364/OL.421394](https://doi.org/10.1364/OL.421394).
- [171] Jintao CHANG et al., « Single-shot spatially modulated Stokes polarimeter based on a GRIN lens », in : *Optics Letters* 39.9 (mai 2014), p. 2656-2659, DOI : [10.1364/OL.39.002656](https://doi.org/10.1364/OL.39.002656).

-
- [172] Chao HE et al., « Full Poincaré polarimetry enabled through physical inference », in : *Optica* 9.10 (oct. 2022), p. 1109-1114, DOI : [10.1364/OPTICA.452646](https://doi.org/10.1364/OPTICA.452646).
- [173] S. SPIELMAN et al., « Test for nonreciprocal circular birefringence in YBa sub 2 Cu sub 3 O sub 7 thin films as evidence for broken time-reversal symmetry », in : *Physical Review Letters* 65.1 (juill. 1990), DOI : [10.1103/PhysRevLett.65.123](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.65.123).
- [174] Amy M. WINKLER, Garret T. BONNEMA et Jennifer K. BARTON, « Optical polarimetry for noninvasive glucose sensing enabled by Sagnac interferometry », in : *Applied Optics* 50.17 (juin 2011), p. 2719-2731, DOI : [10.1364/AO.50.002719](https://doi.org/10.1364/AO.50.002719).
- [175] Tatsuya KUMAGAI et al., « Glucose sensor with a Sagnac interference optical system », in : *Applied Optics* 53.4 (fév. 2014), p. 720-726, DOI : [10.1364/AO.53.000720](https://doi.org/10.1364/AO.53.000720).
- [176] A. C. H. ROWE et al., « Polarizers, optical bridges, and Sagnac interferometers for nanoradian polarization rotation measurements », in : *Review of Scientific Instruments* 88.4 (2017), p. 043903, DOI : [10.1063/1.4980038](https://doi.org/10.1063/1.4980038).
- [177] Hong-Jueng KING et al., « Concentration measurements in chiral media using optical heterodyne polarimeter », in : *Optics Communications* 110.3 (1994), p. 259-262, DOI : [10.1016/0030-4018\(94\)90422-7](https://doi.org/10.1016/0030-4018(94)90422-7).
- [178] Takahisa MITSUI et Katsumi SAKURAI, « Precise measurement of the refractive index and optical rotatory power of a suspension by a delayed optical heterodyne technique », in : *Applied Optics* 35.13 (mai 1996), p. 2253-2258, DOI : [10.1364/AO.35.002253](https://doi.org/10.1364/AO.35.002253).
- [179] Chien CHOU et al., « Amplitude Sensitive Optical Heterodyne and Phase Lock-in Technique on Small Optical Rotation Angle Detection of Chiral Liquid », in : *Japanese Journal of Applied Physics* 36.1 (jan. 1997), p. 356-359, DOI : [10.1143/jjap.36.356](https://doi.org/10.1143/jjap.36.356).
- [181] Jing-Fung LIN et al., « A new electro-optic modulated circular heterodyne interferometer for measuring the rotation angle in a chiral medium », in : *Optics and Lasers in Engineering* 47.1 (2009), p. 39-44, ISSN : 0143-8166, DOI : [10.1016/j.optlaseng.2008.08.004](https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2008.08.004).
- [182] Y. Le GRAND et A. Le FLOCH, « Measurement of small optical activities by use of helicoidal waves », in : *Optics Letters* 17.5 (mars 1992), p. 360-362, DOI : [10.1364/OL.17.000360](https://doi.org/10.1364/OL.17.000360).

-
- [183] Mathieu DURAND, « Maintien du couplage optique entre une ECDL et une cavité de haute finesse : Application à la mesure ultrasensible de biréfringence induite par effet Kerr », thèse de doct., Université Claude Bernard - Lyon I, 2009.
- [184] Mathieu DURAND et Jérôme MORVILLE, « Shot-noise-limited measurement of sub-parts-per-trillion birefringence phase shift in a high-finesse cavity », in : *Physical Review A* 82 (3 sept. 2010), p. 031803, DOI : [10.1103/PhysRevA.82.031803](https://doi.org/10.1103/PhysRevA.82.031803).
- [185] F. Della VALLE et al., « Measurements of vacuum magnetic birefringence using permanent dipole magnets : the PVLAS experiment », in : *New Journal of Physics* 15.5 (mai 2013), p. 053026, DOI : [10.1088/1367-2630/15/5/053026](https://doi.org/10.1088/1367-2630/15/5/053026).
- [186] Fabrizio PREDA et al., « Time-domain measurement of optical activity by an ultrastable common-path interferometer », in : *Optics Letters* 43.8 (avr. 2018), p. 1882-1885, DOI : [10.1364/OL.43.001882](https://doi.org/10.1364/OL.43.001882).
- [187] Kazuhiko OKA et Takayuki KATO, « Spectroscopic polarimetry with a channeled spectrum », in : *Optics Letters* 24.21 (nov. 1999), p. 1475-1477, DOI : [10.1364/OL.24.001475](https://doi.org/10.1364/OL.24.001475).
- [188] Frank J. IANNARILLI JR. et al., « Polarimetric-spectral intensity modulation (P-SIM) : enabling simultaneous hyperspectral and polarimetric imaging », in : *Infrared Technology and Applications XXV*, sous la dir. de Bjorn F. ANDRESEN et Marija STROJNIK, t. 3698, International Society for Optics et Photonics, SPIE, 1999, p. 474-481, DOI : [10.1117/12.354549](https://doi.org/10.1117/12.354549).
- [189] Stephen H. JONES, Frank J. IANNARILLI et Paul L. KEBABIAN, « Realization of quantitative-grade fieldable snapshot imaging spectropolarimeter », in : *Optics Express* 12.26 (déc. 2004), p. 6559-6573, DOI : [10.1364/OPEX.12.006559](https://doi.org/10.1364/OPEX.12.006559).
- [190] Nathan HAGEN et Eustace L. DERENIAK, « Snapshot Mueller matrix spectropolarimetry », in : *Polarization Science and Remote Sensing III*, sous la dir. de Joseph A. SHAW et J. Scott TYO, t. 6682, International Society for Optics et Photonics, SPIE, 2007, p. 668207, DOI : [10.1117/12.736575](https://doi.org/10.1117/12.736575).
- [191] Matthieu DUBREUIL et al., « Snapshot Mueller matrix polarimeter by wavelength polarization coding », in : *Optics Express* 15.21 (oct. 2007), p. 13660-13668, DOI : [10.1364/OE.15.013660](https://doi.org/10.1364/OE.15.013660).

-
- [192] Chengshuai LI et Yizheng ZHU, « Quantitative polarized light microscopy using spectral multiplexing interferometry », in : *Optics Letters* 40.11 (juin 2015), p. 2622-2625, DOI : [10.1364/OL.40.002622](https://doi.org/10.1364/OL.40.002622).
- [193] Aymeric LE GRATIET et al., « Scanning Mueller polarimetric microscopy », in : *Optics Letters* 41.18 (sept. 2016), p. 4336-4339, DOI : [10.1364/OL.41.004336](https://doi.org/10.1364/OL.41.004336).
- [194] H.F. TALBOT, « Experiments on light », in : *London and Edinburgh Philosophical Magazine and Journal of Science*, 3^e sér. 5.29 (1834), p. 321-334, DOI : [10.1080/14786443408648474](https://doi.org/10.1080/14786443408648474).
- [195] Mickey E. GUNTER, « The Polarized Light Microscope : Should We Teach the use of a 19th Century Instrument in the 21st Century ? », in : *Journal of Geoscience Education* 52.1 (2004), p. 34-44, DOI : [10.5408/1089-9995-52.1.34](https://doi.org/10.5408/1089-9995-52.1.34).
- [196] Jürgen REINHARDT, « Optical Mineralogy in a Modern Earth Sciences Curriculum », in : *Journal of Geoscience Education* 52.1 (2004), p. 60-67, DOI : [10.5408/1089-9995-52.1.60](https://doi.org/10.5408/1089-9995-52.1.60).
- [197] Z. WEISSMAN et D. GOLDBERG, « Self-referenced, microdegree, optical rotation polarimeter for biomedical applications : an analysis », in : *Journal of Biomedical Optics* 21.7 (2015), p. 071-104, DOI : [10.1117/1.JBO.21.7.071104](https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.7.071104).
- [198] Joseph FOURIER, « Développement d'une fonction arbitraire en séries trigonométriques », in : *Théorie analytique de la chaleur*, Firmin Didot, Père et Fils, 1822, chap. III.
- [199] Magdalena EDER, Ursula LÜTZ-MEINDL et Ingrid M. WEISS, « Non-invasive LC-PolScope imaging of biominerals and cell wall anisotropy changes », in : *Protoplasma* 246.1 (2010), p. 49-64, DOI : [10.1007/s00709-010-0124-x](https://doi.org/10.1007/s00709-010-0124-x).
- [200] Stephen J. DECAMP et al., « Orientational order of motile defects in active nematics », in : *Nature materials* 14.11 (2015), p. 1110-1115, DOI : [10.1038/nmat4387](https://doi.org/10.1038/nmat4387).
- [201] Adib KEIKHOSRAVI et al., « Quantification of collagen organization in histopathology samples using liquid crystal based polarization microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 8.9 (sept. 2017), p. 4243-4256, DOI : [10.1364/B0E.8.004243](https://doi.org/10.1364/B0E.8.004243).
- [202] Yoshio NISHIYAMA, Shoichi ISHIKAWA et Hirohisa NAGATANI, « Phase-stable optical activity measurement by common-path spectral interferometry », in : *Optics Letters* 45.20 (oct. 2020), p. 5868-5871, DOI : [10.1364/OL.405066](https://doi.org/10.1364/OL.405066).

-
- [203] Michael SHRIBAK, « Polychromatic polarization microscope : bringing colors to a colorless world », in : *Scientific reports* 5.1 (2015), p. 1-10, DOI : [10.1038/srep17340](https://doi.org/10.1038/srep17340).
- [204] Bernardo CESARE, Nicola CAMPOMENOSI et Michael SHRIBAK, « Supplemental Material : Polychromatic polarization : Boosting the capabilities of the good old petrographic microscope », in : (oct. 2021), DOI : [10.1130/GEOL.S.16725451.v1](https://doi.org/10.1130/GEOL.S.16725451.v1).
- [205] Bernardo CESARE, Nicola CAMPOMENOSI et Michael SHRIBAK, « Polychromatic polarization : Boosting the capabilities of the good old petrographic microscope », in : *Geology* 50.2 (oct. 2021), p. 137-141, DOI : [10.1130/G49303.1](https://doi.org/10.1130/G49303.1).
- [207] Aiste VITKUNAITE et al., « Intranuclear birefringent inclusions in paraffin sections by polychromatic polarization microscopy », in : *Scientific reports* 11.1 (2021), p. 1-7, DOI : [10.1038/s41598-021-85667-8](https://doi.org/10.1038/s41598-021-85667-8).

II Développement sur banc de dispositifs de mesures d'anisotropie optique sur fond noir par codage spectrale de la polarisation

- [3] Louis PASTEUR, « Recherches sur les relations qui peuvent exister entre la forme cristalline, la composition chimique et le sens de la polarisation rotatoire », in : *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e sér. 24 (1848), p. 442-459.
- [16] Nirmalya GHOSH et Alex I. VITKIN, « Tissue polarimetry : concepts, challenges, applications, and outlook », in : *Journal of Biomedical Optics* 16.11 (2011), p. 110801, DOI : [10.1117/1.3652896](https://doi.org/10.1117/1.3652896).
- [21] S. INOUÉ, *Collected Works of Shinya Inoué : Microscopes, Living Cells, and Dynamic Molecules*, World Scientific, 2008, DOI : [10.1142/6315](https://doi.org/10.1142/6315).
- [22] Hien Thi-Thu PHAM et al., « Optical parameters of human blood plasma, collagen, and calfskin based on the Stokes-Mueller technique », in : *Applied Optics* 57.16 (juin 2018), p. 4353-4359, DOI : [10.1364/AO.57.004353](https://doi.org/10.1364/AO.57.004353).
- [25] Matthieu DUBREUIL et al., « Polarization-resolved second harmonic microscopy of skeletal muscle in sepsis », in : *Biomedical Optics Express* 9.12 (déc. 2018), p. 6350-6358, DOI : [10.1364/BOE.9.006350](https://doi.org/10.1364/BOE.9.006350).
- [26] Matthieu DUBREUIL et al., « Linear diattenuation imaging of biological tissues with near infrared Mueller scanning microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 12.1 (jan. 2021), p. 41-54, DOI : [10.1364/BOE.408354](https://doi.org/10.1364/BOE.408354).
- [27] George ALZEEB et al., « Gastric cancer multicellular spheroid analysis by two-photon microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 13.5 (mai 2022), p. 3120-3130, DOI : [10.1364/BOE.450518](https://doi.org/10.1364/BOE.450518).
- [30] A. LE GRATIET, « Développement d'un polarimètre de Mueller à codage spectral utilisant une Swept-source : application à la microscopie à balayage laser », thèse de doct., Université de Bretagne Occidentale, 2016.
- [48] Sylvain RIVET et al., « Fast spectrally encoded Mueller optical scanning microscopy », in : *Scientific Reports* 9.3972 (2019), DOI : [10.1038/s41598-019-40467-z](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40467-z).

-
- [139] H. CARY et al., « A recording spectropolarimeter », in : *Applied Optics* 3 (3 1964), p. 329-337, DOI : [10.1364/AO.3.000329](https://doi.org/10.1364/AO.3.000329).
- [140] B. RABINOVITCH, W. F. MARCH et R. L. ADAMS, « Noninvasive glucose monitoring of the aqueous humor of the eye : Part I. Measurement of very small optical rotations », in : *Diabetes Care* 5 (1982), p. 254-258, DOI : [10.2337/diacare.5.3.254](https://doi.org/10.2337/diacare.5.3.254).
- [141] A. ARNAUD et al., « Precision synchronous polarimeter with linear response for the measurement of small rotation angles », in : *Applied Optics* 10.39 (2000), p. 2601-2604, DOI : [10.1364/AO.39.002601](https://doi.org/10.1364/AO.39.002601).
- [142] Bochun WU, Hongzhi JIA et Guizhen XIA, « Measuring the optical rotation based on the Fast Fourier Transform », in : *Optik* 123.15 (2012), p. 1404-1406, DOI : [10.1016/j.ijleo.2011.08.020](https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2011.08.020).
- [143] E. J. GILLHAM, « A high-precision photoelectric polarimeter », in : *Journal of Scientific Instruments* 34.11 (nov. 1957), p. 435-439, DOI : [10.1088/0950-7671/34/11/302](https://doi.org/10.1088/0950-7671/34/11/302).
- [144] Edward S. YEUNG et al., « Detector based on optical activity for high performance liquid chromatographic detection of trace organics », in : *Analytical Chemistry* 52.9 (1980), p. 1399-1402, DOI : [10.1021/ac50059a006](https://doi.org/10.1021/ac50059a006).
- [145] Masayuki YOKOTA et al., « A compact polarimetric glucose sensor using a high-performance fibre-optic Faraday rotator », in : *Measurement Science and Technology* 15.1 (nov. 2004), p. 143-147, DOI : [10.1088/0957-0233/15/1/020](https://doi.org/10.1088/0957-0233/15/1/020).
- [146] Christian STARK et al., « Real-time compensation method for robust polarimetric determination of glucose in turbid media », in : *Biomedical Optics Express* 10.1 (jan. 2019), p. 308-321, DOI : [10.1364/BOE.10.000308](https://doi.org/10.1364/BOE.10.000308).
- [150] Timothy W. KING et al., « Multispectral polarimetric glucose detection using a single Pockels cell », in : *Optical Engineering* 33.8 (1994), p. 2746-2753, DOI : [10.1117/12.173556](https://doi.org/10.1117/12.173556).
- [151] R. OLDENBOURG et G. MEI, « New polarized light microscope with precision universal compensator », in : *Journal of Microscopy* 180.2 (1995), p. 140-147, DOI : [10.1111/j.1365-2818.1995.tb03669.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1995.tb03669.x).
- [152] Rudolf OLDENBOURG, « A new view on polarization microscopy », in : *Nature* 381.6585 (1996), p. 811-812, DOI : [10.1038/381811a0](https://doi.org/10.1038/381811a0).

-
- [153] Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions », in : *Applied Optics* 42.16 (juin 2003), p. 3009-3017, DOI : [10.1364/AO.42.003009](https://doi.org/10.1364/AO.42.003009).
- [154] Michael SHRIBAK, « Complete polarization state generator with one variable retarder and its application for fast and sensitive measuring of two-dimensional birefringence distribution », in : *Journal of the Optical Society of America A* 28.3 (mars 2011), p. 410-419, DOI : [10.1364/JOSAA.28.000410](https://doi.org/10.1364/JOSAA.28.000410).
- [155] Shalin B. MEHTA, Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Polarized light imaging of birefringence and diattenuation at high resolution and high sensitivity », in : *Journal of Optics* 15.9 (sept. 2013), p. 094007, DOI : [10.1088/2040-8978/15/9/094007](https://doi.org/10.1088/2040-8978/15/9/094007).
- [174] Amy M. WINKLER, Garret T. BONNEMA et Jennifer K. BARTON, « Optical polarimetry for noninvasive glucose sensing enabled by Sagnac interferometry », in : *Applied Optics* 50.17 (juin 2011), p. 2719-2731, DOI : [10.1364/AO.50.002719](https://doi.org/10.1364/AO.50.002719).
- [183] Mathieu DURAND, « Maintien du couplage optique entre une ECDL et une cavité de haute finesse : Application à la mesure ultrasensible de biréfringence induite par effet Kerr », thèse de doct., Université Claude Bernard - Lyon I, 2009.
- [184] Mathieu DURAND et Jérôme MORVILLE, « Shot-noise-limited measurement of sub-parts-per-trillion birefringence phase shift in a high-finesse cavity », in : *Physical Review A* 82 (3 sept. 2010), p. 031803, DOI : [10.1103/PhysRevA.82.031803](https://doi.org/10.1103/PhysRevA.82.031803).
- [197] Z. WEISSMAN et D. GOLDBERG, « Self-referenced, microdegree, optical rotation polarimeter for biomedical applications : an analysis », in : *Journal of Biomedical Optics* 21.7 (2015), p. 071-104, DOI : [10.1117/1.JBO.21.7.071104](https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.7.071104).
- [198] Joseph FOURIER, « Développement d'une fonction arbitraire en séries trigonométriques », in : *Théorie analytique de la chaleur*, Firmin Didot, Père et Fils, 1822, chap. III.
- [208] W. DREXLER et J. G. FUJIMOTO, *Optical coherence tomography : technology and applications*, Springer, 2015.
- [209] S. H. YUN et al., « High-speed optical frequency-domain imaging », in : *Optics Express* 22.11 (2003), p. 2953-2963, DOI : [10.1364/oe.11.002953](https://doi.org/10.1364/oe.11.002953).
- [210] B. JOHNSON et al., « SNR of swept SLEDs and swept lasers for OCT », in : *Optics Express* 10.24 (2016), p. 11174-11186, DOI : [10.1364/OE.24.011174](https://doi.org/10.1364/OE.24.011174).

-
- [211] R.J. MCINTYRE, « Multiplication noise in uniform avalanche diodes », in : *IEEE Transactions on Electron Devices* 13.1 (1966), p. 164-168, DOI : [10.1109/T-ED.1966.15651](https://doi.org/10.1109/T-ED.1966.15651).
- [212] Simon-Frédéric DÉPAGE, *La Saccharimétrie Ou Biréfringence circulaire appliquée dans les milieux optiquement actifs*, Université Jean Monnet de Saint-Etienne, jan. 2010, DOI : [10.13140/2.1.4947.2001](https://doi.org/10.13140/2.1.4947.2001).
- [213] Maryamsadat SHOKREKHODAEI et Stella QUINONES, « Review of Non-Invasive Glucose Sensing Techniques : Optical, Electrical and Breath Acetone », in : *Sensors* 20.1251 (5 2020), DOI : [10.3390/s20051251](https://doi.org/10.3390/s20051251).
- [214] Trisha SHANG et al., « Products for Monitoring Glucose Levels in the Human Body With Noninvasive Optical, Noninvasive Fluid Sampling, or Minimally Invasive Technologies », in : *Journal of Diabetes Science and Technology* 16.1 (2022), p. 168-214, DOI : [10.1177/19322968211007212](https://doi.org/10.1177/19322968211007212).
- [215] John L. SMITH, *The Pursuit of Noninvasive Glucose, "Hunting the Deceitful Turkey"*, 8th, Self-published, 2022, URL : <https://nivglucose.com/The%20Pursuit%20of%20Noninvasive%20Glucose%208th%20Edition.pdf>.
- [216] X. MA et et al. F. DONG, « Pixelated-polarization-camera-based polarimetry system for wide real-time optical rotation measurement », in : *Sensors and Actuators B : Chemical* 283 (mars 2019), p. 857-864, DOI : [10.1016/j.snb.2018.12.098](https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.12.098).
- [217] A. ZANARDI DE FREITAS, M. M. AMARAL et M. P. RAELE, « Optical Coherence Tomography : Development and Applications », in : *Laser Pulse Phenomena and Applications*, IntechOpen, 2010, chap. 20, DOI : [10.5772/881](https://doi.org/10.5772/881).
- [218] Dongmei HUANG et al., « Fourier Domain Mode Locked Laser and Its Applications », in : *Sensors* 22.3145 (9 avr. 2022), DOI : [10.3390/s22093145](https://doi.org/10.3390/s22093145).
- [219] C. FABRY et A. PEROT, « Theorie et applications d'une nouvelle methode de spectroscopie interferentielle », in : *Annales de Chimie et de Physique*, 7^e sér. 16 (1899), p. 115-144.
- [220] R. HUBER, M. WOJTKOWSKI et J. G. FUJIMOTO, « Fourier Domain Mode Locking (FDML) : A new laser operating regime and applications for optical coherence tomography », in : *Optics Express* 14.8 (avr. 2006), p. 3225-3237, DOI : [10.1364/OE.14.003225](https://doi.org/10.1364/OE.14.003225).

-
- [221] *Datasheet Axsun OCT : High Speed Swept Laser Engines at 1060, 1310, & 1220 nm*, Axsun Tech. Inc, 2022, URL : https://downloads.axsun.com/public/datasheets/Axsun_OCT_laser_datasheet.pdf.
- [222] J. XI et al., « Generic real-time uniform K-space sampling method for high-speed swept-Source optical coherence tomography », in : *Optics Express* 18.9 (avr. 2010), p. 9511-9517, DOI : [10.1364/OE.18.009511](https://doi.org/10.1364/OE.18.009511).
- [223] H.-S. SHI, G. ZHANG et H.-Y. SHEN, « Measurement of Principal Refractive Indices and the Thermal Refractive Index Coefficients of Yttrium Vanadate », in : *Journal of Synthetic Crystals* (2001), p. 85-88.
- [224] G. GHOSH, « Dispersion-equation coefficients for the refractive index and birefringence of calcite and quartz crystals », in : *Optics Communications* 163.1 (1999), p. 95-102, DOI : [10.1016/S0030-4018\(99\)00091-7](https://doi.org/10.1016/S0030-4018(99)00091-7).
- [225] M. J. DODGE, « Refractive properties of magnesium fluoride », in : *Applied Optics* 23.12 (juin 1984), p. 1980-1985, DOI : [10.1364/AO.23.001980](https://doi.org/10.1364/AO.23.001980).
- [226] F. J. HARRIS, « On the use of windows for harmonic analysis with the discrete fourier transform », in : *Proceedings of IEEE* 66 (1 jan. 1978), p. 51-83, DOI : [10.1109/PROC.1978.10837](https://doi.org/10.1109/PROC.1978.10837).
- [227] Y. TAKUBO et al., « Precise measurement of the extinction ratio of a polarization analyser », in : *Measurement Science and Technology* 9.1 (jan. 1998), p. 20-23, DOI : [10.1088/0957-0233/9/1/004](https://doi.org/10.1088/0957-0233/9/1/004).
- [228] David W. ALLAN, « Statistics of Atomic Frequency Standards », in : *Proceedings of IEEE* 54.2 (fév. 1966), p. 221-230, DOI : [10.1109/PROC.1966.4634](https://doi.org/10.1109/PROC.1966.4634).
- [229] David W. ALLAN, « Should the Classical Variance Be Used As a Basic Measure in Standards Metrology ? », in : *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement* IM-36.2 (juin 1987), p. 646-654, DOI : [10.1109/TIM.1987.6312761](https://doi.org/10.1109/TIM.1987.6312761).
- [230] *Comprendre les lames à retard*, Edmund Optics, URL : <https://www.edmundoptics.fr/knowledge-center/application-notes/optics/understanding-waveplates/>.
- [231] G. BRUHAT et P. GRIVET, « Le pouvoir rotatoire du quartz pour des rayons perpendiculaires à l'axe optique et sa dispersion dans l'ultra-violet », in : *Journal de Physique et le Radium* 6.1 (1935), p. 12-26, DOI : [10.1051/jphysrad:019350060101200](https://doi.org/10.1051/jphysrad:019350060101200).

-
- [232] Daniel VALA et al., « Effects of optical activity to Mueller matrix ellipsometry of composed waveplates », in : *Optics Express* 29.7 (mars 2021), p. 10434-10450, DOI : [10.1364/OE.418186](https://doi.org/10.1364/OE.418186).
- [251] J. BADOZ, « Mesures photoélectriques de faibles biréfringences et de très petits pouvoirs rotatoires », in : *Journal de Physique Appliquée* 17.S11 (1956), p. 143-149, DOI : [10.1051/jphysap:019560017011014300](https://doi.org/10.1051/jphysap:019560017011014300).

III Implémentation des dispositifs de mesure des anisotropies optiques au sein de microscopes

- [16] Nirmalya GHOSH et Alex I. VITKIN, « Tissue polarimetry : concepts, challenges, applications, and outlook », in : *Journal of Biomedical Optics* 16.11 (2011), p. 110801, DOI : [10.1117/1.3652896](https://doi.org/10.1117/1.3652896).
- [21] S. INOUÉ, *Collected Works of Shinya Inoué : Microscopes, Living Cells, and Dynamic Molecules*, World Scientific, 2008, DOI : [10.1142/6315](https://doi.org/10.1142/6315).
- [22] Hien Thi-Thu PHAM et al., « Optical parameters of human blood plasma, collagen, and calfskin based on the Stokes-Mueller technique », in : *Applied Optics* 57.16 (juin 2018), p. 4353-4359, DOI : [10.1364/AO.57.004353](https://doi.org/10.1364/AO.57.004353).
- [23] Wenjun WANG et al., « Quantitative assessment of cell contractility using polarized light microscopy », in : *Journal of Biophotonics* 11.11 (2018), e201800008, DOI : [10.1002/jbio.201800008](https://doi.org/10.1002/jbio.201800008).
- [25] Matthieu DUBREUIL et al., « Polarization-resolved second harmonic microscopy of skeletal muscle in sepsis », in : *Biomedical Optics Express* 9.12 (déc. 2018), p. 6350-6358, DOI : [10.1364/BOE.9.006350](https://doi.org/10.1364/BOE.9.006350).
- [26] Matthieu DUBREUIL et al., « Linear diattenuation imaging of biological tissues with near infrared Mueller scanning microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 12.1 (jan. 2021), p. 41-54, DOI : [10.1364/BOE.408354](https://doi.org/10.1364/BOE.408354).
- [27] George ALZEEB et al., « Gastric cancer multicellular spheroid analysis by two-photon microscopy », in : *Biomedical Optics Express* 13.5 (mai 2022), p. 3120-3130, DOI : [10.1364/BOE.450518](https://doi.org/10.1364/BOE.450518).
- [28] Sophie BRASSELET, « Polarization-resolved nonlinear microscopy : application to structural molecular and biological imaging », in : *Advances in Optics and Photonics* 3.3 (sept. 2011), p. 205, DOI : [10.1364/AOP.3.000205](https://doi.org/10.1364/AOP.3.000205).
- [30] A. LE GRATIET, « Développement d'un polarimètre de Mueller à codage spectral utilisant une Swept-source : application à la microscopie à balayage laser », thèse de doct., Université de Bretagne Occidentale, 2016.
- [48] Sylvain RIVET et al., « Fast spectrally encoded Mueller optical scanning microscopy », in : *Scientific Reports* 9.3972 (2019), DOI : [10.1038/s41598-019-40467-z](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40467-z).

-
- [52] Robert STYLE et al., « Traction force microscopy in physics and biology », in : *Soft matter* 10 (avr. 2014), DOI : [10.1039/c4sm00264d](https://doi.org/10.1039/c4sm00264d).
- [151] R. OLDENBOURG et G. MEI, « New polarized light microscope with precision universal compensator », in : *Journal of Microscopy* 180.2 (1995), p. 140-147, DOI : [10.1111/j.1365-2818.1995.tb03669.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1995.tb03669.x).
- [152] Rudolf OLDENBOURG, « A new view on polarization microscopy », in : *Nature* 381.6585 (1996), p. 811-812, DOI : [10.1038/381811a0](https://doi.org/10.1038/381811a0).
- [153] Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions », in : *Applied Optics* 42.16 (juin 2003), p. 3009-3017, DOI : [10.1364/AO.42.003009](https://doi.org/10.1364/AO.42.003009).
- [154] Michael SHRIBAK, « Complete polarization state generator with one variable retarder and its application for fast and sensitive measuring of two-dimensional birefringence distribution », in : *Journal of the Optical Society of America A* 28.3 (mars 2011), p. 410-419, DOI : [10.1364/JOSAA.28.000410](https://doi.org/10.1364/JOSAA.28.000410).
- [155] Shalin B. MEHTA, Michael SHRIBAK et Rudolf OLDENBOURG, « Polarized light imaging of birefringence and diattenuation at high resolution and high sensitivity », in : *Journal of Optics* 15.9 (sept. 2013), p. 094007, DOI : [10.1088/2040-8978/15/9/094007](https://doi.org/10.1088/2040-8978/15/9/094007).
- [203] Michael SHRIBAK, « Polychromatic polarization microscope : bringing colors to a colorless world », in : *Scientific reports* 5.1 (2015), p. 1-10, DOI : [10.1038/srep17340](https://doi.org/10.1038/srep17340).
- [233] Stephen M. PIZER et John B. ZIMMERMAN, « Color display in ultrasonography », in : *Ultrasound in Medicine and Biology* 9 (4 juill. 1983), p. 331-345, DOI : [10.1016/0301-5629\(83\)90086-8](https://doi.org/10.1016/0301-5629(83)90086-8).
- [234] Peter KOVESI, « Good Colour Maps : How to Design Them », in : (2015), DOI : [10.48550/ARXIV.1509.03700](https://doi.org/10.48550/ARXIV.1509.03700).
- [235] Fabio CRAMERI, Grace E. SHEPHARD et Philip J. HERON, « The misuse of colour in science communication », in : *Nature Communications* 11.5444 (oct. 2020), DOI : [10.1038/s41467-020-19160-7](https://doi.org/10.1038/s41467-020-19160-7).
- [236] Alvy Ray SMITH, « Color Gamut Transform Pairs », in : *SIGGRAPH 78 Conference*, t. 12, 3, Association for Computing Machinery, août 1978, p. 12-19, DOI : [10.1145/800248.807361](https://doi.org/10.1145/800248.807361).

-
- [237] *CIE Colorimetry - Part 4 : 1976 L*a*b* Colour Space, 2nd Edition*, Joint ISO/CIE Standard, version ISO 11664-4 :2008(E)/CIE S 014-4/E :2007, Commission internationale de l'éclairage, 2008.
- [238] L.A. OLZAK et J.P. THOMAS, « Seeing spatial patterns », in : *Handbook of perception and human performance*, sous la dir. de Kenneth R. BO, Lloyd KAUFMAN et James P. THOMAS, Wiley, 1986.
- [239] Floris L. Van NES et Maarten A. BOUMAN, « Spatial Modulation Transfer in the Human Eye », in : *Journal of the Optical Society of America* 57.3 (mars 1967), p. 401-406, DOI : [10.1364/JOSA.57.000401](https://doi.org/10.1364/JOSA.57.000401).
- [240] Andrew B. WATSON, H. B. BARLOW et John G. ROBSON, « What does the eye see best ? », in : *Nature* 302 (mars 1983), p. 419-422, DOI : [10.1038/302419a0](https://doi.org/10.1038/302419a0).
- [241] Maureen STONE, « In Color Perception, Size Matters », in : *IEEE Computer Graphics and Applications* 32.2 (2012), p. 8-13, DOI : [10.1109/MCG.2012.37](https://doi.org/10.1109/MCG.2012.37).
- [242] Maureen STONE, Danielle Albers SZAFIR et Vidya SETLUR, « An engineering model for color difference as a function of size », in : *22nd IS&T Color and Imaging Conference*, Society for Imaging Science et Technology, Boston, nov. 2014, p. 253-258, URL : https://research.tableau.com/sites/default/files/2014CIC_48_Stone_v3.pdf.
- [243] Stéfan van der WALT et Nathaniel SMITH, *MPL Colour Maps*, 2020, URL : <https://bids.github.io/colormap>.
- [244] Philippe BELLAÏCHE, *Les secrets de l'image vidéo*, Eyrolles, 1995.
- [245] J. MILAN et K. J. W. TAYLOR, « The application of the temperature-Color scale to ultrasonic imaging », in : *Journal of Clinical Ultrasound* 3.3 (1975), p. 171-173, DOI : [10.1002/jcu.1870030304](https://doi.org/10.1002/jcu.1870030304).
- [246] J. S. TYO, E. N. PUGH et N. ENGHETA, « Colorimetric representations for use with polarization-difference imaging of objects in scattering media », in : *Journal of the Optical Society of America A* 15.2 (fév. 1998), p. 367-374, DOI : [10.1364/JOSAA.15.000367](https://doi.org/10.1364/JOSAA.15.000367).
- [247] Gary D. BERNARD et Rüdiger WEHNER, « Functional similarities between polarization vision and color vision », in : *Vision Research* 17.9 (1977), p. 1019-1028, DOI : [10.1016/0042-6989\(77\)90005-0](https://doi.org/10.1016/0042-6989(77)90005-0).

-
- [248] Jamie R. NUÑEZ, Christopher R. ANDERTON et Ryan S. RENSLOW, « Optimizing colormaps with consideration for color vision deficiency to enable accurate interpretation of scientific data », in : *PLOS ONE* 13.7 (août 2018), p. 1-14, DOI : [10.1371/journal.pone.0199239](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199239).
- [249] Brian W. POGUE, « Enhancing optical contrast of images for cancer detection and therapy guidance », in : *SPIE Photonics Europe, Hot Topics II*, Society of Photographic Instrumentation Engineers, Strasbourg, avr. 2022.
- [250] Jonathan T. ELLIOTT et al., « Review of fluorescence guided surgery visualization and overlay techniques », in : *Biomedical Optics Express* 6.10 (oct. 2015), p. 3765-3782, DOI : [10.1364/BOE.6.003765](https://doi.org/10.1364/BOE.6.003765).
- [251] J. BADOZ, « Mesures photoélectriques de faibles biréfringences et de très petits pouvoirs rotatoires », in : *Journal de Physique Appliquée* 17.S11 (1956), p. 143-149, DOI : [10.1051/jphysap:019560017011014300](https://doi.org/10.1051/jphysap:019560017011014300).
- [252] P. TÖRÖK, P.D. HIGDON et T. WILSON, « On the general properties of polarised light conventional and confocal microscopes », in : *Optics Communications* 148.4 (1998), p. 300-315, ISSN : 0030-4018, DOI : [10.1016/S0030-4018\(97\)00576-2](https://doi.org/10.1016/S0030-4018(97)00576-2).
- [253] Michael I. SHRIBAK, Shinya INOUE et Rudolf OLDENBOURG, « Polarization aberrations caused by differential transmission and phase shift in high numerical aperture lenses : theory, measurement, and retification », in : *Optical Engineering* 41.5 (2002), p. 943-954, DOI : [10.1117/1.1467669](https://doi.org/10.1117/1.1467669).
- [254] Sylvain RIVET et al., « Complex master slave interferometry », in : *Optics Express* 24.3 (fév. 2016), p. 2885-2904, DOI : [10.1364/OE.24.002885](https://doi.org/10.1364/OE.24.002885).
- [255] Robert L. WALLACE, « Presence of anisotropic (birefringent) crystalline structures in embryonic and juvenile monogonont rotifers », in : *Rotifer Symposium VI*, sous la dir. de J. J. GILBERT, E. LUBZENS et M. R. MIRACLE, Dordrecht : Springer Netherlands, 1993, p. 71-76, DOI : [10.1007/978-94-011-1606-0_9](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1606-0_9).
- [256] Christian L. LABOISSE et al., « Characterization of a Newly Established Human Gastric Cancer Cell Line HGT-1 Bearing Histamine H2-Receptors1 », in : *Cancer Research* 42.4 (avr. 1982), p. 1541-1548.
- [257] Manuel GÓMEZ-GONZÁLEZ et al., « Measuring mechanical stress in living tissues », in : *Nature Reviews Physics* (juin 2020), DOI : [10.1038/s42254-020-0184-6](https://doi.org/10.1038/s42254-020-0184-6).

-
- [258] Emmanuel FARGE, *L'embryogenèse : produit de l'influence réciproque entre gènes et forme biomécanique*, Planet-Vie, mai 2017, URL : <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/developpement/l-embryogenese-produit-de-l-influence-reciproque-entre-genes-et-forme>.
- [259] Dominik EDER, Christof AEGERTER et Konrad BASLER, « Forces controlling organ growth and size », in : *Mechanisms of Development* 144 (2017), Roles of physical forces in development, p. 53-61, DOI : [10.1016/j.mod.2016.11.005](https://doi.org/10.1016/j.mod.2016.11.005).
- [260] Florence BRODERS-BONDON et al., « Mechanotransduction in tumor progression : The dark side of the force », in : *Journal of Cell Biology* 217.5 (fév. 2018), p. 1571-1587, DOI : [10.1083/jcb.201701039](https://doi.org/10.1083/jcb.201701039).
- [261] Robert PREVEDEL et al., « Brillouin microscopy : an emerging tool for mechanobiology », in : *Nature Methods* 16 (10 oct. 2019), p. 969-977, DOI : [10.1038/s41592-019-0543-3](https://doi.org/10.1038/s41592-019-0543-3).

Conclusion générale et perspectives

- [6] Jean-Paul DECRUPPE, « Rhéologie et biréfringence d'écoulement, du macroscopique au microscopique. », in : *Rhéologie* 10 (2006), p. 1-12, URL : <https://www.legfr.fr/IMG/pdf/Revue/Vol10/Decruppe%201-12.pdf>.
- [192] Chengshuai LI et Yizheng ZHU, « Quantitative polarized light microscopy using spectral multiplexing interferometry », in : *Optics Letters* 40.11 (juin 2015), p. 2622-2625, DOI : [10.1364/OL.40.002622](https://doi.org/10.1364/OL.40.002622).
- [262] Vijaysekhar JAYARAMAN et al., « Recent advances in MEMS-VCSELs for high performance structural and functional SS-OCT imaging », in : *SPIE Proceedings* 8934 (mars 2014), p. 893402, DOI : [10.1117/12.2041718](https://doi.org/10.1117/12.2041718).
- [263] Johannes F. DE BOER, Rainer LEITGEB et Maciej WOJTKOWSKI, « Twenty-five years of optical coherence tomography : the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT », in : *Biomedical Optics Express* 8.7 (juill. 2017), p. 3248-3280, DOI : [10.1364/BOE.8.003248](https://doi.org/10.1364/BOE.8.003248).
- [264] Thomas D. O'SULLIVAN et al., « Vertical-cavity surface-emitting laser sources for gigahertz-bandwidth, multiwavelength frequency-domain photon migration. », in : *Journal of biomedical optics* 22.10 (oct. 2017), p. 1-8, DOI : [10.1117/1.jbo.22.10.105001](https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.10.105001).
- [265] Benjamin POTSAID et al., « MEMS tunable VCSEL light source for ultrahigh speed 60kHz - 1MHz axial scan rate and long range centimeter class OCT imaging », in : *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XVI*, sous la dir. de Joseph A. IZATT, James G. FUJIMOTO et Valery V. TUCHIN, t. 8213, International Society for Optics et Photonics, SPIE, 2012, p. 82130M, DOI : [10.1117/12.911098](https://doi.org/10.1117/12.911098).
- [266] Sebastian KARPFF et Bahram JALALI, « Fourier-domain mode-locked laser combined with a master-oscillator power amplifier architecture », in : *Optics Letters* 44.8 (avr. 2019), p. 1952-1955, DOI : [10.1364/OL.44.001952](https://doi.org/10.1364/OL.44.001952).
- [267] Sebastian KARPFF et Bahram JALALI, « Frequency-doubled FDML-MOPA laser in the visible », in : *Optics Letters* 44.24 (déc. 2019), p. 5913-5916, DOI : [10.1364/OL.44.005913](https://doi.org/10.1364/OL.44.005913).

-
- [268] Yuanhua FENG et al., « Ultrafast Mueller matrix polarimetry with 10 nanosecond temporal resolution based on optical time-stretch », in : *Optics Letters* 47.6 (mars 2022), p. 1403-1406, DOI : [10.1364/OL.451766](https://doi.org/10.1364/OL.451766).
- [269] Doron GOLDBERG et Zeev WEISSMAN, « Compact, high-resolution, self-referenced, optical activity polarimeter for high-pressure liquid chromatography systems », in : *Applied Optics* 53.4 (fév. 2014), p. 577-587, DOI : [10.1364/AO.53.000577](https://doi.org/10.1364/AO.53.000577).
- [270] R. WOLFE et al., « High Frequency Magnetic Field Sensors Based On The Faraday Effect In Garnet Thick Films », in : *Optical Fiber Sensors*, Optica Publishing Group, 1992, F32, DOI : [10.1364/OFS.1992.F32](https://doi.org/10.1364/OFS.1992.F32).

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

ORALES

Publications

Article

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Swept-wavelength laser scanning null polarimetric microscopy for weak linear birefringence imaging », en préparation (2022)

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Systematic errors in a swept-wavelength null polarimeter for weak linear retardance measurements », en préparation (2022)

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Swept-wavelength null polarimeter for high-speed weak anisotropy measurements », in : *Optics Express*, 30.11 (mai 2022), p. 18889-18902, DOI : [10.1364/OE.454193](https://doi.org/10.1364/OE.454193)

Acte de congrès

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Swept-wavelength null polarimetry for weak linear birefringence imaging », in : *Unconventional Optical Imaging III*, Proc. SPIE 12136, 121360J, DOI : [10.1117/12.2632382](https://doi.org/10.1117/12.2632382)

Communications orales

Internationale

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Swept-wavelength null polarimetry for weak linear birefringence imaging », *SPIE Photonics Europe 2022*, 5 avril 2022, Strasbourg, France

Nationale

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Microscopie de biréfringence à haute sensibilité par polarimétrie sur fond noir à codage spectral », *9ième Rencontres Biologie-Physique du Grand-Ouest*, 22 Juin 2022, Brest, France

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Mesure ultra-sensible et à très haute cadence de faibles anisotropies optiques », *Colloque de l'IBSAM*, 7 Décembre 2021, Brest, France

X. THEILLIER, S. RIVET, M. DUBREUIL ET Y. LE GRAND, « Mesure ultra-sensible et à très haute cadence de faibles anisotropies optiques », *JED3M : Lumière sur l'Invisible*, 4 Novembre 2021, Nantes, France

Brevet

S. RIVET, X. THEILLIER, M. DUBREUIL, Y. LE GRAND, « Dispositif de caractérisation polarimétrique de l'anisotropie d'un milieu, et système d'imagerie correspondant », brevet n° *FR2007550* (2020)

Titre : Polarimétrie sur fond noir par codage spectral de la polarisation : application à la microscopie à balayage laser

Mot clés : Polarisation, Polarimétrie, Microscopie à balayage, Biréfringence

Résumé : L'imagerie de faibles biréfringences au sein de milieux biologiques, à l'échelle cellulaire, présente un fort intérêt pour l'étude d'édifices de protéines structurales et motrices ainsi que ses applications au diagnostic biomédical. Le laboratoire OPTIMAG a récemment développé un microscope à balayage laser polarimétrique dit de « Mueller », basé sur le principe de codage spectral de la polarisation. Celui-ci repose sur l'utilisation d'une source à balayage en fréquence optique rapide (100 kHz) et de lames de phase épaisses, permettant de mesurer l'ensemble des anisotropies optiques du milieu d'étude (et donc en particulier sa biréfringence) à la cadence de balayage de la source, ce qui est compatible avec la microscopie à balayage laser. Cependant cette technique opère sur « fond clair », ce qui limite intrinsèquement sa sensibilité. Le but de cette thèse est de développer une nouvelle méthode de polarimétrie,

toujours basée sur le concept de codage spectral de la polarisation, dans une configuration originale dite sur « fond noir », c'est-à-dire travaillant proche de l'extinction, permettant ainsi d'offrir la meilleure sensibilité pour la mesure de la biréfringence. Ce dispositif a d'abord été monté sur table optique et l'étude des erreurs aléatoires et systématiques entachant la mesure a été réalisée. Ainsi, ce dispositif permet de mesurer, à une cadence de 100 kHz , la biréfringence avec une résolution de $55\text{ nrad}/\sqrt{\text{Hz}}$. Ce polarimètre a ensuite été intégré dans un microscope à balayage laser et sa grande sensibilité a permis l'imagerie de cultures cellulaires. La comparaison avec une technique sur fond clair est également présentée ainsi que la complémentarité de cette nouvelle méthode avec des modalités de microscopie non-linéaires pour l'étude de coupes histologiques de tissus cancéreux.

Title: Null-Polarimetry by spectral encoding of polarization: Application to laser scanning microscopy

Keywords: Polarization, Polarimetry, Scanning microscopy, Birefringence

Abstract: Imaging birefringence in biologicals samples, at cellular scale, has shown a strong interest to get insight into arrangements of structural and motor proteins and for medical diagnostic applications. Recently OPTIMAG laboratory has developed a Mueller laser-scanning microscopy based on the idea of spectral encoding of polarization. This method implements a very fast swept-wavelength laser source (100 kHz) in combination with thick phase plates, enabling full polarization measurements (including birefringence) at the speed of laser source, making it compatible with laser scanning microscopes. However, this method operating off null (far from extinction), its sensitivity is intrinsically limited. The goal of this thesis is to develop a new method of polarimetry, still based

on spectral encoding of polarization, in an original null configuration, working close to extinction, enabling the best birefringence measurement sensitivity. This device has first been set up on an optical table, and the study of both random and systematic errors affecting the measurement has been performed. Thus, this device is able to measure birefringence with a resolution of $55\text{ nrad}/\sqrt{\text{Hz}}$, at 100 kHz . Then, this polarimeter has been implemented in laser scanning microscope and its high sensitivity has enabled the imaging of cell cultures. The comparison with an off-null approach has been shown as well as the complementarity of this new method with non-linear modalities of microscopy for the study of cancerous tissues histological sections.