



**HAL**  
open science

# Imagerie Microscopique Multimodale Polarimétrique Visible et Infrarouge Couplée à des Sources de Lumière Laser Accordable et Synchrotron

Bandar Albugami

► **To cite this version:**

Bandar Albugami. Imagerie Microscopique Multimodale Polarimétrique Visible et Infrarouge Couplée à des Sources de Lumière Laser Accordable et Synchrotron. Optique [physics.optics]. Institut Polytechnique de Paris, 2023. Français. NNT : 2023IPPAX028 . tel-04497813

**HAL Id: tel-04497813**

**<https://theses.hal.science/tel-04497813>**

Submitted on 11 Mar 2024

**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.



INSTITUT  
POLYTECHNIQUE  
DE PARIS

NINT : 2023IPPAX028

Thèse de doctorat



Imagerie Microscopique Multimodale Polarimétrique Visible et  
Infrarouge Couplée à des Sources de Lumière Laser Accordable et  
Synchrotron

Thèse de doctorat de l'Institut Polytechnique de Paris  
préparée à l'École Polytechnique

École doctorale n°626 : Ecole Doctorale de l'Institut Polytechnique de  
Paris (ED IP Paris)  
Spécialité de doctorat : Optique, Laser et Plasma

Thèse présentée et soutenue à Palaiseau, le 10 mars 2023, par

**Bandar ALBUGAMI**

Composition du Jury :

Olivier GUAITELLA Ingénieur de recherche, Ecole Polytechnique	Président
François GOUDAIL Professeur, Institut d'Optique Graduate School	Rapporteur
Jean-Hervé TORTAI Chargé de Recherche, Laboratoire des Technologies de la Microélectronique, CEA-Minatec	Rapporteur
Elise COLIN Directrice de Recherche, Office National d'Etudes et de Recherches Aérospatiales	Examinatrice
Matthieu LANCERY Professeur, Université Paris-Saclay	Examineur
Razvigor OSSIKOVSKI Professeur, Ecole Polytechnique	Directeur de thèse
Enrique GARCIA CAUREL Ingénieur de recherche, Ecole Polytechnique	Co-Directeur de thèse







# Table des Matières

<b>Introduction</b> .....	<b>4</b>
<b>Chapitre I. Concepts Fondamentaux en Polarimétrie</b> .....	<b>10</b>
Introduction .....	10
I.1. Polarisation des Ondes Lumineuses .....	11
I.2. La Matrice de Mueller .....	16
I.3. Les Propriétés Polarimétriques Fondamentales .....	17
I.4. Décomposition Logarithmique ou Différentielle .....	24
Bibliographie .....	26
<b>Chapitre II. Microscope Polarimétrique Multimodal : Description Instrumentale</b> .....	<b>28</b>
Introduction .....	28
II.1. Conception Polarimétrique : Choix Instrumentaux .....	29
II.2. Conception Optique et Optomécanique.....	50
II.3. Sélection de composants .....	59
Bibliographie .....	64
<b>Chapitre III. Étalonnage et Validation du Microscope Polarimétrique</b> .....	<b>68</b>
Introduction .....	68
III.1. Principe Théorique d'Étalonnage par la Méthode ECM.....	68
III.2. Principe d'Étalonnage par la Méthode PCM.....	73
III.3. Validation des Mesures Polarimétriques dans le Domaine Visible et Infrarouge .....	79
III.4 Validation des Méthodes de Calibration PCM et ECM .....	86
III.5. Répétabilité, Stabilité et Précision .....	113
Bibliographie .....	115
<b>Chapitre IV. Caractérisation de Feuilles de Vigne, <i>Vitis vinifera</i>, par Microscopie Polarimétrique Visible et Infrarouge</b> .....	<b>117</b>
Introduction .....	117
IV.1. Dispositifs Expérimentaux .....	118
IV.2. Résultats .....	122
Bibliographie .....	150
<b>Conclusions et Perspectives</b> .....	<b>152</b>





# Introduction

## Cadre Général

Le moyen infrarouge (MIR) est un domaine spectral relativement peu exploité aujourd'hui du fait des faibles performances des sources des détecteurs et éventuellement de la rareté de matériaux commerciaux pour la fabrication de composants optiques. Il présente pourtant un très grand potentiel pour des applications d'importance centrale. La spectroscopie MIR est utilisée pour la détection ou l'analyse de matériaux inconnus sous toutes formes (solide, liquide ou gazeuse). En effet, une large gamme de molécules absorbe dans le MIR et y présente des raies d'absorption spécifiques, signature des vibrations intramoléculaires, ce qui permet de les identifier. Ces propriétés sont largement exploitées dans de nombreux domaines. En astrophysique, les spécialistes déterminent la composition des étoiles à partir de leur spectre d'émission. La spectroscopie est largement présente en chimie pour la détermination des composés intermédiaires formés lors d'une réaction. Les forces de l'ordre et douanes confrontées à des substances inconnues peuvent en déterminer la nature en mesurant leur absorption, ce qui ne nécessite alors aucun contact et permet une analyse non destructive.

L'objet de la thèse porte sur le développement du premier et pour l'instant l'unique microscope infrarouge polarimétrique multimodal au monde, et son application pour l'étude de matériaux divers, organiques et inorganiques d'origine naturelle ou artificielle. La réalisation de la thèse a eu lieu en étroite collaboration avec le personnel de la ligne de lumière infrarouge SMIS du synchrotron Soleil. Le microscope a été conçu de manière à pouvoir utiliser comme sources de lumière le rayonnement infrarouge synchrotron ou un faisceau laser, éventuellement accordable. Le microscope a été physiquement développé, et installé permanentement au sein des locaux de la ligne de lumière SMIS du synchrotron SOLEIL. A terme, le microscope polarimétrique intégrera l'ensemble d'instruments de caractérisation et de recherche de la ligne SMIS. Le microscope servira à la caractérisation d'échantillons qui intéressent la science de matériaux et la biologie. Les cinq aspects clés qui caractérisent le microscope polarimétrique sont:

i) Large bande spectrale infrarouge et visible : Le système a été conçu pour pouvoir travailler dans un domaine spectral large correspondant à l'infrarouge pour des longueurs d'onde comprises entre 2 et 14  $\mu\text{m}$ . Accessoirement, et profitant du fait que la plupart de composants optiques qui composent le microscope ont une réponse optique achromatique, il a été démontré expérimentalement qu'après une intervention mineure de la part de l'utilisateur ( substitution des polariseurs adaptés pour l'infrarouges par des polariseurs travaillant dans le visible), il est aussi possible d'utiliser cet instrument pour réaliser des mesures polarimétriques dans le domaine visible.

ii) Analyse chimique vibrationnelle : La réponse vibrationnelle de bon nombre de liaisons chimiques polaires présentes dans la plupart de composés organiques et bon nombre de substances inorganiques se situe dans le domaine de longueurs d'onde infrarouges comprises entre 6 et 10  $\mu\text{m}$  accessibles au microscope polarimétrique. Cette réponse étant très caractéristique de la substance ou du milieu auquel elle appartient est d'une grande utilité pour caractériser ou identifier des matériaux.

iii) Analyse structurelle grâce à la polarimétrie : La capacité du microscope pour caractériser complètement l'état de polarisation de la lumière diffusée, transmise ou réfléchi par l'échantillon est une fonctionnalité qui s'ajoute à la sensibilité chimique d'un microscope infrarouge standard et permet d'augmenter le niveau d'information qu'il peut être extrait des échantillons étudiés. En fonction du type d'échantillon et de leur complexité une analyse phénoménologique des données polarimétriques peut mener à la détermination de propriétés optiques fondamentales comme la biréfringence, le dichroïsme ou la dépolarisation. Ces trois grandeurs fondamentales sont intimement liées au degré d'ordre et d'orientation de la matière dans les échantillons pouvant aller du niveau moléculaire au niveau microscopique. Elles sont utiles pour mettre en évidence la présence de domaines ordonnés (ou cristallins) dans la matière et d'en déterminer leur orientation. Dans l'infrarouge par exemple, le dichroïsme linéaire d'origine vibrationnel indique l'orientation des différentes liaisons chimiques présentes sur les échantillons étudiés par rapport à un repère laboratoire fixe. Ainsi cette analyse phénoménologique peut s'avérer utile pour l'analyse d'échantillons complexes comme par exemple des tissus biologiques. D'une autre part, lorsqu'il est possible de créer un modèle optique d'un échantillon en fonction de paramètres structuraux (par exemple des épaisseurs de couches minces, rugosité porosité) et optiques comme l'indice de réfraction ou le coefficient d'absorption, il est tout à fait possible après un travail d'ajustement de données simulées aux mesures, de déterminer la valeur de ces grandeurs qui servent de paramètres aux modèles.

iv) Imagerie chimique multispectrale de haute résolution à la limite de la diffraction : Le fait de pouvoir utiliser comme détecteur une caméra dotée d'un grand nombre de pixels sensibles à l'infrarouge couplée à une optique de microscope de précision, permet l'obtention d'images de très haute résolution spatiale à la limite de la diffraction classique. Pour les longueurs d'onde infrarouges considérées ici, cette limite se situe typiquement autour de 3 à 15  $\mu\text{m}$ . D'ailleurs, le fait que ces images puissent être prises à des longueurs d'onde pour lesquelles les matériaux étudiés présentent une réponse caractéristique liée à leur composition chimique, permet d'établir une « cartographie chimique » des échantillons étudiés.

v) La multimodalité : se traduit par le fait que l'instrument permet la possibilité de mettre en œuvre différents modes d'imagerie et notamment l'imagerie dans le plan réel objet et l'imagerie dans l'espace conjugué de Fourier. Le plan réel permet d'imager la surface des échantillons et apporte une information résolue spatialement. Le plan de Fourier permet d'imager la réponse d'une toute petite zone de l'échantillon résolue angulairement. Ces deux modes d'imagerie bien qu'indépendants sont complémentaires l'un de l'autre. A part de ces deux modes d'imagerie, la configuration optique du microscope permet d'implémenter facilement d'autres modes, comme le champ sombre par exemple. Ces autres modes n'ont pas été explorés dans le cadre de cette thèse, mais ils représentent un champ de possibilités qui seront explorés dans des travaux futurs. L'ensemble de ces modes d'imagerie, donnent et donneront à l'instrument des caractéristiques très avancées pour l'obtention de résultats uniques.

Les applications du microscope multimodal pour l'analyse de matériaux sont multiples et intéressent différents domaines. Afin de donner un aperçu du type de résultats qui peuvent être obtenus à l'aide du microscope polarimétrique, le travail ne s'est seulement limité au développement instrumental, très intéressant et riche en soi, mais aussi une partie des efforts ont été consacrées à la réalisation de mesures sur des échantillons concrets afin d'illustrer une partie des applications potentielles du microscope polarimétrique. un exemple portant sur l'étude de la réponse polarimétrique de feuilles de vigne de différentes maturités est présenté. Un des résultats

les plus importants de cette étude a été le fait de mettre en évidence la présence de petits amas de cristaux d'oxalate de calcium situés à l'intérieur des feuilles de vigne lors de leur développement grâce à l'analyse des images polarimétriques. Une étude approfondie sur la nature chimique des amas de cristallites, appelées raphides, a été possible grâce à l'utilisation des images polarimétriques infrarouges qui a permis de déterminer l'orientation relative de deux liaisons chimiques différentes présentes dans la composition chimique de ces cristaux.

## Production Scientifique et Technique

Le microscope polarimétrique en soi constitue le résultat technique principal de cette étude. Bien au-delà des caractéristiques et performances attendues pour un simple démonstrateur ou prototype, le microscope polarimétrique est un véritable instrument de recherche unique. Comme il a été signalé un peu plus haut, initialement développé au sein de la ligne de lumière SMIS du Synchrotron SOLEIL, le microscope polarimétrique est désormais pleinement opérationnel et fait partie du panel d'instruments que les utilisateurs de cette ligne de lumière peuvent utiliser pour mener à bien des expériences scientifiques et des projets de caractérisation.

L'étape de conception de l'instrument a permis d'établir une configuration optique pour les deux composants principaux d'un polarimétrique, le générateur d'états de polarisation et l'analyseur d'états de polarisation, ainsi qu'une méthode de pilotage de ceux-ci tout à fait originelle qui fait l'objet d'une demande de brevet. Cette démarche est justifiée par le fait que la configuration et la méthode de pilotage associée, découvertes au cours de la thèse, offrent par leur simplicité, des avantages techniques nets par rapport à des solutions commerciales actuelles. Afin de préserver le secret lié à l'inventivité et à la nouveauté qu'impose le processus de protection intellectuelle toujours en cours au moment de la rédaction de ce manuscrit, des détails concernant des éléments présents dans la demande de dépôt de brevet n'ont pas pu être discutés ou décrits dans ce manuscrit. Une fois que la dépôt de la demande de brevet sera faite, un premier article scientifique donnant une description du principe théorique et des exemples d'implémentation de la nouvelle méthode sera soumis à un journal spécialisé à comité de lecture. Un deuxième article décrivant la configuration optique et polarimétrique du microscope sera également soumis à un journal à comité de lecture.

En plus de ces deux publications en perspective, les deux articles suivants, soumis à des journaux à comité de lecture, ont déjà été publiés.

- R. Ossikovski, B. Al Bugami, E. Garcia-Caurel, S. R. Cloude, Polarizer calibration method for Mueller matrix polarimeters, *Appl. Opt.* 59 (2020) 10389-10395. DOI: 10.1364/AO.409799.
- B. Al Bugami, Y. Su, C. Rodríguez, A. Lizana, J. Campos, M. Durfort, R. Ossikovski, E. Garcia-Caurel, Characterization of vine, *Vitis vinifera*, leaves by Mueller polarimetric microscopy, *Thin Solid Films* 764 (2023), 139594. DOI: 10.1016/j.tsf.2022.139594.

J'ai aussi pu réaliser une présentation orale d'une partie de mon travail à une conférence internationale

- B. Al Bugami, Y. Su, C. Rodríguez, A. Lizana, J. Campos, M. Durfort, R. Ossikovski, E. Garcia-Caurel, Characterization of vine, *Vitis vinifera*, leaves by Mueller polarimetric microscopy in the visible spectrum, ICSE 9, Beijing, China (2022).

La description des résultats concernant la caractérisation des feuilles de vigne dans le domaine infrarouge n'a pas été encore publiée ou présentée en conférence, car ceci impliquerait d'une façon ou d'une autre, la mise en lumière de certains éléments qui font partie de la demande de dépôt de brevet en cours. Nous comptons publier ces travaux dès que cela sera possible.

## Organisation du Manuscrit

Le manuscrit est composé en quatre chapitres. Le premier chapitre offre une vue d'ensemble des concepts fondamentaux sur lesquels se base la polarimétrie, ainsi qu'une description des décompositions algébriques utilisées comme des «boîtes à outils» pour l'analyse des données en fournissant une interprétation phénoménologique de la réponse optique des échantillons étudiés.

Le deuxième chapitre est dédié à la description purement instrumentale du microscope polarimétrique multimodale développé au cours de cette thèse. Deux aspects centraux sont abordés en détail dans ce deuxième chapitre : i) la conception d'un générateur d'états de polarisation et d'un analyseur d'états de polarisation servant à réaliser des mesures polarimétriques sur un large domaine spectral, et, ii) la conception du montage optique qui constitue le microscope qui permet l'éclairage optimal des échantillons et l'acquisition d'images selon les deux modes d'imagerie évoqués précédemment. Ce deuxième chapitre inclut également une description des composants optiques et dispositifs optoélectroniques utilisés pour le montage du microscope.

Le troisième chapitre est consacré à la discussion de deux méthodes permettant l'étalonnage polarimétrique du microscope, ainsi que la description d'une série de tests et de mesures réalisés sur des échantillons de référence pour mesurer les performances techniques de l'instrument et pour valider son fonctionnement. Une des méthodes d'étalonnage utilisées est la méthode dite des valeurs propres. Cette méthode a été développée au laboratoire LPICM de l'Ecole Polytechnique à Palaiseau par M. E. Compain il y a une vingtaine d'années. La méthode des valeurs propres a été utilisée tant en interne au laboratoire LPICM comme par bon nombre d'autres groupes pour la calibration précise de différents types de polarimètres, tant spectroscopiques comme imageurs. La méthode des valeurs propres est utilisée comme une référence dans ce travail. La deuxième méthode discutée dans le chapitre a été appelée la méthode du polariseur car elle ne requiert comme référence que la mesure de la réponse optique d'un polariseur orienté à plusieurs angles azimutaux. Cette méthode a été développée dans le cadre de cette thèse et est spécialement adaptée pour calibrer des polarimètres non conventionnels comme c'est le cas des instruments utilisés pour réaliser des mesures dans domaines spectraux extrêmes (ultraviolet extrême, infrarouge, térahertz, microondes...) pour lesquels des méthodes de calibration conventionnelles ne peuvent pas être implémentés par manque d'échantillons de référence adéquats.

Enfin, le quatrième chapitre porte sur la description d'une étude réalisée avec le microscope polarimétrique et elle porte sur la caractérisation de la réponse optique de feuilles de vigne à différents stades de leur croissance et développement. La caractérisation polarimétrique des feuilles de vigne a été réalisée dans le domaine visible et dans le domaine infrarouge pour illustrer leur complémentarité du fait que la réponse optique des matériaux ne dépend pas des mêmes mécanismes. Les images dans le visible ont révélé la présence de petites cristallites à l'intérieur des feuilles de vigne mais elles ne peuvent rien dire concernant leur composition. D'un autre côté, des images multispectrales dans l'infrarouge ont servi à déterminer la nature chimique des cristallites ainsi qu'à mesurer l'orientation relative de deux liaisons chimiques présentes dans ce matériau. Cet

exemple d'application sert à illustrer deux des possibles applications du microscope : i) l'utilité de la microscopie polarimétrique en botanique pour l'étude de tissus végétaux, et ii) la réalisation de la cristallographie optique, qui est un complément à la cristallographie classique basée sur la diffraction de rayons X ou de neutrons. La cristallographie optique permet d'identifier différents liaisons chimiques présentes dans les échantillons étudiés, déterminer leur orientation relative et contribuer aussi à connaître la structure tridimensionnelle de cristaux, polymères et autres molécules ordonnées. Les deux techniques de choix qui sont employés actuellement pour réaliser la cristallographie optique sont la spectroscopie de Fourier polarisée et la spectroscopie Raman aussi polarisée. La polarimétrie spectroscopique ou multispectrale de Mueller est une forme généralisée de la spectroscopie polarisée traditionnelle, et à ce titre elle peut être pour la caractérisation de matériaux complètement ou partiellement cristallisés.





# Chapitre I. Concepts Fondamentaux en Polarimétrie

## Introduction

Ce premier chapitre est dédié à offrir une révision de quelques concepts fondamentaux relatifs à la polarimétrie sur lesquels sont basés les formalismes, les modèles mathématiques et l'interprétation des données qui sera décrite et discutée dans les chapitres successifs de ce manuscrit. Loin d'être exhaustif, les contenus de ce chapitre revisitent le concept de lumière polarisée et sa représentation mathématique par le formalisme de Stokes. Les grandeurs physiques fondamentales auxquelles s'intéresse la polarimétrie, diatténuation, retard et dépolarisation sont discutés à l'aide du formalisme mathématique de Stokes. L'information contenue dans les mesures polarimétriques est parfois difficile d'interpréter d'une façon directe. Pour cette raison il est nécessaire de réaliser un traitement des grandeurs mesurées afin de les simplifier et de rendre plus facile l'interprétation physique. Divers protocoles de traitement de données polarimétriques nommées décompositions matricielles ont été développés et discutés dans la littérature. Ce chapitre discute en détail la décomposition matricielle appelée logarithmique ou différentielle, car elle est spécialement bien adaptée pour traiter des données issues des mesures en transmission, et c'est cette décomposition qui a été utilisée préférentiellement pour traiter des données discutés en différents endroits du manuscrit.

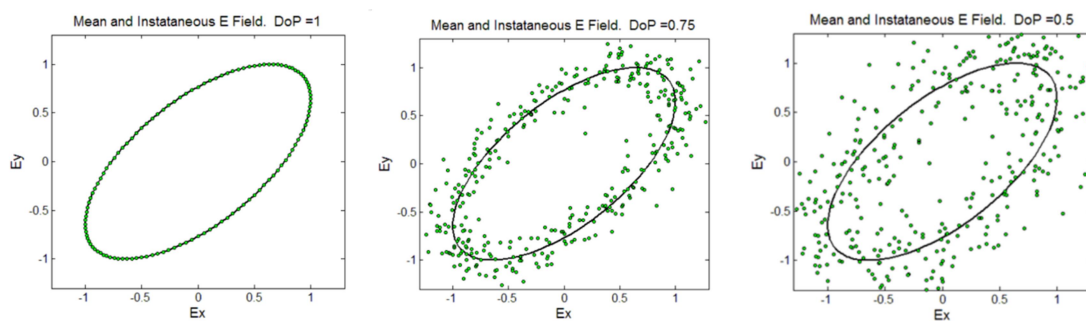


Figure 1.1. Lumière totalement polarisée (gauche) et lumière partiellement polarisée avec des degrés de polarisation différente (centre) et (droite). Les points représentent des « locus » du champ électromagnétique pris à des instants donnés, et les lignes noires représentent la moyenne sur plusieurs périodes de la position des « locus » du champ électromagnétique respectifs.

Lorsque les électrons d'une source lumineuse gagnent de l'énergie, le phénomène produit par la libération d'énergie est appelé lumière, et c'est une onde électromagnétique transversale. Une onde transversale a la propriété de vibrer sur un plan perpendiculaire à sa direction de propagation. Si les champs électriques et magnétiques associés à une onde lumineuse vibrent d'une façon stationnaire

dans le temps, ceux-ci décrivent une trajectoire déterministe au fur et à mesure que l'onde se propage. La forme de cette trajectoire (circulaire, sinusoïdale, elliptique) détermine l'état de polarisation de cette onde. Dans ce cas, on dit que l'onde lumineuse est polarisée, ou à proprement parler, d'une lumière entièrement polarisée. La lumière naturelle émise par le soleil ou bien par une source incandescente, est faite d'ondes dont les champs électrique et magnétique associés vibrent dans toutes les directions, ceci qui résulte en une absence de polarisation nette, c'est qu'on appelle une lumière non polarisée. Une lumière partiellement polarisée est formée lorsque des ondes de polarisations différentes se mélangent d'une façon incohérente. Les champs électriques et magnétiques résultants décrivent une trajectoire qui est aléatoire sur une instante donnée mais déterministe si on prend la moyenne sur une succession de périodes. Ce type de lumière est dite partiellement polarisée. Le degré de polarisation de cette lumière se situe entre celui de la lumière complètement polarisée et celui de la lumière non polarisée. L'état de polarisation de la lumière peut être contrôlé par des éléments optiques spéciaux tels que les polariseurs ou les retardateurs.

## I.1. Polarisation des Ondes Lumineuses

Toute onde électromagnétique qui se propage est constituée d'un champ électrique  $\vec{E}$  et d'un champ magnétique  $\vec{B}$  perpendiculaires l'un par rapport à l'autre. Etant une onde transverse, les deux champs,  $\vec{E}$  et  $\vec{B}$  sont tous les deux perpendiculaires à la direction de propagation présentée par un vecteur  $\vec{k}$  appelé vecteur d'onde (voir figure I.2).

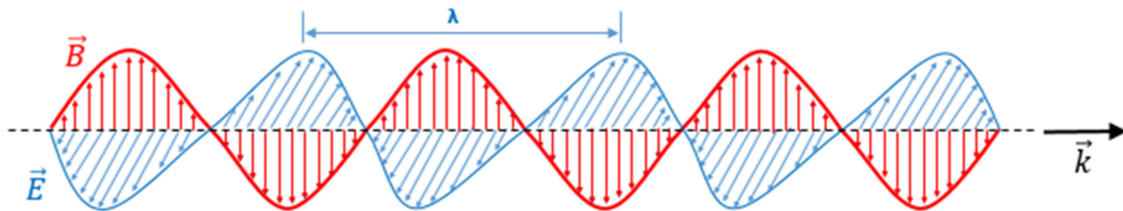


Figure I.2. Onde électromagnétique avec un champ magnétique  $\vec{B}$  et un champ électrique  $\vec{E}$  perpendiculaire l'un par rapport l'autre.

En libre espace, on décrit le champ électromagnétique associé au faisceau de radiation par le champ électrique  $\vec{E}$  perpendiculaire à la direction de propagation, le champ magnétique peut être déterminé à partir du champ électrique.

Dans cette étude, on s'intéresse à la polarisation, qui décrit le comportement vectoriel de la radiation, et la façon par laquelle évolue son champ électrique associé en un point donné de l'espace. Pour une onde non polarisée, qui représente généralement la radiation électromagnétique naturelle, le champ  $\vec{E}$  tourne autour de l'axe de propagation du faisceau de façon aléatoire au cours du temps. Par contre, le champ électrique d'une onde polarisée suit une trajectoire définie et périodique. La réponse optique d'un milieu physique est sensible à l'état de polarisation de la

lumière incidente, raison pour laquelle il est intéressant d'utiliser la polarisation comme moyen d'obtenir des informations enrichies, impossibles d'obtenir avec d'autres moyens.

Afin d'expliquer la polarisation de manière simple, et puisque toute onde peut être décomposée par transformé de Fourier en un nombre infini d'ondes planes, la description de la polarisation sera limitée au cas d'une onde plane monochromatique transverse. L'onde sera décrite dans un espace caractérisé par le repère orthonormé (Ox, Oy, Oz). Une onde plane d'amplitude A, se propageant dans un milieu particulier, peut s'écrire par :

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{A}_i \cos(\omega t - \vec{k} \cdot \vec{r} + \delta_i) \quad (1.1)$$

Avec  $i = x, y$  ou  $z$ ,  $A_i$  : c'est un terme d'amplitude,  $(\vec{k})$  : est le vecteur d'onde tel que  $|k| = \frac{2\pi n}{\lambda_0}$ , ( $n$ ) est l'indice de réfraction du milieu dans la direction de propagation de l'onde,  $\lambda_0$  est la longueur d'onde dans le vide,  $(\omega)$  est la pulsation de l'onde tel que  $\omega = \frac{2\pi c}{n \lambda_0}$ ; ( $c$ ) est la vitesse de la lumière dans le vide.  $\delta_i$  : c'est un terme de phase initiale, qui en générale ne sera pas prise en compte. Puisque l'onde est transverse et se propage suivant  $O_z$ , donc on en déduit :

$$\begin{aligned} \vec{E}(z, t) &= E_x(z, t) \vec{x} + E_y(z, t) \vec{y} & \vec{k} \cdot \vec{r} &= k \cdot z \\ E_x(z, t) &= A_x \cos(\omega \cdot t - k \cdot z + \delta_x) \\ E_y(z, t) &= A_y \cos(\omega \cdot t - k \cdot z + \delta_y) \\ E_z(t) &= 0 \end{aligned} \quad (1.2)$$

D'où en éliminant le terme temporel, nous retrouvons l'équation d'une ellipse pour les composantes de champ électrique :

$$\left(\frac{E_x}{A_x}\right)^2 + \left(\frac{E_y}{A_y}\right)^2 - \left(\frac{2E_x E_y}{A_x A_y}\right) \cos \Delta = \sin^2 \Delta \quad (1.3)$$

où  $\Delta = \delta_y - \delta_x$ , Cette équation montre que l'extrémité du vecteur champ électrique décrit une ellipse qui est l'état de polarisation le plus général. La figure 1.2 représente la trajectoire suivie par l'extrémité du champ électrique associée à un faisceau de radiation polarisé elliptiquement lors de sa propagation dans un milieu déterminé.

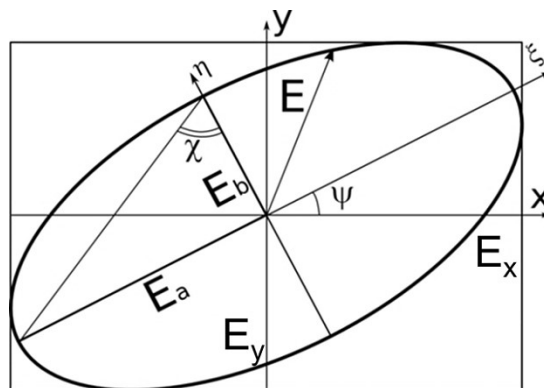


Figure 1.3. Ellipse de polarisation orientée arbitrairement montrant les angles représentant son azimuth,  $\psi$ , et son ellipticité  $\chi$ . Les composantes du champ électrique  $E_x$  et  $E_y$  selon un repère orthogonal canonique et les composantes  $E_a$  et  $E_b$  selon un repère orthogonal parallèle aux axes de l'ellipse sont également représentées.

L'état de polarisation elliptique est entièrement défini si nous déterminons les paramètres de l'ellipse donnée par l'expression (1.3) et représentée dans (la figure I.3). Lesquels sont : les demi-axes majeur et mineur  $a$  et  $b$  respectivement. L'ellipticité, l'angle  $\chi$  ( $-\frac{\pi}{4} < \chi < \frac{\pi}{4}$ ) défini par la relation  $\chi = \tan(\frac{b}{a})$  l'azimut, l'angle ( $0 < \psi < \pi$ ).

Ces paramètres peuvent être déduit des amplitudes  $A_x$  et  $A_y$  selon les relations trigonométriques suivantes :

$$\tan 2\chi = \frac{2 A_x A_y}{A_x^2 - A_y^2} \cos \Delta \quad , \quad \sin 2\chi = \frac{2 A_x A_y}{A_x^2 + A_y^2} \sin \Delta \quad (1.4)$$

Le sens de rotation suivi par le vecteur champ électrique  $\vec{E}$  dépend de signe de l'angle de phase  $\Delta$ , si  $\Delta \in [0, \pi]$ , le sens de rotation est dit gauche (ou un état de polarisation elliptique gauche), sinon le sens de rotation est dit droite (ou un état de polarisation elliptique droite). En fonction des valeurs relatives des amplitudes  $A_x$  et  $A_y$  des composantes orthogonales du champ électriques  $E_x$  et  $E_y$  ou la valeur du déphasage  $\Delta$ , l'ellipse peut apparaître sous la forme d'un cercle ou d'un segment de droite conduisant à des états de polarisation particuliers. Parmi ces états il y en a deux qui sont très utilisés :

1) la polarisation linéaire où ( $\Delta = 2k\pi$  ou  $\Delta = 2k\pi + \pi$ ) pour laquelle l'équation (1.3) se réduit sous la forme d'équation d'une droite ( $E_y = \pm \frac{A_y}{A_x} E_x$ ), les signes indiquent que les deux composantes perpendiculaire  $E_x$  et  $E_y$  sont soit en phase pour le signe (+) ou en opposition de phase pour le signe (-), d'ailleurs cet état de polarisation linéaire est communément appelée polarisation horizontale ou verticale par référence au repère du laboratoire.

2) la polarisation circulaire où ( $\Delta = \frac{\pi}{2}$  ou  $\Delta = \frac{3\pi}{2}$ ) et  $A_x = A_y = a$ , ainsi l'équation (1.3) s'écrit sous la forme ( $E_x^2 + E_y^2 = \pm a$ ) et le signe  $\pm$  dépend aussi de sens de rotation sur le cercle si  $\Delta = \frac{\pi}{2}$  nous avons un état de polarisation circulaire gauche et le signe est positif, tandis que si  $\Delta = \frac{3\pi}{2}$  c'est une polarisation circulaire droite et le signe est négatif.

### I.1.1. Formalisme Mathématique

La lumière polarisée et son interaction avec la matière peuvent être décrites en utilisant différents formalismes mathématiques tels que le calcul de Jones [1] ou le formalisme de Mueller-Stokes, aussi appelée formalisme de Stokes, [2,3]. Chaque formalisme présente ses caractéristiques particulières et son cadre d'applicabilité. Le formalisme de Stokes-Mueller est le mieux adapté à l'analyse biologique des tissus pour deux raisons principales. Premièrement, le formalisme de Stokes est basé sur des quantités observables, dont les principales grandeurs proviennent de combinaisons de différentes mesures d'intensité, et cela se traduit par une mise en œuvre expérimentale plus facile. Deuxièmement, la plupart des échantillons biologiques sont des matériaux hautement dépolarisants et le formalisme de Stokes s'applique non seulement pour représenter une lumière totalement polarisée, comme le fait le calcul de Jones [4], mais aussi celui-ci peut être utilisé pour décrire des états de lumière partiellement ou non polarisés.

### 1.1.1.1. Le Formalisme de Stokes

Sir Gorge Gabriel Stokes établit en 1852, un formalisme permettant de un état de polarisation de la lumière arbitraire avec seulement quatre paramètres appelés les paramètres de Stokes. Ces paramètres sont utilisés couramment sont basés sur une quantité mesurable et observable qui est l'intensité de la lumière. Stokes a recouru à ces paramètres par une définition expérimentale selon laquelle la lumière non polarisée est une lumière dont l'intensité n'est pas affectée lorsqu'un polariseur est tourné ou par la présence d'un retardateur de toute valeur de retard. A des fréquences optiques correspondant au domaine infrarouge et visible, l'amplitude du champ optique ne peut pas être mesurée, cependant la quantité qui peut être observée est l'intensité, qui est dérivée en prenant une moyenne temporelle du carré de l'amplitude [5]. Ce mode de représentation, développé par Stokes, permet de caractériser complètement l'état de polarisation en estimant à la fois la composante polarisée et non polarisée de cette dernière. Les quatre paramètres de Stokes peuvent être considérés comme les composantes d'un vecteur de dimension 4x1,  $S$ , défini comme :

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I_{0^\circ} + I_{90^\circ} \\ I_{0^\circ} - I_{90^\circ} \\ I_{45^\circ} - I_{135^\circ} \\ I_R - I_L \end{bmatrix} \quad (1.5)$$

Tel que  $S_0$  est associée avec l'intensité totale du faisceau.  $S_1$  indique la différence entre l'intensité transmise par un polariseur linéaire orienté selon l'axe  $x$ , ( $I_{0^\circ}$ ) horizontale et l'intensité transmise par un polariseur linéaire orienté selon l'axe  $y$  ( $I_{90^\circ}$ ) verticale.  $S_2$  indique la différence entre l'intensité transmise par un polariseur linéaire à ( $I_{45^\circ}$ ) (diagonale) et un autre orienté à  $135^\circ$  ( $I_{135^\circ}$ ) (anti-diagonale).  $S_3$ , indique la différence entre l'intensité transmise par un polariseur circulaire droite ( $I_R$ ) et un polariseur circulaire gauche  $I_L$  tel que  $R$  et  $L$ , indiquent respectivement droite (right) et gauche (left). Dans le cas où les mesures de ces six intensités sont égales, ceci correspond à une lumière non polarisée (complètement dépolarisée).

Ces paramètres de Stokes  $S_0, S_1, S_2, S_3$  peuvent être reliées par une relation important [5,6] :

$$S_0^2 \geq S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 \quad (1.6)$$

L'égalité dans l'équation précédente correspond pour une lumière totalement polarisée, tandis que l'inégalité est correspond à tout état partiellement polarisé. Le cas tout à fait courant d'une lumière non polarisée est représenté par :  $S_1^2 = S_2^2 = S_3^2 = 0$  et  $S_0^2 > 0$ .

Un paramètre très utile est le degré de polarisation (DOP) de la lumière qui peut être exprimé selon la relation suivante :

$$DOP = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2}}{S_0} \quad (1.7)$$

Si le DOP est égal à 1, la lumière est totalement polarisée, alors qu'elle est partiellement polarisée si  $0 < DOP < 1$ . Enfin, il est totalement non polarisé si  $DOP = 0$ .

### 1.1.1.2. La Sphère de Poincaré

Les états de polarisation peuvent être représentés graphiquement dans un espace à trois dimensions. L'ensemble des vecteurs de Stokes qui représente des états de polarisation physiquement réalisables ont trois composantes indépendantes :  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , l'intensité  $S_0$  étant constante. Si on assimile ces trois composantes indépendantes aux directions X, Y et Z d'un espace tridimensionnel, il est facile de montrer que les vecteurs directeurs résultants correspondant à l'ensemble des états complémentément polarisés forment une sphère de rayon  $S_0$ . Lorsqu'on travaille dans un espace où l'intensité  $S_0$  est normalisée, la sphère telle que montrée sur la figure I.4 a un rayon unité et reçoit le nom de Sphère de Poincaré. Un état de polarisation partiellement polarisée se trouvera représenté par un point à l'intérieur de la sphère de Poincaré à une distance du centre comprise entre 0 et 1 égale à son DOP. Ainsi, l'état de lumière correspondant à un état complètement dépolarisé se trouve au centre de la sphère de Poincaré. Les pôles sud et nord de la sphère de Poincaré représentent un état de polarisation circulaire droite et à gauche respectivement. Les points situés sur l'équateur correspondent à des états de polarisation linéaires. Un point H choisi arbitrairement sur l'équateur désigne une polarisation linéaire horizontale. L'axe qui passe par le centre de la sphère et le point H correspond à la composante  $S_1$  du vecteur de Stokes. Deux états de polarisation orthogonaux sont représentés par deux points diamétralement opposés. Ainsi le point V représente un état de polarisation linéaire verticale. Un point,  $I_p$ , arbitraire sur la surface de la sphère de Poincaré est caractérisé par les coordonnées sphériques ( $2\psi$ ) et ( $2\chi$ ) avec  $-180^\circ \leq 2\psi \leq 180^\circ$  et  $-90^\circ \leq 2\chi \leq 90^\circ$  (DOP=1). Les angles  $\psi$  et  $\chi$  utilisés ici pour définir les coordonnées sphériques, sont les mêmes que ceux utilisés sur l'ellipse de polarisation pour définir l'azimut et l'ellipticité respectivement. Dans la figure I.4 l'ellipse de polarisation est représentée à nouveau à côté de la sphère de Poincaré pour mettre en évidence l'équivalence qui existe entre ces deux représentations de la lumière polarisée. Par convention, la coordonnée sphérique azimutale sur la sphère de Poincaré est positive partant en direction contraire au sens de la montre depuis l'axe  $S_1$  où se trouve la polarisation linéaire H. La coordonnée sphérique polaire est définie positive en partant en direction contraire au sens de la montre vers le pôle nord à partir de l'équateur de la sphère.

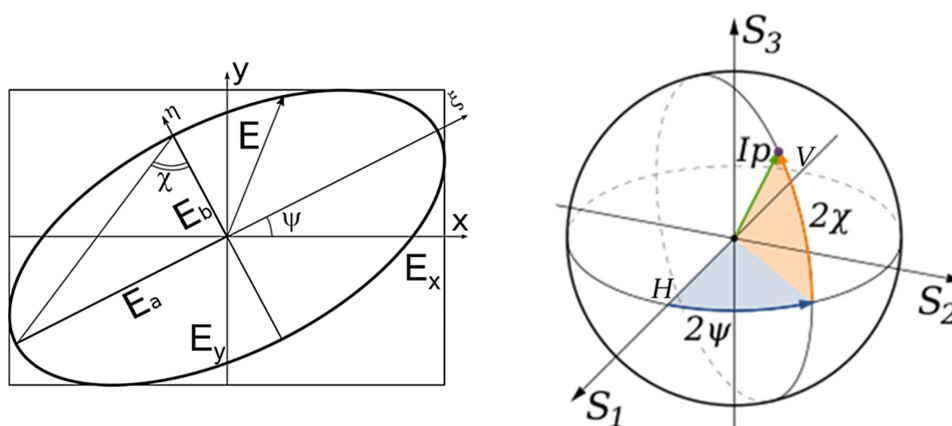


Figure I.4. A droite, ellipse de polarisation montrant les angles représentant son azimut,  $\psi$ , et son ellipticité,  $\chi$ . A gauche, sphère de Poincaré, avec les axes  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , ainsi que les coordonnées sphériques azimutale et polaire déterminées par l'azimut,  $\psi$ , et d'ellipticité,  $\chi$ . Les états linéaires horizontal, H, et vertical, V, sont aussi représentés.

Ainsi le vecteur de Stokes d'un état de polarisation arbitraire d'un faisceau lumineux peut être exprimée en fonction de son DOP, son azimut,  $\psi$ , et son ellipticité,  $\chi$ :

$$\begin{pmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{pmatrix} = S_0 \cdot DOP \begin{pmatrix} 1 \\ \cos 2\chi \cos 2\psi \\ \cos 2\chi \sin 2\psi \\ \sin 2\chi \end{pmatrix} \quad (1.8)$$

## I.2. La Matrice de Mueller

C'est dans les années 1948 que Mueller a utilisé le formalisme de Stokes pour décrire la modification apportée par un système optique sur un vecteur de Stokes incident sous la forme d'une matrice 4x4 appelée matrice de Mueller  $\mathbf{M}$  [3] :

$$\mathbf{S}_{out} = \mathbf{M} \mathbf{S}_{in} \quad (1.9)$$

$\mathbf{S}_{out}$  et  $\mathbf{S}_{in}$  sont les vecteurs de Stokes présentant respectivement l'état de la polarisation de la lumière à la sortie et à l'entrée du système optique. La matrice qui représente la transformation de la polarisation du faisceau produite au cours du processus d'interaction avec système optique traversé, s'appelle matrice de Mueller,  $\mathbf{M}$ , et est généralement exprimée comme :

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} & m_{13} & m_{14} \\ m_{21} & m_{22} & m_{23} & m_{24} \\ m_{31} & m_{32} & m_{33} & m_{34} \\ m_{41} & m_{42} & m_{43} & m_{44} \end{bmatrix} \quad (1.10)$$

Cette matrice  $\mathbf{M}$  tient son importance aussi de pouvoir décrire les échantillons dépolarisantes ou inhomogènes, Il convient de noter que  $\mathbf{M}$  ne dépend pas seulement des caractéristiques du matériau, mais également de la longueur d'onde, de la direction du faisceau incident et de la direction de sortie du faisceau [5,7,8]. Expérimentalement afin de relier directement différentes matrices de Mueller avec les propriétés du matériau et ses structures physiques, la longueur d'onde, la direction incidente et la direction de sortie du faisceau sont généralement fixées. Dans ce cas, les matériaux peuvent être différenciés et classés en fonction de leur comportement polarimétrique. Ce comportement peut être décrit comme la combinaison de trois propriétés polarimétriques: la diatténuation-polarisation (dichroïsme), le retard (biréfringence) et la dépolarisation.

Généralement pour vérifier que la matrice de Mueller soit physiquement réalisable, certains critères doivent être satisfaits. Tout d'abord, il doit produire à la sortie un vecteur de Stokes dont le ( $DOP$ ) satisfait la condition inférieure ou égale à 1. Deuxièmement, la condition suivante doit être satisfaite pour un système passif [9]

$$tr(\mathbf{M}\mathbf{M}^t) = \sum_{i,j=1}^4 m_{ij}^2 \leq 4 m_{11}^2 \quad (1.11)$$



Où  $tr$  signifie la trace d'une matrice et l'exposant,  $t$ , indique la transposition d'une matrice. En outre, la condition suivante doit également être satisfaite en même temps que les deux conditions précédentes :

$$|m_{ij}| \leq m_{11} \quad (1.12)$$

For  $i, j = 1, \dots, 4$ . Cela signifie qu'aucun élément de la matrice de Mueller ne peut être plus grand que  $m_{11}$ . La matrice de Mueller est essentiellement une fonction de transfert linéaire, Ainsi La matrice de Mueller d'un système optique s'obtient simplement par multiplication matricielle des matrices de Mueller de ses constituants :

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_n \cdot \mathbf{M}_{n-1} \dots \mathbf{M}_2 \cdot \mathbf{M}_1 \quad (1.1)$$

Un des intérêts de la représentation vectorielle de la polarisation est qu'elle permet de représenter tout élément optique par des matrices de Mueller, qui transforment les vecteurs de Stokes. Les vecteurs de Stokes sont orientés suivant un repère d'entrée et un repère de sortie par rapport à la matrice de Mueller de l'échantillon (ou du système optique). On choisit de se référer par rapport au plan d'incidence de l'échantillon. Toute autre orientation se déduit par l'intermédiaire d'une matrice de rotation  $R(\theta)$  :

$$\mathbf{R}(\theta) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos 2\theta & \sin 2\theta & 0 \\ 0 & -\sin 2\theta & \cos 2\theta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (1.14)$$

Tel que  $\theta$  est l'angle par rapport le plan d'incidence et par l'équation suivante :

$$\mathbf{M}(\theta) = \mathbf{R}(-\theta) \mathbf{M} \mathbf{R}(\theta) \quad (1.15)$$

Où  $M$  représente la matrice de Mueller de l'échantillon dans son axe propre.

## I.3. Les Propriétés Polarimétriques Fondamentales

D'une manière générale, la réponse polarimétrique d'un échantillon donné décrit comment la polarisation de la lumière incidente est modifiée en raison de l'interaction avec l'échantillon. Pour analyser cette modification qu'elle pourrait se produire par différents instruments optiques et tissus biologiques, il est donc nécessaire de décrire les différents effets qui peuvent modifier la polarisation. Les trois principaux effets (ou modifications) sont le retard de phase, la diatténuation et la dépolarisation.

### I.3.1. Retard et Biréfringence

Un milieu biréfringent a un indice de réfraction  $n$  différent selon l'état de polarisation et la direction de propagation de la lumière. Cette différence introduit ce qu'on appelle la phase retard entre deux états de polarisation orthogonaux.

L'effet de retard de phase le plus courant est le retard de phase linéaire, qui est généralement associé à un matériau cristallin uniaxial. Ce matériau a un seul axe appelé axe optique qui détermine l'anisotropie de l'échantillon. La direction de la propagation de la lumière joue un rôle essentiel. Si la lumière se propage parallèlement à l'axe optique (axe optique //  $\vec{k}$ ), la polarisation de la lumière n'est pas modifiée et le faisceau subit un indice de réfraction  $n_o$ , dit ordinaire. Cependant, si l'axe optique est perpendiculaire à la direction de propagation alors la composante du champ électrique aligné avec l'axe optique subira un indice de réfraction différent  $n_e$ , dit extraordinaire. Le faisceau subira au total un retard de phase  $\delta_l$  défini comme [10] :

$$\delta_l = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta n l \quad (1.16)$$

Où  $\Delta n = n_e - n_o$  est la biréfringence et  $l$  est la distance parcouru dans le matériau. Les deux axes différents sont appelées axe rapide et lent en fonction de l'indice de réfraction est le plus élevé. Si  $n_e < n_o$  alors l'axe extraordinaire est l'axe rapide car la lumière se propagera plus rapidement à travers elle en raison de l'indice de réfraction inférieur, et d'après l'équation (1.16), nous constatons que plus l'épaisseur  $l$  du matériau est élevée, plus le retard est important. La figure 1.5 présente schématiquement l'effet du retard linéaire sur les composantes orthogonales d'une onde électromagnétique.

Il est à signaler que la biréfringence dépend de la longueur d'onde et du matériau avec lequel le retardateur est fabriquée, ainsi il est si important de tenir en compte le type du matériau utilisée pour concevoir les lames des parties polarimétrique surtout dans le cas d'une application de large domaine spectral comme le notre dans ce projet de thèse. De nombreux matériaux et cristaux présentent une biréfringence, comme par exemple le quartz et la calcite. Lorsqu'un cristal n'a pas de propriété directionnelle spécifique, la structure cristalline est appelée matériau isotrope tel qu'une structure cubique (comme par exemple **NaCl**).

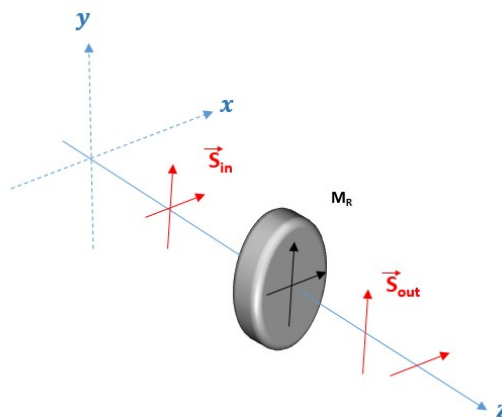


Figure 1.5. Représentation schématique de l'action d'un retardateur sur deux composantes perpendiculaires d'une onde électromagnétique.

La matrice de Mueller d'un retardateur linéaire orientée selon un angle  $\theta$  et un déphasage  $\delta_l$  est :

$$M_{\delta_l}(\theta, \delta_l) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos^2 2\theta + \sin^2 2\theta \cos \delta_l & \sin 2\theta \cos 2\theta (1 - \cos \delta_l) & -\sin 2\theta \sin \delta_l \\ 0 & \sin 2\theta \cos 2\theta (1 - \cos \delta_l) & \sin^2 2\theta + \cos^2 2\theta \cos \delta_l & \cos 2\theta \sin \delta_l \\ 0 & \sin 2\theta \sin \delta_l & -\cos 2\theta \sin \delta_l & \cos \delta_l \end{bmatrix} \quad (1.17)$$

Le tableau 2 regroupe quelques exemples de matrices de Mueller courantes de retardateurs linéaires :

Une lame demi-onde orientée à 0°	Une lame quart d'onde orientée à 0°	Un retardateur linéaire de retard $\delta$ , orientée à 0°	Un retardateur linéaire de retard $\delta$ , orientée à 45°
$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \cos \delta_l & \sin \delta_l \\ 0 & 0 & -\sin \delta_l & \cos \delta_l \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \delta_l & 0 & -\sin \delta_l \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & \sin \delta_l & 0 & \cos \delta_l \end{bmatrix}$

Tableau 2. Matrices de Mueller courantes de retardateurs linéaires.

L'orientation d'un retardateur linéaire peut être déterminée expérimentalement de la matrice de Mueller mesurée via la relation suivante :

$$\theta = \arctan \left( -1 * \left( \frac{M_{\delta l 24}}{M_{\delta l 34}} \right) \right) \quad (1.18)$$

Une fois  $\theta$  est déterminée, nous pouvons calculer le retard via la relation suivante :

$$\delta_l = \arctan \left( \left( \frac{M_{\delta l 34}}{M_{\delta l 44}} \right) / \cos(2\theta) \right) \quad (1.19)$$

Un retardateur idéal pourrait généralement être exprimé comme :

$$\mathbf{M}_R = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^t \\ \vec{0} & m_R \end{bmatrix} \quad (1.20)$$

Tel que  $\vec{0}$  désigne un vecteur zéro 3x1.  $m_R$  est une sous-matrice 3x3 définie comme [14] :

$$m_{R(ij)} = \delta_{ij} \cos R + a_i a_j (1 - \cos R) + \sum_{k=1}^3 \epsilon_{ijk} a_k \sin R \quad i, j = 1, 2, 3$$

Le  $\epsilon_{ijk}$  est le signe de permutation Levi-Civita et le  $\delta_{ij}$  représente le delta de Kronecker.

$R$  est le retard scalaire.  $\mathbf{R}$  est la norme associée au vecteur de retard défini comme :

$$R = R \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \delta_H \\ \delta_{45} \\ \delta_C \end{bmatrix} \quad (1.21)$$

Tel que les  $a_1, a_2$  et  $a_3$  sont défini comme :

$$a_1 = \frac{1}{2 \sin R} (m_{R23} - m_{R32}) \quad a_2 = \frac{1}{2 \sin R} (m_{R31} - m_{R13}) \quad a_3 = \frac{1}{2 \sin R} (m_{R12} - m_{R21})$$

### I.3.1. Diatténuation et Dichroïsme

La diatténuation est l'effet que les états orthogonaux de la lumière polarisée sont absorbée en différentes quantités par un milieu indiqué par les facteurs d'amplitude  $p_1$  et  $p_2$ . Un tel milieu est appelé diatténuateur s'il ne présente que de la diatténuation et aucun autre effet polarimétrique. La diatténuation est le plus souvent associée aux polariseurs mais peut également se produire lors de la réflexion d'une interface ou par diffusion de particules. La diatténuation,  $D$ , est définie comme [5,7,10] :

$$D = \frac{p_1^2 - p_2^2}{p_1^2 + p_2^2} = \frac{T_{max} - T_{min}}{T_{max} + T_{min}} \quad (1.22)$$

Où  $p_1^2 = T_{max}$  est l'état polarisé orthogonal d'intensité maximale et  $p_2^2 = T_{min}$  étant l'état d'intensité la plus faible. Si  $D = 1$ , c'est-à-dire  $T_{min} = 0$ , l'atténuation d'un état est parfaitement éliminée, ce qui polarise complètement linéairement le faisceau. Un tel milieu est appelé polariseur parfait ou, plus brièvement, polariseur. Entre  $0 < D < 1$  le composant est appelé polariseur partiel. Si  $D = 0$  alors le composant absorbe la lumière de manière égale pour les deux états de lumière polarisée et le composant est appelé un filtre de densité neutre. Le cas particulier de la diatténuation linéaire illustré schématiquement sur la figure I.6, est associé à une atténuation différente de deux états de polarisation linéaires orthogonaux.

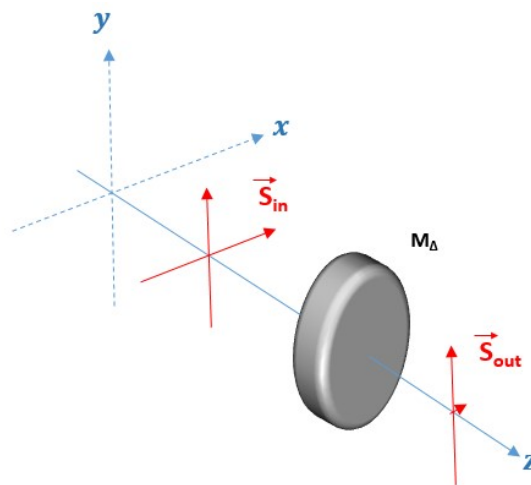


Figure I.6. Représentation schématique de l'action d'un diatténuateur linéaire sur deux composantes perpendiculaires d'une onde électromagnétique.

La matrice de Mueller générale d'un polariseur orientée à un angle  $\theta$  :

$$M_p = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & \cos 2\gamma \cos 2\theta & \cos 2\gamma \sin 2\theta & 0 \\ \cos 2\gamma \cos 2\theta & \cos^2 2\theta + \sin 2\gamma \sin^2 2\theta & (1 - \sin 2\gamma) \sin 2\theta \cos 2\theta & 0 \\ \cos 2\gamma \sin 2\theta & (1 - \sin 2\gamma) \sin 2\theta \cos 2\theta & \sin^2 2\theta + \sin 2\gamma \cos^2 2\theta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \sin 2\gamma \end{bmatrix} \quad (1.23)$$

En (1.23), On note que  $\gamma = 0^\circ, 45^\circ,$  et  $90^\circ$  correspondent à un polariseur horizontal linéaire, un filtre à densité neutre et un polariseur vertical linéaire, respectivement. Le tableau 3, montre quelques matrices de Mueller courantes :

Polariseur linéaire idéal orienté à $0^\circ$	Polariseur linéaire idéal orienté à $90^\circ$	Polariseur linéaire idéal orienté à $45^\circ$
$\frac{1}{2} \cdot \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	$\frac{1}{2} \cdot \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	$\frac{1}{2} \cdot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$

Tableau 3 : Matrices de Mueller courantes de diatténuateurs linéaires.

En (1.24), Nous déduisons de la matrice (1.23) une relation pratique pour l'utilisation expérimentale dans le calcul de l'angle de l'orientation du polariseur ( $\theta$ ) :

$$\theta = \left( \arctan \left( \frac{M_{p13}}{M_{p12}} \right) \right) / 2 \quad (1.24)$$

La matrice de Mueller d'un diatténuateur idéal  $\mathbf{M}_D$  peut être définie comme :

$$\mathbf{M}_D = \tau \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^t \\ \vec{D} & m_D \end{bmatrix} \quad (1.25)$$

Tel que  $\tau$  montre la transmittance totale ou la réflectivité de l'échantillon lorsque la lumière incidente est parfaitement dépolarisée. Et  $\vec{D}$  est le vecteur de diatténuation tel que :

$$\vec{D} = \frac{1}{m_{D11}} \begin{bmatrix} m_{D12} \\ m_{D13} \\ m_{D14} \end{bmatrix} = D \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \end{bmatrix} \quad (1.26)$$

Et où  $m_D$  est une sous-matrice 3x3 :

$$m_D = \sqrt{1 - D^2} * I_3 + (1 - \sqrt{1 - D^2}) * \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a & b & c \end{bmatrix} \quad (1.27)$$

Il est possible d'extraire les différents types de paramètres de diatténuation de  $\vec{D}$  défini comme :

$$\vec{D} = \begin{bmatrix} D_H \\ D_{45} \\ D_C \end{bmatrix} \quad (1.28)$$

Où  $D_H, D_{45}$  et  $D_C$  sont les diatténuations à orientation différente et d'état polarisé.  $D_H$  et  $D_{45}$  sont des diatténuations linéaires entre les états linéaires orientés à  $0^\circ$  et  $90^\circ, 45^\circ$  et  $135^\circ$  respectivement.  $D_C$  est la diatténuation entre la lumière polarisée circulaire gauche et droite. Ces paramètres peuvent être dérivés de la façon suivante :

$$D_H = \frac{T_H - T_V}{T_H + T_V} = \frac{M_{12}}{M_{11}}, \quad D_{45} = \frac{T_{45} - T_{135}}{T_{45} + T_{135}} = \frac{M_{13}}{M_{11}}, \quad D_C = \frac{T_{RC} - T_{LC}}{T_{RC} + T_{LC}} = \frac{M_{14}}{M_{11}},$$

A partir de  $\vec{D}$ , la diatténuation scalaire  $D$  peut être extraite sous la forme :

$$D = \sqrt{D_H^2 + D_{45}^2 + D_C^2} \quad (1.29)$$

Généralement, si la première ligne et la première colonne de la matrice de Mueller sont différentes de zéro, une diatténuation est probablement présente dans l'échantillon.

### I.3.3. Polarizance

La polarizance est la capacité à transformer la lumière non polarisée en lumière polarisée. En d'autres termes, La polarizance augmente le DOP d'une lumière incidente non polarisée ou partiellement polarisée. Lorsque la lumière incidente non polarisée traverse l'échantillon, le vecteur de Stokes est exprimé comme ci-dessous,

$$S_{out} = M \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_{11} \\ M_{21} \\ M_{31} \\ M_{41} \end{bmatrix} \quad (1.30)$$

La polarizance scalaire,  $P$ , peut être décrite avec le DOP du vecteur de Stokes de sortie comme ci-dessous,

$$P = \frac{1}{m_{11}} \sqrt{M_{21}^2 + M_{31}^2 + M_{41}^2} \quad (1.31)$$

Ensuite, le vecteur de polarizance,  $\mathbf{P}$ , peut être exprimé comme ci-dessous,

$$P = \frac{1}{m_{11}} \begin{bmatrix} M_{21} \\ M_{31} \\ M_{41} \end{bmatrix} \quad (1.32)$$

En général, le vecteur de diatténuation,  $D$ , et le vecteur de polarizance,  $P$ , sont égaux lorsque le système est homogène. Cependant, lorsque le système est inhomogène, les  $D$  et  $P$  ne le sont pas.

### I.3.4. Dépolarisation

La dépolarisation est une propriété liée à la transformation de la lumière polarisée en lumière complètement non polarisée ou en lumière partiellement polarisée. Les dépolariseurs purs ne laissent aucun état de polarisation invariant. Ils font des états parfaitement dépolarisés avec une diminution du DOP défini dans (Equation 1.7). Pour les états totalement polarisés, DOP devient 1 et DOP devient 0 pour une lumière complètement non polarisée. Par conséquent, le DOP est compris entre 0 et 1 pour une lumière partiellement polarisée. Ainsi après avoir passé une lumière elliptiquement polarisée via le dépolariseur, le mouvement du champ électrique est altéré et le mouvement ne plus décrit une ellipse parfaitement défini comme le montre la figure 1.7.

De multiples facteurs peuvent créer une dépolarisation, une fluctuation temporelle ou spatiale, une variation spectrale, ou une diffusion (Scattering) par des particules [5-7]. La dépolarisation temporelle se produit lorsque l'état de polarisation fluctue dans le temps beaucoup plus rapidement que le temps d'intégration du détecteur. Les fluctuations temporelles seront donc moyennées ensemble, ce qui signifie que les intensités mesurées à différentes polarisations auront la même valeur. Par conséquent, le DOP est réduit.

En ce qui concerne la dépolarisation spatiale, il s'agit de la dépolarisation liée à la taille du récepteur qu'il soit le détecteur ou la composante de base le pixel, en réduisant la taille de récepteur nous arrivons à réduire ce type de dépolarisation.

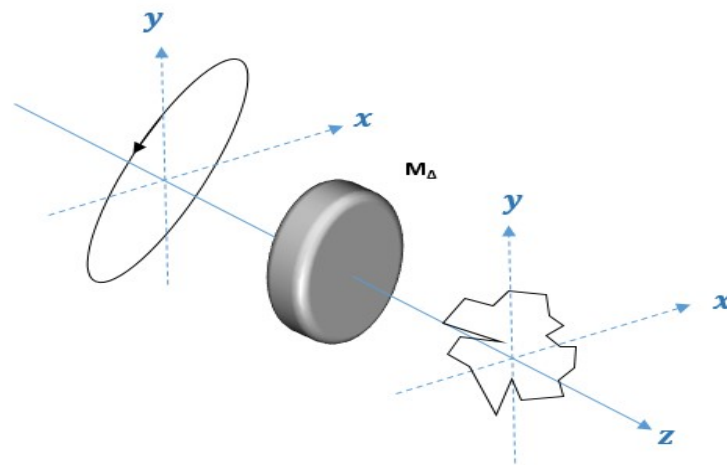


Figure 1.7. Représentation schématique de l'action d'un dépolariseur pur sur deux composantes perpendiculaires d'une onde électromagnétique.

Quant à la dépolarisation spectrale se produit lorsqu'un faisceau lumineux contient plusieurs longueurs d'onde dans une certaine plage spectrale, chaque longueur d'onde ayant chacune un état de polarisation différent. Si le domaine spectral est ensuite détecté sur une caméra, il apparaîtra dépolarisé, en fonction de la variation des états polarisés dans le domaine spectral. La dépolarisation spectrale est généralement associée à la biréfringence et peut se produire si une large gamme spectrale est utilisée, Si un milieu est fortement dépolarisant spectralement, le spectre peut être rétréci pour réduire son impact en utilisant par exemple un filtre. Pour éliminer la dépolarisation spectrale, un laser peut être utilisé car sa bande passante est très étroite. En effet afin d'éliminer ce type de dépolarisation, lors de concevoir le microscope polarimétrique infrarouge sur un large domaine spectral, je me suis pris soin de bien concevoir et choisir les retardateurs qui fournissent une biréfringence proche vue "égale" autant que possible sur toutes le domaine spectral visée. La matrice de Mueller d'un dépolariseur  $M_{\Delta}$  idéale peut être exprimée comme :

$$M_{\Delta} = \begin{bmatrix} 1 & 0^t \\ 0 & m_{\Delta} \end{bmatrix} \quad (1.33)$$

Où,  $m_{\Delta}$  est la forme réduite 3x3 de la matrice de dépolarisation. Explicitement, cette matrice peut être écrit comme une matrice diagonale :

$$\mathbf{M}_\Delta = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a & 0 & 0 \\ 0 & 0 & b & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c \end{bmatrix} = \text{diag}(1, a, b, c), |a|, |b|, |c| \leq 1 \quad (1.34)$$

Où  $a$ ,  $b$  et  $c$  sont les facteurs de dépolariation et **diag** représente la matrice diagonale. Il y a trois cas possibles pour  $a$ ,  $b$  et  $c$ , qui décrivent différents cas de dépolariation :

\*  $a = b = c = 0$ ,  $\mathbf{M}_\Delta$  est un dépolariateur parfait, tout état polarisé est complètement dépolarié.

\*  $a = b = c \neq 0$ ,  $\mathbf{M}_\Delta$  est un dépolariateur partiel, tout état polarisé est uniformément dépolarié.

\*  $a \neq b \neq c$ ,  $\mathbf{M}_\Delta$  est un dépolariateur non uniforme, la dépolariation dépend de l'état incident.

La puissance totale de dépolariation est définie comme [14] :

$$\Delta = 1 - \frac{|a|+|b|+|c|}{3} \quad (1.35)$$

Et est utilisé pour estimer de manière Initiale et directe le degré de dépolariation d'une matrice de Mueller.

## I.4. Décomposition Logarithmique ou Différentielle

La matrice de Mueller elle-même est complexe pour illustrer les propriétés polarimétriques directement. Certaines méthodes ont été proposées pour extraire les propriétés polarimétriques de la matrice de Mueller, appelée décomposition matricielle de Mueller. La décomposition a été classée et doit être considérée correctement en fonction du type d'échantillons étudiés. Pour ce projet de thèse, j'ai utilisé la méthode dite la décomposition logarithmique (différentielle) grâce à sa compatibilité avec la configuration en transmission sous laquelle le microscope polarimétrique est actuellement configuré.

Une décomposition logarithmique ou différentielle convient pour décrire des échantillons uniformes dans lesquels les propriétés de polarisation et de dépolariation apparaissent ensemble et sont bien distribuées à travers l'échantillon en configuration de transmission. Le premier formalisme de décomposition logarithmique a été suggéré pour les milieux linéaires optiquement anisotropes (non dépolariants) par P. Soleillet [11] en 1929, puis reformulé par R. M. A. Azzam [12] pour la lumière complètement polarisée et il a été complété pour les milieux dépolariants par R. Ossikovski [13]. Une révision historique intéressante du développement du concept menant à la formulation complète moderne de la décomposition logarithmique a été faite récemment par O. Arteaga [14]. La décomposition logarithmique concerne les échantillons, qui ne sont pas des systèmes discrets, mais plutôt des milieux continus et homogènes, comme l'exprime l'équation suivante et la figure I.8.



$$\frac{dM(z)}{dz} = m \cdot M(z) \quad (1.36)$$

Où  $m$  est une matrice de Mueller différentielle,  $M(z)$  est la matrice de Mueller de l'échantillon anisotrope,  $dM(z)/dz$  est un gradient de  $M$  le long de la direction de propagation de la lumière,  $z$ .

La matrice de Mueller,  $M(z)$ , peut être représentée par la fonction exponentielle comme ci-dessous,

$$\mathbf{M}(z) = \exp(\mathbf{m} \cdot z) \quad (1.37)$$

Et peut-être réécrit pour définir le logarithme de la Matrice de Mueller,  $L$ , comme ci-dessous,

$$\mathbf{m} \cdot z = \ln(\mathbf{M}(z)) \quad (1.38)$$

La matrice différentielle de Mueller,  $\mathbf{m}$ , contient les propriétés polarimétriques élémentaires de l'échantillon par unité de distance ; dichroïsme linéaire le long des axes de coordonnées  $x$ - $y$  de  $0^\circ$ - $90^\circ$ (LD), dichroïsme linéaire le long des axes  $x$ - $y$   $45^\circ$ - $135^\circ$ (LD'), dichroïsme circulaire (CD), biréfringence linéaire le long des axes  $x$ - $y$   $0^\circ$ - $90^\circ$ (LB), biréfringence linéaire le long des bissectrices des axes  $x$ - $y$  de  $45^\circ$ - $135^\circ$ (LB'), biréfringence circulaire (CB) et absorption isotrope ( $\alpha$ ).

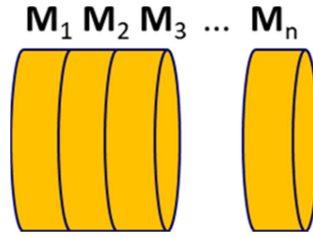


Figure 1.8. Représentation schématique d'un milieu homogène divisé en un nombre arbitraire de portions. Chaque portion est représentée par une matrice de Mueller propre. Lorsque l'épaisseur de chacune de ces portions devient infiniment petite la transformation de la matrice de Mueller d'une couche à l'autre est continue.

Pour des milieux dépolarisants, on peut supposer que les valeurs de la matrice différentielle de Mueller fluctuent aléatoirement autour d'une valeur moyenne,  $\langle m \rangle$ . Les parenthèses représentent une moyenne statistique des matrices, nécessaire pour considérer les multiples réalisations, ou chemins qu'un photon peut suivre à travers l'échantillon. Les fluctuations peuvent être interprétées comme les variances statistiques des propriétés polarimétriques élémentaires,  $\Delta m$ , de l'échantillon comme ci-dessous,

$$\mathbf{m}_f = \langle \mathbf{m} \rangle + \Delta \mathbf{m} \quad (1.39)$$

En supposant que les fluctuations sont suffisamment faibles et aléatoires, une approximation de premier ordre reliant la matrice de Mueller à l'exponentielle de la matrice  $m$  multipliée par l'épaisseur,  $z$ , conduit à l'expression suivante reliant les propriétés de polarisation et de dépolarisation aux matrices et  $\langle \Delta m \rangle$ , respectivement,

$$L(z) = \mathbf{L}_m(z) + \mathbf{L}_u(z) = \langle \mathbf{m} \rangle z + \frac{1}{2} \langle \Delta \mathbf{m}^2 \rangle z^2 \quad (1.40)$$

Les matrices  $L_m$  et  $L_u$  sont les parties G-antisymétriques et G-symétriques de  $L$  selon,

$$\mathbf{L}_m = \frac{1}{2}(\mathbf{L} - \mathbf{G}\mathbf{L}^T\mathbf{G}) ; \mathbf{L}_u = \frac{1}{2}(\mathbf{L} + \mathbf{G}\mathbf{L}^T\mathbf{G}) \quad (1.41)$$

Dans laquelle  $\mathbf{G} = \text{diag}(1, -1, -1, -1)$  est la matrice métrique de Minkowski.

Si l'échantillon est non-dépolarisant,  $\langle \Delta \mathbf{m}^2 \rangle = 0$  de sorte que le  $\mathbf{L}_u = 0$  laissant  $\mathbf{L}(z) = \mathbf{L}_m$ . La matrice  $\mathbf{L}_m$  contient les propriétés de polarisation élémentaires de l'échantillon ; LD, LD', CD, LB, LB' et CB, évoluant linéairement le long de l'axe z comme indiqué ci-dessous :

$$\mathbf{L}_m = \begin{bmatrix} 0 & LD & LD' & CD \\ LD & 0 & CB & -LB' \\ LD' & -CB & 0 & LB \\ CD & LB' & -LB & 0 \end{bmatrix} \quad (1.42)$$

Cependant, si l'échantillon est dépolarisant,  $\langle \Delta \mathbf{m}^2 \rangle \neq 0$  et les éléments diagonaux de  $\mathbf{L}_u$  montrent les coefficients de dépolarisation,  $\text{diag}(\mathbf{L}_u) = (0, \alpha_1, \alpha_2, \alpha_3)$ , qui dépendent quadratiquement de la distance de propagation le long de z.

## Bibliographie

- [1] R. C. Jones, A New Calculus for the Treatment of Optical Systems I Description and Discussion of the Calculus, J. Opt. Soc. Am. (1941). DOI: 10.1364/JOSA.31.000488.
- [2] G. G. Stokes, On the composition and resolution of streams of polarized light from different sources, Trans. Cambridge Philos. Soc. (1852). DOI: 10.1017/CBO9780511702266.010.
- [3] H. Mueller, "The foundation of optics," (abstract) J. Opt. Soc. Am. 38 (1948) 661. DOI 10.1364/JOSA.38.000657.
- [4] N. G. Parke, "Optical Algebra," J. Math. Phys. (1949).
- [5] D. H. Goldstein, Polarized Light, 3rd Ed. (CRC Press, 2011).
- [6] R.A. Chipman, Polarimetry, in, Handbook of Optics vol 2, 2nd ed. M Bass New York McGraw-Hill ch 22 (1995).
- [7] E. Garcia-Caurel, R. Ossikovski, M. Foldyna, A. Pierangelo, B. Drévilion, and A. De Martino, Advanced Mueller Ellipsometry Instrumentation and data analysis, in Ellipsometry at the Nanoscale, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (2013), pp. 31–143.
- [8] J. J. Gil Pérez and R. Ossikovski, Polarized Light and the Mueller Matrix Approach, 1st Ed. (CRC Press, 2016).
- [9] J.J. Gil and E. Bernabeu, A depolarization criterion in Mueller matrices, Opt. Acta 32 (1985) 259. DOI: 10.1080/713821732.
- [10] R. Chipman, W.-S. T. Lam, G. Young, Polarized Light and Optical Systems, CRC Press (2019).
- [11] P. Soleillet, Sur les paramètres caractérisant la polarisation partielle de la lumière dans les phénomènes de fluorescence. Ann. Phys. (Paris). 10 (1929) 23–97. DOI:

10.1051/anphys/192910120023.

[12] R.M.A. Azzam, Propagation of partially polarized light through anisotropic media with or without depolarization: A differential  $4 \times 4$  matrix calculus, *Opt. Soc. Am.* 68 (1978) 1756. DOI: 10.1364/JOSA.68.001756

[13] R. Ossikovski, Differential matrix formalism for depolarizing anisotropic media, *Opt. Lett.* 36 (2011) 2330–2332. DOI: 10.1364/OL.36.002330.

[14] O. Arteaga, Historical revision of the differential Stokes–Mueller formalism: discussion, *J. Opt. Soc. Am. A* 34 (2017) 410. DOI: 10.1364/JOSAA.34.000410.

# Chapitre II. Microscope Polarimétrique Multimodal : Description Instrumentale

## Introduction

L'objet de la thèse porte sur le développement d'instrument fonctionnel d'un microscope infrarouge polarimétrique multimodal imageur en partenariat avec la ligne de lumière infrarouge SMIS du synchrotron Soleil. La multi-modalité du microscope s'explique par le fait qu'il est capable d'obtenir des images polarimétriques selon deux modes d'imagerie : images dans le plan réel (objet) de l'échantillon, et images dans le plan de Fourier (espace conjugué) et dans différents domaines spectraux dont le visible, le proche infrarouge et le moyen infrarouge. La fonction polarimétrique du microscope est le fait qu'il permet la mesure des matrices de Mueller des échantillons examinées. L'encombrement total du microscope doit être relativement réduit de l'ordre de 1.2m de longueur, 1.2m de largeur et 1.5m d'hauteur afin de pouvoir être installé aisément dans un laboratoire conventionnel ou bien dans l'espace dédié à l'instrumentation d'une ligne de lumière synchrotron.

Ce chapitre est consacré à la description de plusieurs aspects qui caractérisent le microscope infrarouge, en premier lieu se trouve la description de tous les aspects liés à la polarimétrie. J'aborde en particulier une description du mode de fonctionnement d'un polarimètre utilisant un nombre d'états discret tant pour la génération comme pour l'analyse de la polarisation. La discussion sur l'instrumentation s'étend ensuite à la question de la possibilité de réaliser des mesures polarimétriques dans un domaine de longueurs d'onde très étendu allant de l'infrarouge moyen jusqu'au visible. Cette discussion porte sur les différentes possibilités que ont été explorées dans le cadre du travail de conception afin de déterminer la configuration la mieux adaptée pour réaliser des images polarimétriques polychromatiques pouvant couvrir un domaine spectral large. En plus des configurations décrites dans ce manuscrit, ce travail de conception polarimétrique a permis de définir une configuration et une méthode de pilotage tout à fait innovante pour le générateur d'états de polarisation et l'analyseur d'états de polarisation. Malheureusement il n'est pas possible de donner une description précise dans ce manuscrit des détails concernant cette innovation car le dépôt d'un brevet portant sur eux est en cours.

La deuxième partie du chapitre se consacre à la description de la partie optique du microscope, en particulier au mode d'éclairage et aux deux modes d'imagerie envisagés. La description inclut aussi une discussion sur le montage optique sélectionné pour le bras d'éclairage et de d'image respectivement. Le chapitre conclut avec une description de quelques éléments optiques et dispositifs qui caractérisent le microscope.

## II.1. Conception Polarimétrique : Choix Instrumentaux

De façon générale, la structure basique de tout polarimètre indépendamment qu'il soit imageur ou spectroscopique comprend cinq éléments essentiels : une source de radiation (monochromatique, ou spectrale), un bras d'entrée, l'échantillon à étudier au milieu, un bras de sortie, et un détecteur [1-3]. Par convention on appelle le bras d'entrée **PSG** (« Polarisation States Generator ») le générateur d'états de polarisation, et le bras de sortie **PSA** (« Polarisation States Analyser ») l'analyseur d'états de polarisation. En fonction des propriétés optiques des échantillons à examiner, les polarimètres peuvent être montés en configuration de transmission ou bien en configuration de réflexion. La figure II.1 montre de façon schématique ces cinq éléments dans un montage en configuration de transmission. Ce qui distingue un polarimètre par rapport à un autre, ce sont les caractéristiques de ces cinq éléments et les éléments optiques qui les constituent.

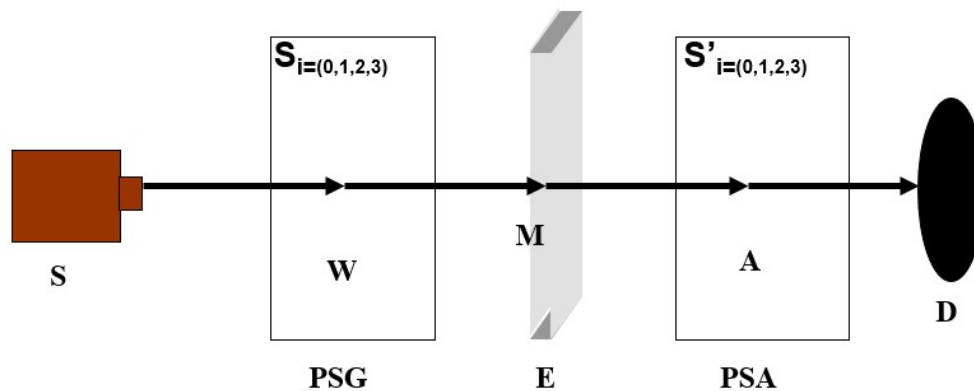


Figure II.1 : Schéma des éléments constituant un polarimètre.

Le faisceau de lumière passe à travers du **PSG** qui génère différents états de polarisation. Le faisceau est ensuite soit transmis, soit réfléchi par l'échantillon mesuré et traverse ainsi le **PSA** qui analyse les différents états de polarisation, pour finalement arriver au détecteur. Le **PSG** module le vecteur de Stokes du faisceau provenant de la source sur l'échantillon.

Par rapport avec la structure générale d'un polarimètre présentée dans la figure II.1, un microscope polarimétrique comporte inévitablement des objectifs (ou des systèmes optiques à grande magnification) pour pouvoir focaliser la lumière sur une petite aire de l'échantillon étudié et pour recueillir la lumière émise (ou renvoyée) par cette zone de l'échantillon. Compte tenu du fait qu'en général la distance de travail (i.e. la distance entre l'optique et l'échantillon) des objectifs de microscope est assez courte, moins d'un cm, il est impossible d'installer un PSG ou un PSA entre eux et l'échantillon. A cause de cette contrainte optique, on doit donc installer le PSG et le PSA, comme indiqué dans la figure II.2, derrière les objectifs de microscope [4-7].

Un des objectifs principaux de ce projet était de concevoir un polarimètre pouvant travailler sur une plage spectrale très large comprenant principalement le moyen infrarouge, avec des longueurs d'onde comprises entre 2 et 12  $\mu\text{m}$ , en considérant comme option l'éventuelle extension du domaine spectral au proche infrarouge et au visible, dont les longueurs d'onde sont comprises entre 2 et 0.4  $\mu\text{m}$ . Avant de déterminer la configuration finale du polarimètre, plusieurs aspects pratiques ont été

considérés, comme la disponibilité commerciale des éléments optiques, leur domaine spectral de transparence, leur encombrement et la simplicité de leur utilisation.

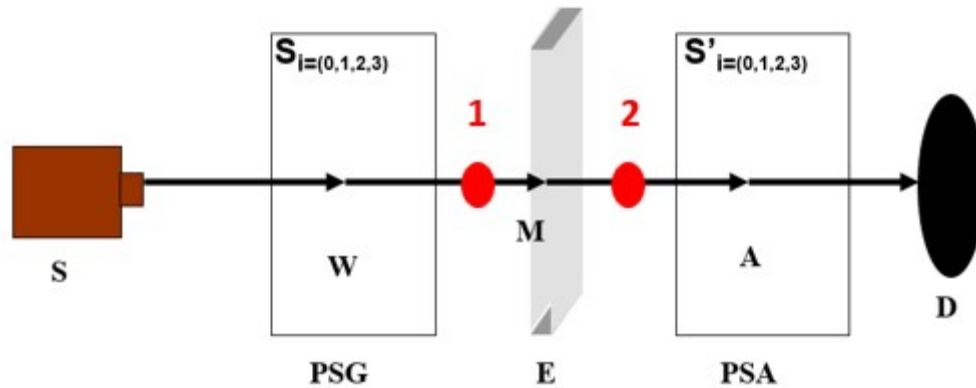


Figure II.2 : Schéma de la structure générale d'un polarimètre avec deux objectifs de microscope pour ajouter la fonctionnalité principale d'un microscope.

Les solutions les plus couramment utilisées pour construire des polarimètres multispectraux dans le domaine visible sont basées sur l'utilisation de polariseurs fixes et de retardateurs à cristaux liquides ou des lames biréfringentes [1-2].

L'intérêt des retardateurs à cristaux liquides est leur simplicité d'utilisation, leur faible encombrement en termes d'épaisseur ( $\sim 1$  cm), le fait qu'ils permettent une commutation du retard ou de l'axe optique assez rapide, typiquement de l'ordre de quelques ms, le fait qu'ils offrent des ouvertures optiques assez élevées, de l'ordre de quelques cm, les rendant idéales pour des applications d'imagerie avec des faisceaux faiblement divergents, et surtout le fait qu'ils n'ont pas besoin d'être tournés pendant l'opération du polarimètre, ce qui évite des déplacements du faisceau [8-9]. Cependant, les retardateurs à cristaux souffrent de trois inconvénients assez importants pour les applications visées dans cette thèse, leur dispersion chromatique assez élevée, leur domaine de transparence, limitée très souvent au visible et proche infrarouge, et leur sensibilité à des variations de température de moins d'un degré Celsius, qui fait qu'ils doivent être stabilisés et calibrés très régulièrement afin de garantir un fonctionnement optimal. Lorsqu'on souhaite travailler dans un domaine spectral étendu, la chromaticité des cristaux liquides peut être partiellement compensée soit en augmentant le nombre de dispositifs utilisés [10], soit en adaptant les paramètres de pilotage, c.à.d. le retard produit par ceux-ci, pour les différentes longueurs d'onde comprises dans le domaine de travail, ou bien pour différents sous-domaines spectraux de la plage de travail initiale. Cependant, ce mode de travail implique une complexification du mode de pilotage ou une démultiplication du nombre de mesures à réaliser en fonction de l'extension du domaine spectral visé. Le domaine de transparence des dispositifs à cristaux liquides est aussi une difficulté pour les exigences techniques de cette thèse. Etant constitués de molécules organiques, les dispositifs à cristaux liquides sont en général adéquats pour être utilisés dans le domaine visible et proche infrarouge, entre 0.45 et 1.4  $\mu\text{m}$ . Des dispositifs à cristaux liquides académiques ou commerciaux conçus pour travailler dans l'infrarouge moyen sont très rares, et même dans ce cas leur fenêtre spectrale est limitée entre 3.6 et 5.7  $\mu\text{m}$  [11-12]. Compte tenu de ces contraintes, et de la largeur du domaine spectral du travail du

microscope visé dans ce travail, l'utilisation d'un polarimètre basé sur des retardateurs à cristaux liquides obligerait à devoir utiliser plusieurs composants et à devoir les insérer dans le train optique du microscope, automatiquement ou manuellement, de manière successive afin de pouvoir couvrir une plage spectrale de travail suffisamment large allant de l'infrarouge moyen au visible. Cette opération rendrait l'opération du polarimètre assez complexe en termes d'instrumentation, d'encombrement, et aussi relativement peu dynamique à cause du nombre de mesures et de mouvements nécessaires pour son opération dans un domaine spectral large. En dépit des nombreux avantages offerts par les composants à cristaux liquides, le choix a été fait de ne pas les considérer pour ce travail à cause notamment des difficultés liées à leur opération précédemment décrites.

L'alternative classique la plus simple aux dispositifs à cristaux liquides est l'utilisation de lames de retard biréfringentes ou bien des prismes. Dans les deux cas, la modulation des états de polarisation dans le PSG ou dans le PSA se fait en tournant le retardateur selon un axe parallèle au faisceau de lumière en modifiant ainsi leur azimut. La rotation des retardateurs peut se faire soit d'une façon continue soit d'une manière séquentielle, ce qui mène à deux façons différentes de réaliser l'acquisition de données et de les traiter pour en déduire la matrice de Mueller de l'échantillon considéré. Dans le cas de la rotation continue, la vitesse angulaire du retardateur du PSA est un multiple entier supérieur ou égal à 5 [13 - 14] à la vitesse angulaire de rotation du retardateur du PSG.

Lorsque les retardateurs du PSG et du PSA sont tournés en continu, l'acquisition d'images ou de spectres se fait de façon synchrone au mouvement d'un des retardateurs qui sert de référence. La synchronie impose que l'acquisition d'images ou de spectres corresponde à des angles azimutaux des retardateurs séparés par des intervalles réguliers. Comme résultat on obtient une séquence de mesures d'intensité (images ou spectres) dont la variation peut être assez complexe mais qui se répète de manière régulière. La décomposition du signal ainsi mesuré en série de Fourier permet de déduire plusieurs coefficients dont la valeur dépend essentiellement des éléments de la matrice de Mueller de l'échantillon considéré [13,15]. Compte tenu du fait que la matrice de Mueller compte 16 éléments, le mode de rotation des compensateurs doit être choisi de façon adéquate afin que la série de Fourier obtenue à partir des mesures d'intensité permette de déterminer au moins autant d'harmoniques pour pouvoir permettre une évaluation numériquement stable du système d'équations linéaire qui relie les coefficients de Fourier aux éléments de la matrice de Mueller [14]. La méthode de modulation continue peut fournir des matrices de Mueller très précises et dans un intervalle de temps assez court grâce au principe de la détection synchrone, mais nécessite pour cela d'un système de détection pouvant travailler à des cadences assez élevées, et des moteurs assurant une rotation rapide des retardateurs.

Afin de donner une idée de ce qui représente la mise en place de la modulation continue, voici une estimation des caractéristiques d'un polarimètre fonctionnant sous ce principe conçu pour pouvoir mesurer une matrice de Mueller en 1 seconde. Une seconde n'est pas un temps exceptionnellement court, mais assez pour représenter une différence par rapport à une modulation discrète dont le temps typique de mise en œuvre pour la mesure d'une matrice de Mueller est de l'ordre de la minute. On supposera pour cet exemple la configuration la plus commune [14] avec un retardateur pour le PSA tournant cinq plus vite que le retardateur du PSG, une acquisition d'au moins 4 cycles complets afin d'assurer un calcul robuste de la transformée de Fourier et une réduction sommaire du bruit aléatoire par accumulation de mesures redondantes. En 1 seconde, le retardateur le plus lent

doit tourner deux fois (4 cycles) et le plus rapide 10 fois. Pendant ce temps, le détecteur doit réaliser au moins 64 acquisitions. Dans ces conditions, la vitesse angulaire du retardateur le plus rapide doit être de 10 Hz, et la cadence d'acquisition de données d'au moins 64 Hz. Ceci n'est qu'un exemple idéalisé supposant des conditions de mesure et d'acquisition très favorables. Dans la pratique, lorsque les données acquises par le détecteur sont bruitées, ce qui est particulièrement vrai pour des images dans le domaine infrarouge, un nombre de cycles supérieur à celui supposé dans l'exemple précédent serait nécessaire. Dans ces conditions, si on souhaite maintenir les temps d'une seconde pour obtenir une matrice de Mueller, la seule solution serait d'augmenter la vitesse de rotation des moteurs et la cadence d'acquisition d'images. Des motorisations précises permettant de tourner rapidement les éléments optiques existent, mais impliquent un surcoût non négligeable par rapport à des modèles standard, qui eux offrent typiquement des vitesses de rotation de l'ordre de 1 à 0.1 Hz. D'un autre côté, le traitement de données nécessite la réalisation d'une transformée de Fourier, la résolution d'un système d'équations, et doit pouvoir se faire en quelques secondes afin de rester comparable au temps d'acquisition. Dans le cas d'un polarimètre imageur utilisant une caméra comme détecteur, le traitement de données doit être répété pour chacun des pixels de la caméra, ce qui représente environ 75 000 itérations même pour un petit capteur typique de taille 320x240 pixels au format 1/3.

Compte tenu des incertitudes liées à la réalisation pionnière d'un microscope polarimétrique large bande dans l'infrarouge, du surcoût en complexité instrumentale et algorithmique qui représente la mise en œuvre de la méthode de modulation continue, en plus du fait que la nécessité de réaliser de mesures dans un temps court ne faisait pas partie du cahier de charges initial du projet, nous avons décidé de décliner l'utilisation de la méthode de modulation continue à la faveur de la méthode de modulation discrète qui sera décrite par la suite.

Le fait de souhaiter pouvoir travailler d'une façon simple sur une très large bande spectrale impose une série de contraintes sur la sélection des composants optiques susceptibles d'être utilisés comme éléments polarisants et retardateurs. L'option qui nous a semblé la plus naturelle, et celle que nous avons considéré en premier lieu consistait à considérer l'utilisation d'éléments optiques achromatiques à l'instar de ce qui avait été fait pour le développement d'un polarimètre spectroscopique non-imageur large bande dans l'infrarouge [16]. Dans un deuxième temps nous avons trouvé une stratégie tout à fait nouvelle de conception qui permet l'utilisation d'éléments optiques ordinaires, non forcément achromatiques, pour garantir un fonctionnement optimal du polarimètre dans une bande spectrale très étendue.

Par la suite nous décrivons la structure générale d'un polarimètre piloté et construit selon la méthode d'une modulation discrète. Nous décrivons aussi les détails qui caractérisent le cas particulier d'un microscope polarimétrique. Nous aborderons la description de la méthode objective qui permet la conception d'un polarimètre optimal pour minimiser la propagation du bruit et des erreurs expérimentaux vers la matrice de Mueller mesurée. Nous discuterons ensuite les deux stratégies considérées pour la conception du PSG et du PSA ; la première comportant des éléments optiques achromatiques et la deuxième avec des éléments optiques chromatiques.

La stratégie que nous avons finalement retenue pour l'implémentation du microscope est la deuxième, avec des éléments optiques chromatiques. Cependant comme la description des détails techniques liés à cette configuration fait partie du contenu d'un brevet actuellement en phase de



dépôt, nous ne pouvons pour l'instant la dévoiler ici. La description qui suit illustre une partie très significative de l'étude que nous avons réalisée afin de déterminer la meilleure configuration pour le microscope polarimétrique.

## II.1.2. Principe d'un polarimètre à modulation discrète

Dans un polarimètre à modulation discrète, le nombre d'états, tant côté génération comme analyse est comme le nom l'indique discret. D'après la littérature la génération et l'analyse d'états peut se réaliser d'une façon séquentielle ou parallèle. Dans un polarimètre séquentiel, les états de polarisation sont générés un à un suivant une séquence prédéterminée par le PSG. D'ailleurs, dans un tel polarimètre, chaque état généré par le PSG est analysé par le PSA en utilisant une succession de configurations d'analyse. Le temps de mesure est le résultat du temps requis par l'analyse par le PSA de chacun des états générés par le PSG. La parallélisation a pour objectif la diminution du temps requis pour réaliser l'ensemble de mesures nécessaires à l'obtention d'une matrice de Mueller ou d'un vecteur de Stokes en réalisant simultanément les fonctions d'un polarimètre, c.à.d. la génération et l'analyse d'états de polarisation. L'analyse d'états de polarisation en parallèle est la stratégie de parallélisation la plus commune, et dans ce sens différents modèles ont été discutés dans la littérature. Dans le cas d'un polarimètre imageur avec une caméra l'analyse parallèle peut se faire soit en les images résultantes de l'analyse sur plusieurs sous-sections de la caméra, soit en utilisant plusieurs caméras en parallèle. La première possibilité résulte en une diminution de la qualité d'image en termes de finesse (résolution) tandis que la deuxième possibilité se traduit en une démultiplication de l'instrumentation nécessaire et de la complexité de gestion du flux d'information. Dans le cas du microscope polarimétrique, nous avons opté pour une stratégie purement séquentielle car d'un côté la minimisation du temps de mesure ne faisait partie des objectifs de départ, contrairement à la simplicité du montage, qui elle devait être privilégiée.

Chacun des états de polarisation générés par un PSG peut être représenté mathématiquement par le vecteur de Stokes associé. Puisque la génération de ces états de polarisation est séquentielle, une façon adéquate de représenter l'action du PSG séquentiel est d'écrire l'ensemble des vecteurs de Stokes correspondant aux états de polarisation générés l'un après l'autre et les regrouper dans une matrice qu'on appellera par convention matrice  $\mathbf{W}$ . Puisque un seul vecteur de Stokes est un vecteur de type colonne de dimension 4, la matrice  $\mathbf{W}$  aura une dimension 4 fois  $N_w$ , où  $N_w$  est le nombre d'états générés par le PSG. Le nombre  $N_w$  peut être égal ou arbitrairement supérieur à 4. Dans notre cas, nous avons opté pour l'option la plus simple, c'est-à-dire, la génération de seulement 4 états de polarisation, tout en laissant la généralisation à plus de 4 états comme une option à être explorée dans des études ultérieures. Ainsi la matrice  $\mathbf{W}$  du PSG utilisé par le microscope polarimétrique peut s'écrire comme:

$$\mathbf{W} = [\mathbf{S}_{w1}, \mathbf{S}_{w2}, \mathbf{S}_{w3}, \mathbf{S}_{w4}] \quad (2.1)$$

Où  $\mathbf{S}_{wi}$  représente l'i-nième état de polarisation généré par le PSG.

L'analyse de l'état de polarisation de la lumière peut être interprétée en termes physiques comme la projection dudit état de polarisation sur une configuration d'analyse. Puisque l'état de polarisation est représenté par un vecteur, et que le résultat de l'analyse est une mesure d'intensité, qui est une

grandeur scalaire, la configuration d'analyse créée par le PSA peut être représentée comme un vecteur de Stokes transposé, et l'action de l'analyse par un produit scalaire. Selon cette image, l'ensemble de configurations d'analyse créées par le PSA pour analyser un état de polarisation donnée va être représenté par un empilement de vecteurs transposés, qui peuvent être regroupés dans une matrice appelée ici par convention, matrice **A**. Par analogie à la matrice **W**, la matrice **A** aura une dimension égale à  $N_A$  fois 4. Le nombre  $N_A$  est un entier arbitrairement grand mais nécessairement supérieur à 4. Pour des raisons de simplicité, nous avons opté dans ce travail pour utiliser un PSA générant seulement 4 configurations d'analyse. La matrice du PSA à 4 états s'écrira comme :

$$\mathbf{A} = [\mathbf{S}_{A1}, \mathbf{S}_{A2}, \mathbf{S}_{A3}, \mathbf{S}_{A4}]^T \quad (2.2)$$

Le détecteur mesure un ensemble de **16 intensités**, qui peuvent être écrites sous forme de tableau de dimension **(4x4)** appelé matrice **B**, et qui est défini selon la relation suivante :

$$\mathbf{B} = \mathbf{A}\mathbf{M}\mathbf{W}, \quad (2.3)$$

Dont **M** est la matrice de Mueller de l'échantillon. Pour extraire la matrice **M**, il faut multiplier la matrice des mesures **B** par l'inverse des matrices **A** et **W**

$$\mathbf{M} = \mathbf{A}^{-1}\mathbf{B}\mathbf{W}^{-1}, \quad (2.4)$$

La détermination de ces deux matrices **A** et **W** c'est l'étalonnage de l'appareil. Il existe différentes procédures d'étalonnage comme c'est détaillé dans le troisième chapitre. Ainsi l'objectif de tout polarimètre est de mesurer la matrice de Mueller de l'échantillon.

### II.1.3. Critère Objectif d'Optimisation d'un Polarimètre

Afin de construire de système capable d'effectuer des mesures le plus précises possible, l'optimisation d'un polarimètre Mueller est essentielle. Une attention toute particulière doit être portée à la minimisation de la propagation du bruit aléatoire et des erreurs systématiques vers les éléments de la matrice de Mueller mesurée. Le bruit aléatoire se produit notamment par des fluctuations du signal mesuré provenant principalement des fluctuations de l'intensité du rayonnement produit par la source de lumière, et des fluctuations d'ordre électronique du détecteur et de l'instrumentation dédiée au conditionnement et transport du signal produit par celui-ci. Ces erreurs peuvent être généralement caractérisées par des modèles de type gaussien ou poissonien. Les erreurs systématiques sont liés à des différences entre la réponse optique réelle du polarimètre et le modèle mathématique représenté par les matrices **A** et **W** utilisées pour transformer la matrice des mesures d'intensité, **B**, en une matrice de Mueller (eq. 2.3). Ces différences systématiques sont généralement dues à des erreurs de calibration mais aussi à des éventuelles dérives des propriétés des composants optiques ou de l'environnement produites pendant la mesure par rapport au moment de la calibration de l'instrument.

L'équation (2.5) montre que pour déterminer la matrice de Mueller, **M**, d'un échantillon les deux matrices (**W**) et (**A**) doivent être inversées.

$$\mathbf{M} = \mathbf{A}^{-1}\mathbf{B}\mathbf{W}^{-1} \quad (2.5)$$

L'inversion des deux matrices, **A** et **W**, implique indéfectiblement la propagation d'erreurs (bruit, fluctuations ou dérives), des composants du polarimètre vers les éléments de la matrice de Mueller. Il a été démontré [17] que l'erreur relative en la détermination de la matrice de Mueller peut être estimée par l'équation suivante :

$$\frac{\|\Delta \mathbf{M}\|}{\|\mathbf{M}\|} = \kappa_A \frac{\|\Delta \mathbf{A}\|}{\|\mathbf{A}\|} + \kappa_W \frac{\|\Delta \mathbf{W}\|}{\|\mathbf{W}\|} + \kappa_W \kappa_A \frac{\|\Delta \mathbf{B}\|}{\|\mathbf{B}\|} \quad (2.6)$$

Les rapports  $\frac{\|\Delta \mathbf{A}\|}{\|\mathbf{A}\|}$  et  $\frac{\|\Delta \mathbf{W}\|}{\|\mathbf{W}\|}$  correspondent aux erreurs systématiques relatifs sur les matrices **A** et **W** respectivement dus à la calibration ou à des dérives, et le rapport  $\frac{\|\Delta \mathbf{B}\|}{\|\mathbf{B}\|}$  correspond à l'erreur relatif aléatoire de la matrice des intensités **B**. Les coefficients  $\kappa_A$  et  $\kappa_W$  correspondent au nombre de conditionnement des matrices **A** et **W** respectivement définis comme  $\kappa_A = \|\mathbf{A}\| \cdot \|\mathbf{A}^{-1}\|$  et  $\kappa_W = \|\mathbf{W}\| \cdot \|\mathbf{W}^{-1}\|$ . Le symbole  $\|\cdot\|$  correspond à la norme matricielle 2 définie comme le rapport entre le plus grand et le plus petit des valeurs singulières de la matrice considérée.

L'inéquation (2.6) indique, qu'à défaut de les éliminer, il est néanmoins possible de limiter la propagation des erreurs en choisissant des configurations optiques adéquates pour le PSG et le PSA pour minimiser les nombres de conditionnement  $\kappa_A$  et  $\kappa_W$  des matrices **W** et **A** respectives. Pour un polarimètre linéaire comportant de composés optiques passifs seulement, il a été montré [18] que le nombre de conditionnement des matrices **A** et **W** est borné entre infini,  $\infty$ , et  $\sqrt{3} \sim 1.732$ .

Pour des raisons de stabilité numérique et de clarté de visualisation lors de représentations graphiques, nous avons choisi de prendre, dans le cadre de cette thèse, la définition alternative suivante des nombres de conditionnement :  $C_A = \kappa_A^{-1}$  et  $C_W = \kappa_W^{-1}$ . Selon cette nouvelle définition, le nombre de conditionnement alternatif peut atteindre des valeurs comprises entre zéro et  $1/\sqrt{3} \sim 0.577$ . Compte tenu de cette définition, le processus d'optimisation d'un polarimètre en termes de propagation de bruit, consistera à maximiser la valeur du nombre de conditionnement alternatif  $C_A$  et  $C_W$  du PSA et du PSG respectivement [18,19].

Tout en nous risquant à commettre un léger abus de langage, nous avons décidé d'appeler indistinctement dans le contexte de ce manuscrit, 'nombre de conditionnement' ou simplement 'conditionnement' les figures de mérite  $\kappa$  et  $C$ .

## II.1.4. Polarimètre à Large Bande Spectrale Basé sur des Retardateurs Tournants Achromatiques

Dans cette sous-section nous décrivons la configuration optique d'un polarimètre idéal basé sur des composants achromatiques. Dans un premier temps nous en présentons les configurations qui permettent d'optimiser le conditionnement des matrices **W** et **A** du PSG et du PSA respectivement. Dans un deuxième temps nous discuterons les options techniques qui existent pour implémenter physiquement ce type de polarimètre. Notre objectif est de créer un polarimètre ayant la possibilité de réaliser des mesures optimales en termes de propagation de bruit dans le domaine infrarouge compris entre 2 et 12  $\mu\text{m}$  en priorité laissant la place à une éventuelle extension du domaine spectral vers le visible-proche infrarouge compris entre 0.5 et 1  $\mu\text{m}$ .

Etant dans l'idéale achromatique, la conception et l'optimisation du polarimètre pour une seule longueur d'onde, doit être valable pour toutes les autres longueurs d'onde comprises dans le domaine spectral de travail. C'est donc pour cette raison, que la dépendance spectrale de la réponse optique du PSG, considéré comme idéal en première approche peut être négligée. Comme a été discuté dans l'introduction de ce chapitre, des critères de robustesse et de simplicité présentent l'option d'un PSG basé sur des éléments tournants séquentiellement et de façon non continue comme une option assez naturelle. A l'instar du PSG, le PSA consiste un retardateur achromatique tournant et un polariseur fixe. Le PSA est donc identique au PSG mais avec ses éléments optiques montés à l'inverse selon le sens de propagation de la lumière.

Dans ce qui suit, on construit un modèle idéal pour la matrice  $\mathbf{W}$  du PSG en prenant comme éléments optiques un polariseur linéaire idéal fixe, et un retardateur achromatique idéal tournant. Le retardateur est caractérisé par retard constant. Selon ce modèle, la matrice  $\mathbf{W}$  dépendra donc de 5 paramètres : le retard du retardateur, ainsi que les quatre azimuts (angles de rotation) de ce même retardateur selon lesquels il doit être orienté afin de générer quatre états optiques indépendants. On calculera, par la suite le conditionnement de la matrice  $\mathbf{W}$  en fonction de ces 5 paramètres, en cherchant le retard et les azimuts du retardateur qui le rendent optimal.

Compte tenu de la symétrie existant entre le PSG et le PSA, la configuration optimale correspondant au PSG sera aussi celle du PSA. Mathématiquement, la matrice  $\mathbf{A}$  associée au PSA sera égale à la matrice,  $\mathbf{W}$ , associée au PSG transposée. Le nombre de conditionnement étant indépendant de l'opération de transposition sera identique pour les matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$ :

$$C(\mathbf{W}) = C(\mathbf{W}^T) = C(\mathbf{A}) \quad (2.7)$$

Où l'exposant, T, signifie l'opération de transposition. Si on considère que la radiation provenant de la source infrarouge est complètement dépolarisée, son vecteur de Stokes associé à l'entrée du PSG est  $S_{in} = (1 \ 0 \ 0 \ 0)^t$ . Le faisceau est polarisé rectilignement en passant par le polariseur du PSG, ensuite il traverse le retardateur du PSG caractérisé par son retard ( $\Delta$ ) et qui peut être orienté à un angle  $\theta$ . Alors, en tenant compte des expressions (I.14), (I.17) et (I.23) données dans le premier chapitre, le vecteur de Stokes en sortie  $S_{out}$  du PSG s'écrit sous la forme suivante :

$$S_{out}(\Delta, \theta) = U(\theta) R(\Delta) U(-\theta) P S_{in} \quad (2.8)$$

$$S_{out}(\Delta, \theta) = \frac{\tau}{2} \left( 1, \quad \cos(2\theta)^2 + \cos(\Delta) \sin(2\theta)^2, \quad \sin\left(\frac{\Delta}{2}\right)^2 \sin(4\theta), \quad \sin(\Delta) \sin(2\theta) \right)^T$$

Tel que  $U(\theta)$  indique la matrice de rotation, ( $P$ ) est la matrice du Mueller de polariseur,  $R(\Delta)$  est la matrice d'un retardateur idéal,  $S_{in}$  et  $S_{out}$  sont les deux vecteurs de stokes à l'entrée et à la sortie de PSG.

L'équation (2.8) montre explicitement la dépendance des vecteurs de Stokes générés par un PSG à polariseur fixe et retardateur tournant. Lorsqu'on représente ces états sur un espace tridimensionnel, il est possible de voir qu'ils forment une courbe qui se trouve sur la surface de la sphère de Poincaré. Une des boucles se trouve sur l'hémisphère nord de la sphère et l'autre sur l'hémisphère sud et les deux s'intersectent sur un point situé sur l'équateur de la sphère. L'étendu d'une courbe, i.e. la taille des boucles, dépend du retard du retardateur. Pour des petits retards, la courbe s'écarte peu de l'équateur, lorsque le retard est de  $90^\circ$  (quart d'onde) les boucles passent par

les pôles nord et sud, et quand le retard est plus grand que  $90^\circ$  les boucles, entourent l'ensemble de la sphère. La figure II.3 montre une sphère de Poincaré sur laquelle on a dessiné plusieurs courbes de couleurs différentes. Chaque courbe correspond aux états générés par un retardateur tournant entre  $0^\circ$  et  $180^\circ$  avec un retard fixe.

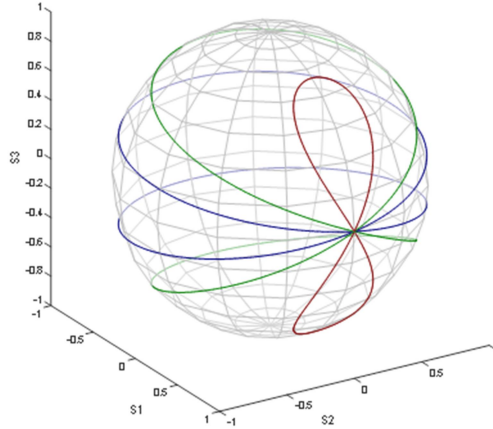


Figure II.3 : Sphère de Poincaré sur laquelle on a représenté les positions sous forme de trajectoire fermée, de tous les états générés avec le PSG lorsque le retardateur est tourné de  $0^\circ$  à  $180^\circ$ . Chaque trajectoire a été calculée en imposant une valeur particulière de  $\Delta$  :  $60^\circ$  (marron),  $132^\circ$  (vert), et  $170^\circ$  (bleu).

La matrice de (W) est construite en rassemblant les quatre vecteurs de Stokes générés par le PSG lorsque que le retardateur est orienté selon les quatre azimuts suivants ( $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4$ ) et le polariseur est orienté à  $0^\circ$ :

$$W(\Delta, \theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4) = (S(\Delta, \theta_1) S(\Delta, \theta_2) S(\Delta, \theta_3) S(\Delta, \theta_4)) \quad (2.9)$$

Le conditionnement de la matrice (W) peut être traité mathématiquement comme une fonction du déphasage  $\Delta$  et des azimuts ( $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4$ ) il peut être démontrée que parce que (W) est composée des vecteurs de stokes, sa valeur de conditionnement théorique varie entre 0 et  $1/\sqrt{3}$ , tel que  $1/\sqrt{3} \approx 0.57$  indique la maximale valeur optimisée. Trouver la valeur des cinq paramètres qui maximisent la valeur du conditionnement est un problème qui peut être résolu numériquement avec l'aide d'une routine d'optimisation automatique. Comme résultat de ce calcul on a obtenu les valeurs suivantes pour les cinq paramètres [20] :

- Deux options pour le retard ( $\Delta$ ) :  $\Delta_1 = 132^\circ$  ou bien  $\Delta_2 = 227^\circ$
  - Et Deux options pour les azimuts ( $\theta$ ) :
1.  $\{\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4\} = \{15.1^\circ, -15.1^\circ, 51.7^\circ, -51.7^\circ\}$
  2.  $\{\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4\} = \{15.1^\circ, -15.1^\circ, 51.7^\circ, -51.7^\circ\} + 90^\circ \equiv \{105.1^\circ, 74.9^\circ, 141.7^\circ, 38.3^\circ\}$ .

Sur la figure II.4 on a représenté une sphère de Poincaré et les courbes correspondant aux états de polarisations pouvant être générés avec un retardateur ayant un retard optimal et une orientation arbitraire. Sur cette même figure nous avons signalé par des cercles ou des triangles la position respective des états optimaux correspondant au premier au deuxième groupe. Dans les deux cas, si on relie les quatre points, on obtient un tétraèdre régulier. D'une manière générale, si on considère un polyèdre avec un nombre de sommets arbitraire sur la sphère de Poincaré, il a été démontré analytiquement que les états de polarisation correspondant aux sommets dudit polyèdre peuvent

être utilisés pour construire un polarimètre optimal au sens de la propagation du bruit car la matrice associée aura un nombre de conditionnement maximal, si ce polyèdre forme une conception sphérique d'ordre 2 [21].

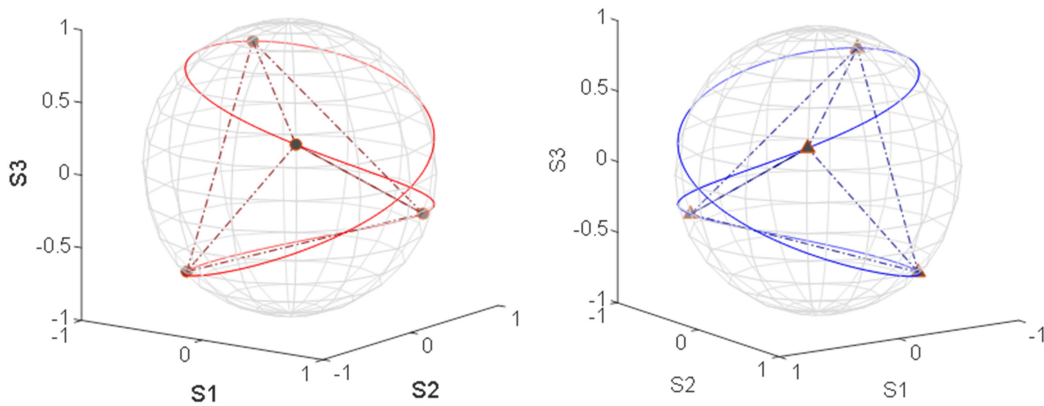


Figure II.4 (A gauche) Sphère de Poincaré et trajectoire (line rouge) correspondant aux états créés par un polariseur orienté à  $0^\circ$  et un déphaseur ayant un retard de  $132^\circ$  ou de  $227^\circ$  orienté arbitrairement. Les quatre points (cercles pleins) correspondent aux quatre états optimaux pour  $\{+15.1^\circ, -15.1^\circ, +51.7^\circ, -51.7^\circ\}$ . Ces points forment un tétraèdre régulier (lignes en pointillée). (A droite) Idem. Les états représentés (triangles pleins) pour  $\{+105.1^\circ, 74.9^\circ, 141.7^\circ, 38.3^\circ\}$  forment aussi un tétraèdre régulier (lignes en pointillé).

Le tétraèdre régulier, au même titre que les autres quatre solides platoniques, cube, octaèdre, dodécaèdre et icosaèdre, fait partie des conceptions sphériques d'ordre 2 [22,23], raison pour laquelle les deux solutions que nous avons trouvé numériquement donnent lieu à des polarimètres optimaux. Afin d'étudier la stabilité de la solution trouvée, nous avons l'avons traitée comme une fonction continue et dérivable et nous avons étudié le comportement de son gradient. Nous avons donc étudié 5 cas correspondant à la dépendance du conditionnement en fonction d'un seul des 5 paramètres en laissant constants les autres 4. La figure II.5 montre la valeur du conditionnement de la matrice associée au PSG en fonction de la valeur du déphasage. Ce graphique a été calculé en supposant pour les azimuts  $(\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4)$ , les valeurs correspondants à la solution optimale.

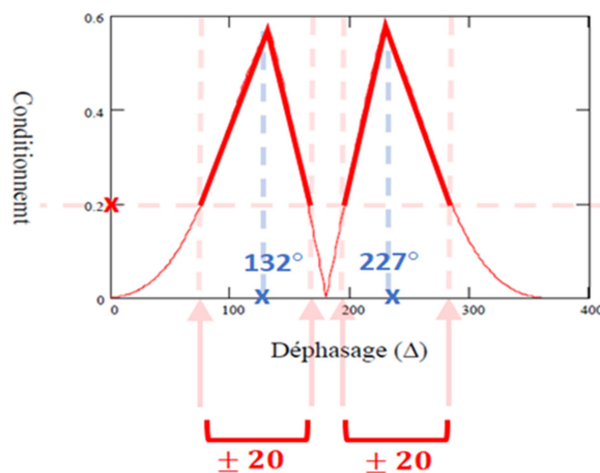


Figure II.5 : Valeur du conditionnement,  $C(\mathbf{W})$ , du PSG en fonction de déphasage,  $\Delta$ , du retardateur tournant. Cette graphique a été calculée en imposant les valeurs optimales pour les quatre azimuts.

La figure II.6 montre la valeur du conditionnement soit en fonction des azimuts  $\theta_3$  et  $\theta_4$ , soit en fonction de l'azimut  $\theta_3$  et du déphasage  $\Delta$ . Dans tous les cas on observe l'apparition de plusieurs pics équivalents, ce qui implique l'existence de solutions multiples.

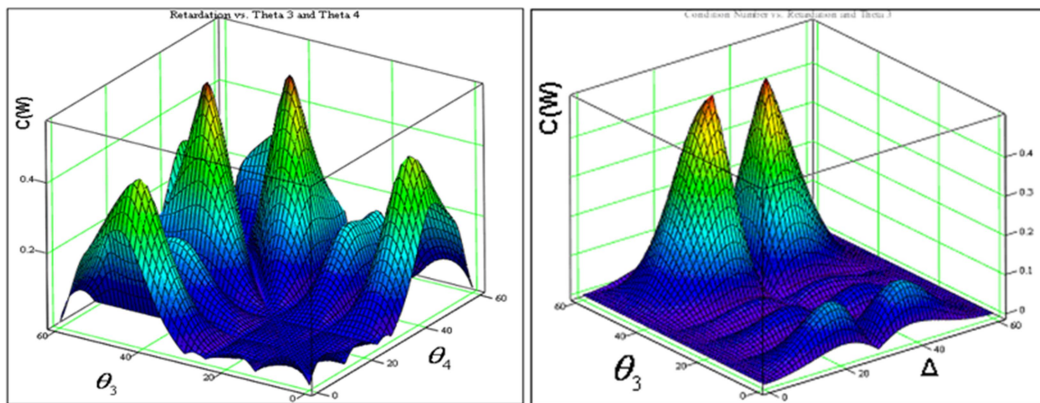


Figure II.6 : Valeur du Conditionnement en fonction de ( $\theta_3$  et  $\theta_4$ ) à gauche, et en fonction de ( $\Delta$ ,  $\theta_3$ ) à droite.

A partir de la forme des pics il est aussi possible de définir des marges de tolérance pour les valeurs des cinq paramètres. En nous basant sur l'expérience cumulée au laboratoire LPICM après plusieurs années d'utilisation de polarimètres, nous avons déterminé que la valeur minimale du conditionnement qui permet de d'obtenir des résultats satisfaisants et de pouvoir calibrer le polarimètre à l'aide des méthodes décrits dans le chapitre 3, est égale à 0.2. Ainsi pour chaque paramètre dont dépend le conditionnement, la tolérance est définie comme le domaine de valeurs pour lesquels la valeur du conditionnement est supérieure à 0.2. Ainsi on a pu fixer une marge de tolérance pour  $\Delta$  de  $\pm 20^\circ$  et pour les azimuts de  $\pm 20^\circ$  également. Il est important de fixer une marge de tolérance afin de définir précisément le cahier des charges des éléments optiques et mécaniques qui seront utilisés pour la conception du microscope polarimétrique.

D'après cette étude, on constate que l'optimisation du conditionnement du PSG exige d'appliquer des angles d'azimutes précise avec une marge de confiance de  $\pm 20^\circ$ , le respect de cette contrainte est facile, il suffit d'utiliser des moteurs rotatifs précis qui peut être achetée dans le marché. En ce qui concerne la contrainte d'utiliser un déphasage de  $132^\circ$  ou  $227^\circ$  avec une marge de confiance de  $\pm 20^\circ$ , La situation est plus difficile que les angles d'azimutes et demande une étude plus approfondie, qui sera la suivante. Puisque le microscope polarimétrique est conçu pour travailler dans un domaine spectral très large, allant de 2 jusqu'à  $12 \mu\text{m}$  et qui couvre même une partie du spectre visible, le retardateur doit être le plus achromatique possible. Trois pistes de solution disponibles ont été étudiées et explorées en simulant leurs efficacités et leur comportement à l'aide d'un logiciel de simulation réaliste spécialisés.

### *Retardateur Achromatique formé par une association de lames biréfringentes*

L'association de différents matériaux biréfringents peut être utilisée pour construire des retardateurs achromatiques. En pratique, la méthode pour construire une lame quasi achromatique sur un domaine donné consiste à utiliser au moins deux lames retardatrices fabriquées en deux matériaux différents montées en série l'une après l'autre avec leurs axes rapides croisées pour compenser partiellement la dispersion de leur biréfringence respective. La fabrication d'une lame

composite avec seulement deux lames biréfringentes simples permet de produire précisément un retard donné pour deux longueurs d'onde situées aux deux extrêmes d'un domaine spectral donné. Le retard produit par la lame composite entre ces deux longueurs d'onde, n'est pas constant mais il ne varie pas beaucoup, raison pour laquelle ces lames composites sont appelées quasi-achromatiques, cependant, en dehors de ce domaine spectral, le retard varie considérablement et la lame ne se comporte plus comme un retardateur achromatique. En 1967 Clarke démontra des lames quasi-achromatiques dans le domaine visible en associant des lames simples en quartz et en calcite [24]. L'empilement peut être généralisé à plus de deux lames afin d'élargir le domaine de travail ainsi que l'achromaticité des lames [25-26]. Le premier retardateur achromatisé se comportant comme un quart d'onde (retard égal à un multiple de  $90^\circ$ ) adapté pour le domaine infrarouge comprenant des longueurs d'onde entre 2.5 et 16.5  $\mu\text{m}$ , était basé sur une combinaison de deux lames simples en sulfure de cadmium, CdS, et séléniure de cadmium, CdSe, [27]. Le retard produit pour ce type de lames composites à deux lames simples croisées est donné par :

$$\delta(\lambda) = \frac{2\pi}{\lambda} (\Delta n_1(\lambda)t_1 - \Delta n_2(\lambda)t_2) \quad (2.10)$$

Dans l'équation précédente, la variable  $t$  indique l'épaisseur, la variable  $\Delta n(\lambda)$  correspond à la biréfringence à la longueur d'onde donnée par  $\lambda$ , et les indices 1 et 2 identifient la lame en question. Le retard du retardateur composite (Eq. 2.10) dépend explicitement de l'inverse de la longueur d'onde. Si dans un intervalle spectral arbitraire, la différence d'indices  $\Delta n_1(\lambda)t_1 - \Delta n_2(\lambda)t_2$  présente une dépendance linéaire (ou proche de celle-ci) implicite en fonction de la longueur d'onde, alors, la dépendance explicite et l'implicite en  $\lambda$  s'annulent mutuellement et la valeur du retard du retardateur composite devient constante (achromatique0.).

Suivant l'exemple donné en [Chenault 1993], lorsqu'on évalue l'eq. (2.10) il est possible de montrer que la meilleure condition d'achromaticité s'accomplit lorsque le rapport entre les épaisseurs  $t_1$  sur  $t_2$  s'approche du rapport  $\Delta n_2(\lambda)$  sur  $\Delta n_1(\lambda)$ . D'ailleurs, il est aussi possible de montrer que la somme des deux épaisseurs  $t_1$  et  $t_2$ , détermine la valeur du retard de la lame composite.

La figure II.7 montre d'un côté la dispersion de la biréfringence des deux matériaux considérés ici, et d'une autre la différence entre celles-ci. La différence de biréfringences n'est pas linéaire, mais montre deux pentes, une assez prononcée pour des longueurs d'onde inférieures à 3 $\mu\text{m}$  et une autre pente plus douce, pour des longueurs d'onde plus grandes que 3 $\mu\text{m}$ . Le fait que la dispersion de la différence de biréfringences présente deux pentes veut dire qu'il ne sera pas possible d'achromatiser la lame composite dans toute le domaine spectral compris entre 2 et 12  $\mu\text{m}$ , mais seulement un domaine compris entre 2 et 3  $\mu\text{m}$  ou bien un domaine compris entre 3 et 12  $\mu\text{m}$ . Compte tenu du cahier de charges pour le PSG le choix a été fait d'achromatiser la lame composite pour le domaine spectral le plus large, entre 3 et 12  $\mu\text{m}$ .

J'ai utilisé une routine d'optimisation numérique afin de déterminer les épaisseurs idéales qui devraient permettre de créer un retardateur composite achromatique ayant un retard proche de  $132^\circ$ . La routine d'optimisation cherchait à maximiser la valeur moyenne du conditionnement sur le domaine spectral compris entre 3 et 11  $\mu\text{m}$  en prenant comme paramètres les épaisseurs des lames en CdS et CdSe ainsi que les quatre positions du retardateur.



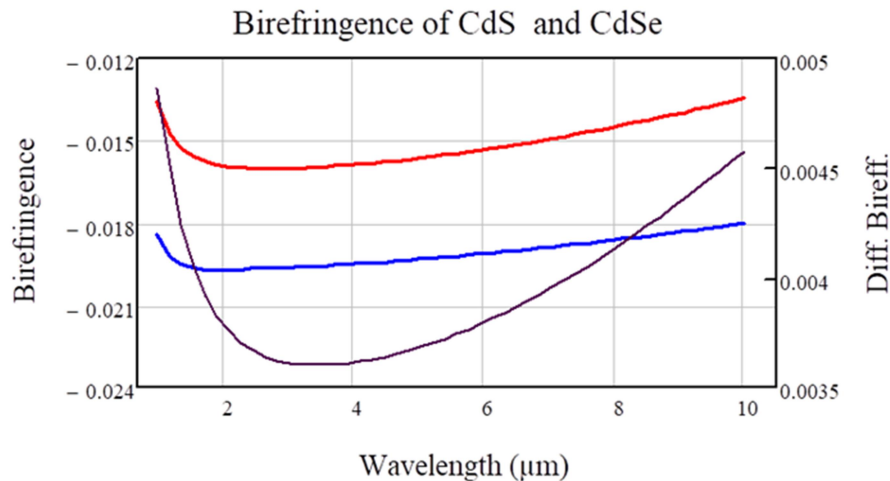


Figure II.7. Dépendance spectrale de la biréfringence du CdS (ligne rouge) et du CdSe (ligne bleue) calculés à partir de [27]. Rapport entre la biréfringence du CdS et du CdSe (ligne violette).

La figure II.8 montre le retard du retardateur composite et le conditionnement correspondant résultant de l'optimisation. Les épaisseurs théoriques optimales pour les lames de CdS et CdSe sont 1890  $\mu\text{m}$  et 1610  $\mu\text{m}$  respectivement, et le rapport correspondant est 1.174. La dispersion naturelle du CdS et du CdSe fait que l'achromatisation de la lame composite, ne soit parfaite. On constate notamment que la valeur du retard fluctue d'environ 20° dans le domaine spectral simulé. La valeur du conditionnement n'atteint sa valeur maximale théorique que sur deux points en accord avec [24], mais grâce à la quasi achromaticité de la lame composite, la valeur reste en dessous de 0.45 pour la plupart de longueurs d'onde entre 3 et 11  $\mu\text{m}$ . Un conditionnement de 0.45 correspond à 80% de la valeur optimale de 0.577 que nous avons choisi comme une limite inférieure pour garantir un très bon fonctionnement du polarimètre. Avant l'avènement de l'utilisation de l'optimisation du conditionnement pour la conception polarimétrique, dans les années 2000, la plupart des polarimètres étaient construits avec des lames quart d'onde et atteignaient ainsi des conditionnements égaux ou inférieurs à 0.3 tout en réussissant à fournir des mesures de qualité. D'un autre côté, sur la base de multiples expériences en matière de conception polarimétrique au laboratoire LPICM, il a pu être établi de manière empirique que pour des valeurs du conditionnement en dessous de 0.2, la propagation du bruit est très importante rendant très difficile, voire impossible, d'appliquer la méthode de calibration (voir chapitre 3, méthode ECM) et / ou d'exploiter des mesures polarimétriques. Compte tenu de ces deux références, le conditionnement produit par la bilame, toujours supérieur à 0.45, fait espérer des mesures polarimétriques de bonne qualité.

Afin d'étudier la robustesse de la solution à des petites variations d'épaisseur des lames j'ai simulé tant le retard du retardateur composite comme le conditionnement associé résultant d'une fluctuation en épaisseur d'environ  $\pm 5\mu\text{m}$ , qui est la précision typique de fabrication de lames d'onde d'haute qualité. Le résultat de ces simulations est rapporté sur les graphiques a) et b) de la figure II.8. Les courbes en bleu ont été obtenues pour des valeurs des épaisseurs des lames en CdS et CdSe de 1884 et 1615  $\mu\text{m}$ , ce qui correspond à un ratio de 1.167, et les courbes en rouge ont été obtenues pour des valeurs des épaisseurs des lames de CdS et CdSe de 1896 et 1605  $\mu\text{m}$ , ce qui correspond à un rapport d'épaisseurs de 1.181.

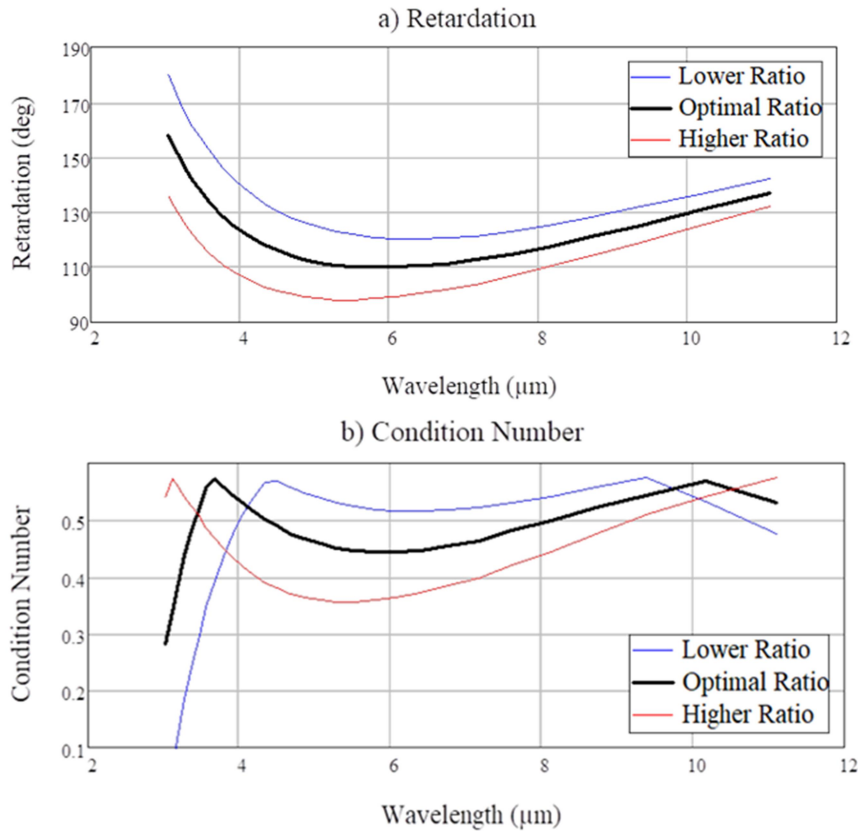


Figure 11.8 : (a) Dépendance spectrale de la biréfringence du retardateur composite pour lequel le rapport d'épaisseurs est optimal (ligne noire). Les lignes bleue et rouge correspondent à des apports d'épaisseurs qui s'écartent légèrement de l'optimum. (b) Dépendance spectrale du nombre de conditionnement d'un PSG caractérisé par les retards montrés dans cette figure. Les codes de couleur des lignes sont les mêmes pour les deux figures.

Les fluctuations en épaisseur ont par conséquent d'augmenter ou de diminuer la valeur du retard de la lame composite d'environ  $10^\circ$  par rapport à la valeur optimale. Ces variations au niveau du retard ont par conséquent la dégradation globale du conditionnement qui aurait un PSG qui utiliserait le retardateur en question. Une réduction du rapport d'épaisseurs en comparaison avec l'optimal a pour conséquence un rétrécissement du domaine utile du PSG. Une augmentation du rapport d'épaisseurs permet d'augmenter un peu le domaine spectral de travail mais sous peine de dégrader légèrement le conditionnement. Cela dit, cette dégradation n'étant pas extrême, les valeurs du conditionnement restent très acceptables.

Les résultats de cette simulation montrent que s'il était possible de trouver un fabricant qui pouvait produire et polir des lames en CdS et CdSe avec les tolérances spécifiés ci-dessous il serait possible de fabriquer un retardateur quasi-achromatique permettant de travailler dans une gamme assez étendue dans le domaine infrarouge.

En complément de cette étude j'ai aussi appliqué la même démarche pour étudier la possibilité de créer un retardateur en utilisant une combinaison du CdS et d'un matériau ternaire, le thiogallate d'argent, AgGaS. L'avantage de l'association (CdS-AgGaS) est qu'elle produit un retardateur transparent dans un domaine spectral allant du visible jusqu'à l'infrarouge tandis que la combinaison (CdS-CdSe) n'est transparente que dans le domaine infrarouge. Du point de vue pratique, avoir un

retardateur transparent dans le visible permettrait de travailler avec le microscope en lumière visible sans avoir besoin de le retirer du chemin optique. Eventuellement cette solution pourrait permettre de réaliser des mesures polarimétriques dans le domaine visible à condition que le retard reste achromatique dans ce domaine aussi. La figure II.9 montre la réponse spectrale de la biréfringence des deux matériaux considérés, lignes rouge (AgGaS) et bleue (CdS), ainsi que la différence entre elles. Les valeurs des indices ordinaire et extraordinaire du AgGaS ont été évalués à partir des modèles de dispersion proposés dans la littérature [28] La biréfringence du AgGaS étant beaucoup plus haute que celle du CdS, le rapport de biréfringences, et par conséquent le rapport optimal d'épaisseurs est de l'ordre de 3. Bien que la différence de biréfringences montre une légère inflexion vers 4.2  $\mu\text{m}$ , le vrai changement se produit vers 1.4  $\mu\text{m}$ , raison pour laquelle l'achromatisation peut être simulée pour cette combinaison de matériaux dans un domaine spectral compris entre au moins 1.4 et 12.5  $\mu\text{m}$ . Le domaine de simulation s'étend dans ce case un peu plus loin vers les longues longueurs d'onde par rapport au cas précédant car le AgGaS a un domaine de transparence plus étendu que le CdSe.

Une optimisation du domaine d'achromaticité de la lame composite en AgGaS-CdS a été réalisée en prenant comme paramètres les épaisseurs des deux matériaux ainsi que les quatre angles azimutaux du retardateur dans un PSG l'utilisant comme élément retardateur. Le résultat de cette simulation est illustré dans la figure II.10. Le couple AgGaS-ZnS produit un retardateur composite avec une réponse quasi-achromatique très intéressante avec un écart maximal d'environ  $\pm 12^\circ$  dans un domaine spectral plus étendu tant sur les longues que sur les courtes longueurs d'onde que le couple classique ZnS-ZnSe.

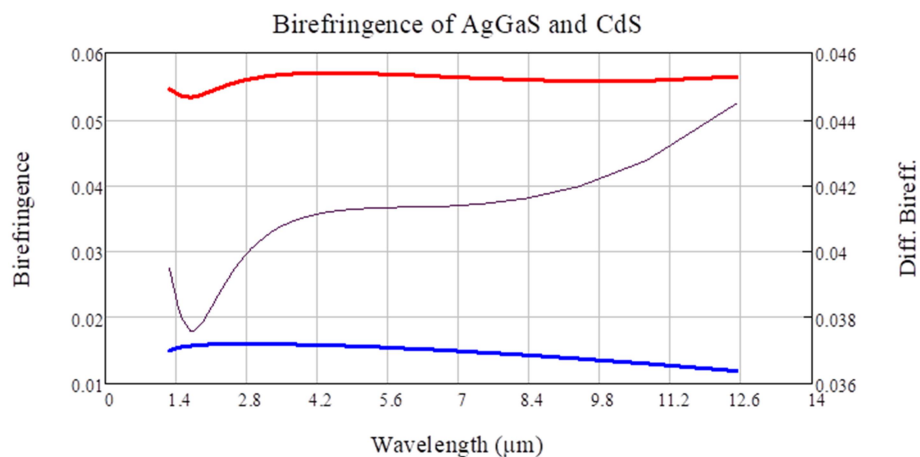
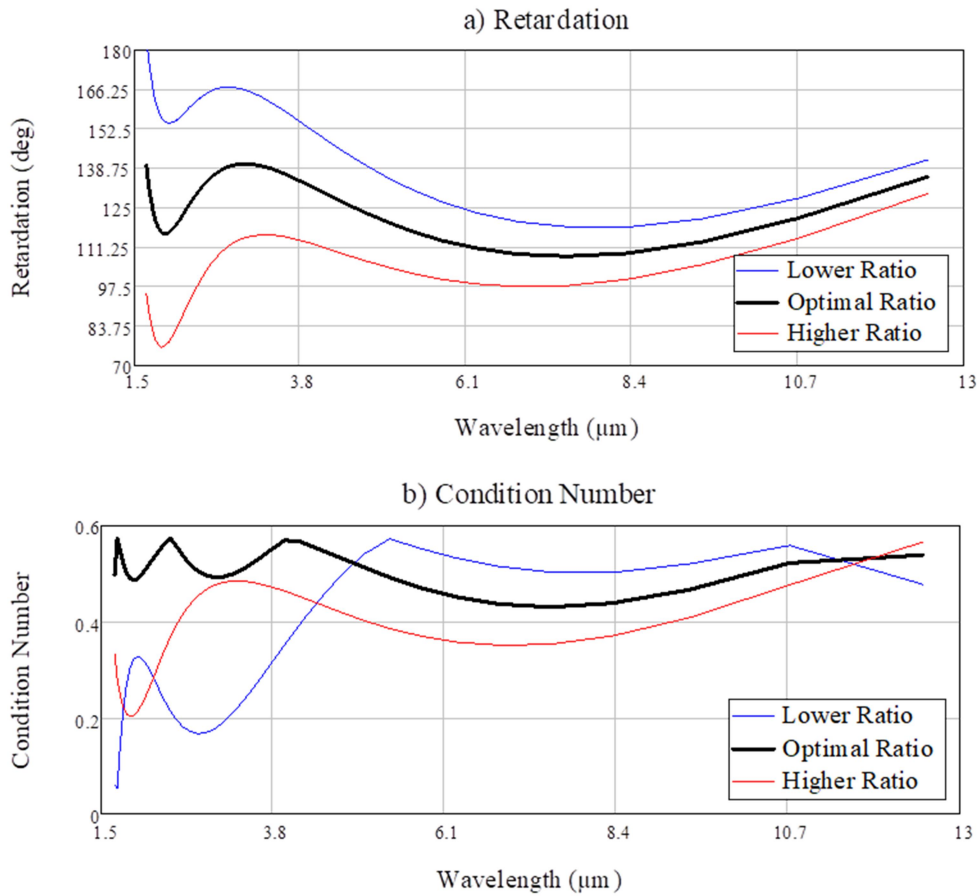


Figure II.9. Dépendance spectrale de la biréfringence du AgGaS (ligne rouge) et du CdS (ligne bleue) calculés à partir de [27]. Rapport entre la biréfringence du AgGaS et du CdS (ligne en violet).

La figure II.10 montre aussi le conditionnement optimal (ligne noire) qui devrait être obtenu en prenant comme retard pour le retardateur composite le retard le plus achromatique. A l'instar du retard de la lame composite, le nombre de conditionnement du PSG montre une faible dépendance spectrale. Il atteint la valeur optimale à au moins pour trois longueurs d'onde, et pour toutes les autres le conditionnement est bien au-dessous de 0.45, ce qui en fait de lui un excellent candidat pour un polarimètre travaillant sur un large domaine spectral. Les épaisseurs optimales des lames en AgGaS et ZnS pour lesquels la meilleure solution a été trouvée sont 266 et 861  $\mu\text{m}$  respectivement. Le rapport d'épaisseurs optimal est donc 3.24. Cette valeur est plus grande que le rapport

d'épaisseurs pour la bilame composite en ZnS-ZnSe car la différence entre la biréfringence du AgGaS et du ZnS est bien plus importante que celle entre le ZnS et le ZnSe.



Figures II.10 Dépendance spectrale optimale de la biréfringence du retardateur composite pour lequel le rapport d'épaisseurs est optimal (ligne noire). (a) Les lignes bleue et rouge correspondent à des apports d'épaisseurs qui s'écartent légèrement de l'optimum. (b) Dépendance spectrale du nombre de conditionnement d'un PSG avec un retardateur dont le retard correspond à des valeurs montrées dans la figure. Les codes de couleur des lignes sont les mêmes pour les deux figures.

Par analogie à ce qui a été fait pour la lame en CdS-CdSe, une simulation numérique a été réalisée pour vérifier la robustesse de la solution optimale en termes des épaisseurs des lames en AsGaS et CdS. Les lignes en rouge et bleu sur les figures II.10 a) et b) représentent respectivement le retard et le nombre de conditionnement résultants d'appliquer une variation de  $\pm 3 \mu\text{m}$  aux épaisseurs optimaux. Le fait que le rapport d'épaisseurs soit plus grand pour la lame composite en AgGaS-CdS ( $R=3.24$ ) que pour la lame composite en CdS-CdSe ( $R=1.174$ ), rend la solution optimale un peu moins robuste, car une variation arbitraire sur l'épaisseur de AgGaS a un effet sur le retard final au moins deux fois ( $3.24/1.174$ ) plus important que la même variation d'épaisseur sur une lame en CdSe. Compte tenu de cette différence, et malgré le fait que la variation d'épaisseurs utilisée pour cette simulation est légèrement inférieure à celle utilisée pour la lame composite en CdS-CdSe, les effets de la variation des épaisseurs sur le retard et le conditionnement sont comparables dans les deux cas. La variation des épaisseurs se traduit par une variation du rapport correspondant d'épaisseurs de l'ordre de 0.05 les portant à 3.193 et 3.289 pour les simulations correspondant aux lignes bleue et rouge respectivement. Cette variation conduit à une augmentation ou une diminution globale du

retard de la lame composite d'environ  $20^\circ$  par rapport à la valeur considérée comme optimale. La variation des épaisseurs augmente la dépendance spectrale de la valeur du conditionnement, ce qui peut s'interpréter comme une dégradation en termes d'achromaticité. Parmi les deux sens de variation, celle pour laquelle le rapport d'épaisseurs diminue (ligne bleue) présente une plus grande impact sur la achromaticité et la valeur du conditionnement.

Les résultats de ce travail de simulation montrent que sur un plan purement théorique il est possible de déterminer des épaisseurs qui permettraient d'obtenir une lame composite achromatique ainsi que de spécifier des tolérances compatibles avec des capacités de production d'un constructeur de haute qualité.

Malgré ce travail de recherche et d'ingénierie approfondi, il n'a pas été possible d'obtenir une réponse positive de la part de l'ensemble des fournisseurs de composants optiques pour l'infrarouge ou de cristaux en CdS, CdSe et AgGaS. Pour cette raison il n'a pas été donc possible de faire fabriquer des lames et une solution alternative consistant à l'utilisation de prismes a dû être explorée.

### *Retardateur Achromatique par réflexion totale interne dans des prismes*

Le phénomène de réflexion totale interne se produit lorsqu'un faisceau de la lumière illumine une interface entre deux matériaux différents avec un angle d'incidence supérieur ou égal à l'angle critique. Dans ces conditions le faisceau de lumière ne peut pas être transmis à travers de l'interface et il est complètement réfléchi. En plus du phénomène de réflexion de la totalité de l'énergie du faisceau, l'apparition d'une onde évanescente à l'endroit où le faisceau a interagi avec l'interface, crée une différence de phase entre les composantes parallèle et perpendiculaire de la polarisation de la lumière par rapport au plan d'incidence sur l'interface. Cette différence de phase a la particularité de dépendre explicitement de l'angle d'incidence du rayon lumineux sur l'interface et du rapport entre les indices de réfraction des deux matériaux qui forment ladite interface [29]. Lorsque la réflexion totale interne s'opère pour des longueurs d'onde dans un domaine spectral pour lequel l'indice de réflexion des matériaux qui forment l'interface montre peu de dispersion spectrale le retard produit est essentiellement peu dépendent de la longueur d'onde, et le phénomène de réflexion totale peut être exploité pour créer des retardateurs quasi-achromatiques. Le premier à construire un retardateur basé sur des réflexions internes fût Augustin Fresnel en 1807 [30]. Le retardateur de Fresnel, représenté schématiquement en haut sur la figure II.11, consistait en un rhomboèdre dont les faces d'entrée et de sortie étaient parallèles et formaient un angle ( $\theta$ ) par rapport aux deux autres faces latérales. Le faisceau pénètre le rhomboèdre en incidence normale, subit deux réflexions totales successives sur les faces latérales avec le même angle ( $\theta$ ). Géométriquement, l'angle ( $\theta$ ) et la taille des faces d'entrée et de sortie détermine la forme du rhomboèdre. Le rhomboèdre de Fresnel originel ne peut pas être comme retardateur tournant parce que le faisceau à la sortie du rhomboèdre serait décalé par rapport à la trajectoire du faisceau incident. Cependant, comme montré schématiquement en bas de la figure II.11, il est toujours possible d'associer un deuxième rhomboèdre, symétrique au premier, pour ramener le faisceau en sortie sur la même trajectoire du faisceau incident et permettre ainsi la rotation de l'ensemble de deux prismes sans altérer l'alignement du faisceau. Le retard produit par un rhomboèdre double de Fresnel est égale à deux fois le retard produit par un rhomboèdre simple car le nombre de réflexions internes est égal à 4.

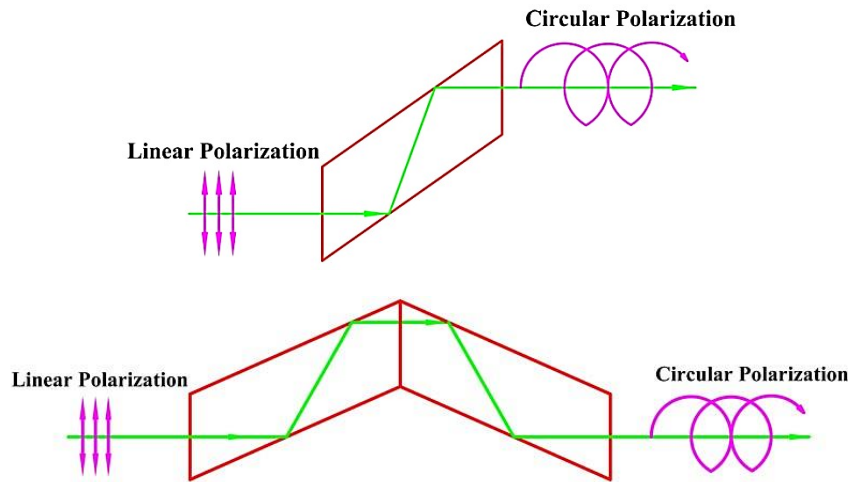


Figure II.11. Schème optique montrant un rhomboèdre de Fresnel simple (haut) et un double rhombe de Fresnel (bas).

Le retard induit par une seule réflexion totale est donné par l'équation (2.11) [31], on observe que le retard,  $\Delta$ , dépend sur l'angle d'incidence,  $\theta$  et sur l'indice de réfraction,  $n$ , de la matière avec laquelle le rhomboèdre est construite,

$$\Delta = 2 \arctan\left(\frac{\cos \theta \sqrt{n^2 \sin^2(\theta) - 1}}{n \sin^2(\theta)}\right) \quad (2.11)$$

L'objectif est de déterminer quelle forme et quel matériel utiliser pour construire un prisme à réflexion totale interne afin de produire un retard achromatique égal à  $132^\circ$  avec une tolérance de  $\pm 20^\circ$ , tout en minimisant la longueur de celui-ci pour réduire le plus possible son encombrement dans le montage optique du microscope. Le prisme doit aussi pouvoir accepter un faisceau ayant  $10 \pm 2$  mm de diamètre. Après avoir examiné la littérature, [30-33], j'ai pu identifier trois possibles types de prismes ou de montages alliant prismes et miroirs, présentés schématiquement dans la figure II.12 qui ne dévient pas le faisceau de sa trajectoire initiale et qui sont des candidats potentiels. Les trois possibilités sont :

*Forme candidate 1* : Un rhomboèdre simple de Fresnel suivi de deux miroirs (notés M1 et M2 dans la figure II.12) utilisés pour recaler le faisceau à la sortie du dispositif sur la même trajectoire que le faisceau incident. Le faisceau suit 2 réflexions totales dans le rhomboèdre de Fresnel.

*Forme candidate 2* : appelée conventionnellement AD (*Achromatic Device*) dans la littérature. Le faisceau suit trois réflexions totales internes. L'angle d'incidence pour la première réflexion est identique à celui de la troisième mais différent de l'angle d'incidence de la deuxième réflexion interne.

*Forme candidate 3* : cette forme correspond à un rhomboèdre double de Fresnel. Le faisceau suit quatre réflexions totales internes à l'intérieur du rhomboèdre double. L'angle d'incidence est le même pour les quatre réflexions.

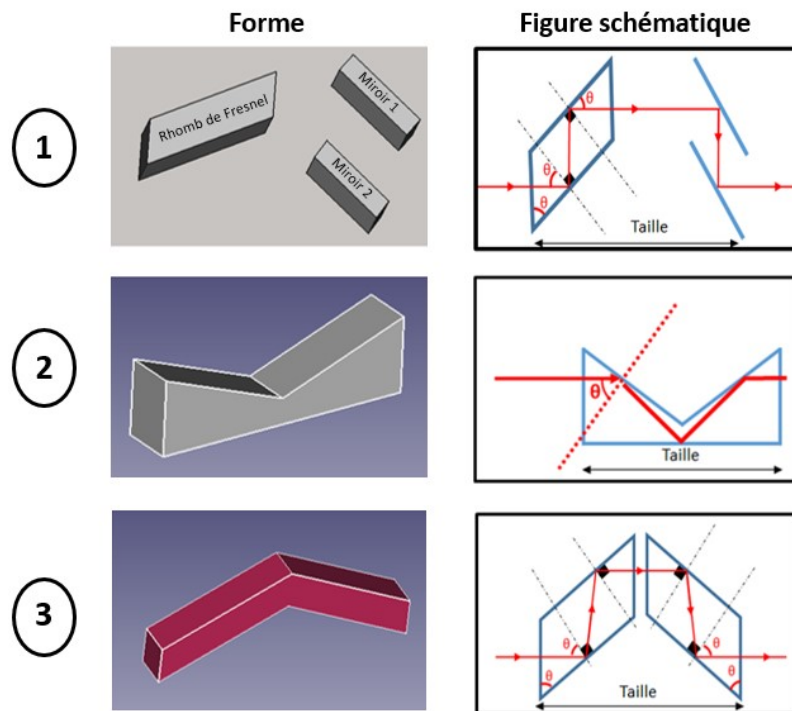


Figure II.12. Représentation schématique des trois formes alternatives pour créer un compensateur achromatique par réflexion totale interne. La forme tridimensionnelle (colonne 1) d'accompagne d'un diagramme optique (colonne 2). Forme 1 : Rhomboèdre de Fresnel simple et 2 miroirs, Forme 2, Prisme AD, Forme 3 Rhombe double de Fresnel.

Afin de pouvoir sélectionner la plus adéquate des formes j'ai simulé pour chacune des formes candidates listées précédemment, la dépendance du retard en fonction de l'angle de réflexion interne pour lequel a lieu la réflexion totale interne. Pour chaque forme candidate j'ai étudié l'influence du matériel avec lequel le prisme est construit en utilisant pour cela des dispersions correspondant à des matériaux transparents dans le visible et l'infrarouge. J'ai choisi pour cela le séléniure de zinc (ZnSe) avec un indice de réfraction égal à 2.4 et transparent entre 0.6 et 18  $\mu\text{m}$ , et le fluorure de baryum ( $\text{BaF}_2$ ) avec un indice de réfraction de 1.45 et transparent entre 0.2 et 11  $\mu\text{m}$ . Un deuxième raison qui a motivé ce choix est qu'il y a des fournisseurs qui proposent des prismes manufacturés en ces matériaux. Le fluorure de calcium, ( $\text{CaF}_2$ ) a été testé comme troisième alternative, cependant, les résultats pour ce matériau ne sont pas discutés ici car très similaires à ceux obtenus pour le  $\text{BaF}_2$ . D'ailleurs, le  $\text{CaF}_2$  est plus dispersif que le  $\text{BaF}_2$ , ce qui produit des retardateurs de moins bonne achromaticité et aussi le  $\text{CaF}_2$  présente un domaine spectral de transparence plus étroit que le  $\text{BaF}_2$ .

La figure II.13, présente le retard en fonction de l'angle de réflexion interne pour un rhomboèdre de Fresnel simple. Les simulations ont été réalisées pour deux longueurs d'onde, 2 et 13  $\mu\text{m}$  situées aux extrêmes du domaine spectral d'intérêt. Les résultats correspondants à la dispersion du ZnSe et du  $\text{BaF}_2$  sont représentés respectivement dans les graphiques de gauche et de droite de la figure. On constate qu'il n'est pas possible d'attendre un retard de 132° ou 227° pour un rhomboèdre en  $\text{BaF}_2$ , mais ceci est possible pour un rhomboèdre en ZnSe si l'angle de réflexion interne est:  $\theta = 25.8^\circ$  ou  $52.7^\circ$ . L'angle de  $52.7^\circ$  est préféré à  $25.8^\circ$  car moins sensible à des variations éventuelles d'angle d'incidence dues par exemple à un faisceau légèrement divergent. La simulation de la forme de ce



prisme avec un logiciel de traçage de rayons optiques (Zemax) permet de obtenir la forme précise du prisme pour une ouverture de 10 mm. Si a cela s'ajoute la présence des deux miroirs de renvoi, la taille totale de la forme projetée sur la direction de propagation de la lumière est égale à peu près à 134 mm.

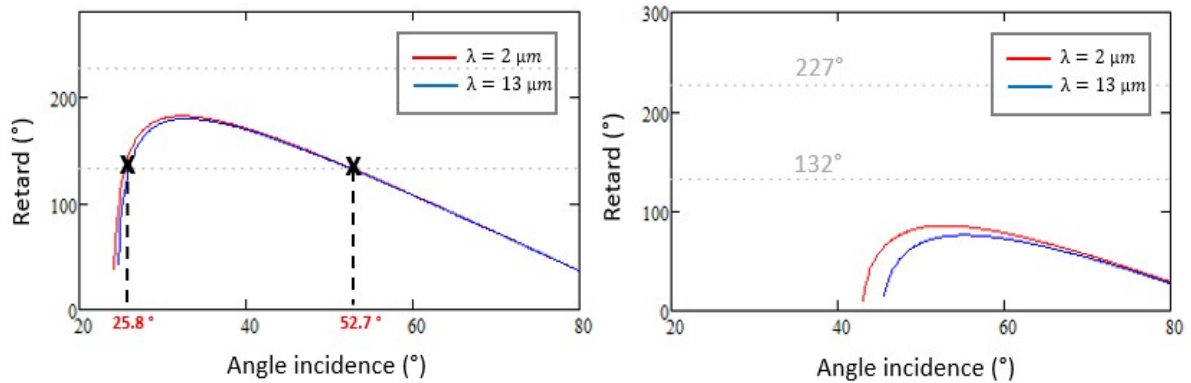


Figure II.13. Retard en fonction de l'angle de réflexion interne pour la forme numéro 1 représentée sur la figure II.12 en ZnSe (gauche) ou en BaF<sub>2</sub> (droite). En rouge et bleue des simulations à des longueurs d'onde de 2 et 13 μm respectivement.

La figure II.14 présente des résultats analogues à ceux discuté en haut pour le retardateur alternatif 2, le prisme AD. Le retard de 132° ou 227° n'est pas réalisable pour un prisme fait en BaF<sub>2</sub> mais ce retard peut être atteint par un prisme en ZnSe pour des angles de réflexion interne  $\theta = 24^\circ$  32.7° et 71.68°. La forte dépendance du retard en fonction de l'angle d'incidence pour les formes avec des angles 24° et 32.7° rendent ces deux possibilités moins intéressantes que la configuration pour un angle de 71.68°. Cette solution a l'avantage de présenter aussi très peu de chromaticité car les simulations pour 2 et pour 13 μm sont presque identiques. La taille du prisme calculé à l'aide du logiciel de simulation optique pour un angle de réflexion interne de 71.68° et une face d'entrée carrée de 10x10 mm est de 144.9 mm.

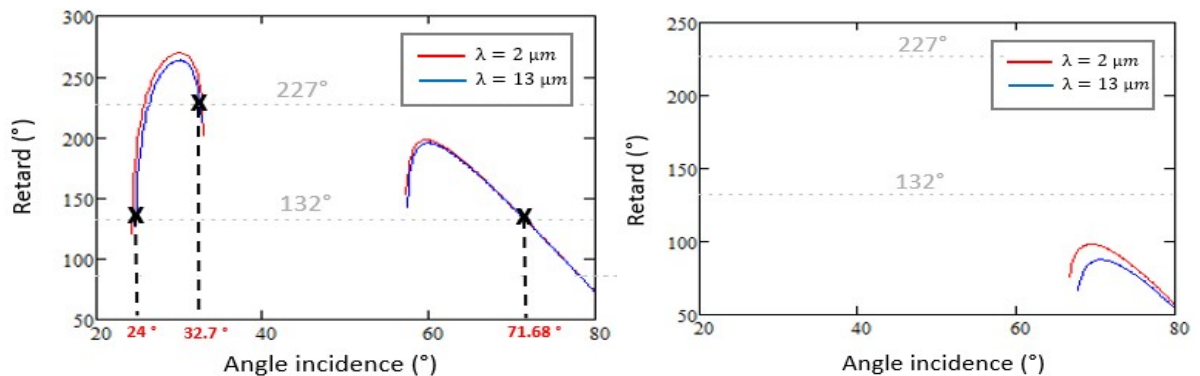


Figure II.14. Retard en fonction de l'angle de réflexion interne pour la forme numéro 2, AC, représentée sur la figure II.12 en ZnSe (gauche) ou en BaF<sub>2</sub> (droite). En rouge et bleue des simulations à des longueurs d'onde de 2 et 13 μm respectivement.

Enfin la figure II.15, présente les résultats obtenue pour la forme numéro 3 (le rhomboèdre double). Pour cette forme il est possible d'atteindre tant un retard de 227° comme de 132° pour un prisme en ZnSe, et le retard de 132° pour un prisme en BaF<sub>2</sub>. Le prisme en ZnSe est moins chromatique que le prisme en BaF<sub>2</sub> car les courbes simulées a 2 et à 13 μm sont presque identiques,



ce qui rend le ZnSe plus intéressant du point de vue purement spectral que le prisme en BaF<sub>2</sub>. La simulation pour le prisme en ZnSe suggère l'existence de quatre solutions compatibles avec les valeurs du retard ciblés pour des angles de réflexion interne égaux à 24.3°, 24.9°, 58.3° et 71.8°. Les solutions correspondant aux angles 24.3°, 24.9° sont rejetées d'emblée car elles présentent une trop grande dépendance du retard par rapport à des petites variations de l'angle d'incidence. Parmi les deux solutions restantes, la sélection se porte naturellement sur celle correspondant à l'angle d'incidence de 58.3° car il permet de construire un prisme plus court, 112 mm que la solution pour l'angle de 71.8° qui donne lieu à un prisme long de 263 mm.

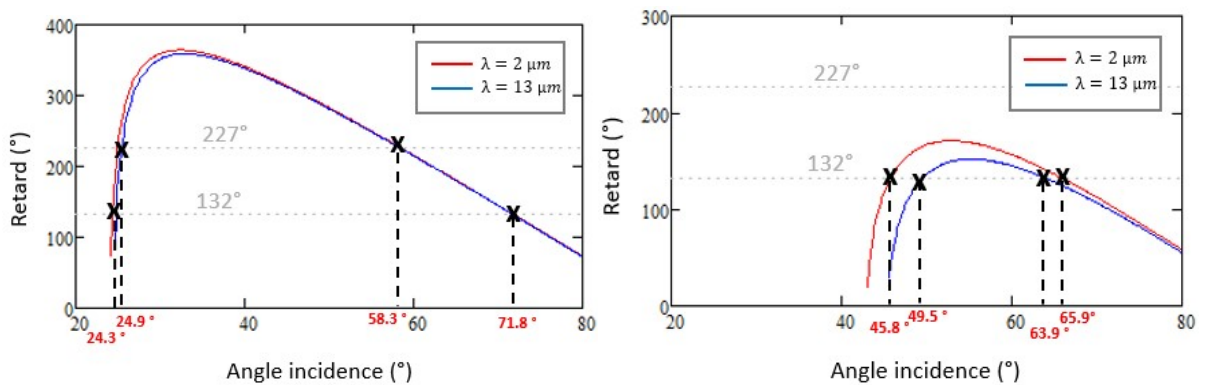


Figure II.15. Retard en fonction de l'angle de réflexion interne pour la forme numéro 3, le double rhomboèdre de Fresnel, représentée sur la figure II.12 en ZnSe (gauche) ou en BaF<sub>2</sub> (droite). En rouge et bleue des simulations à des longueurs d'onde de 2 et 13  $\mu\text{m}$  respectivement.

En conclusion, en tenant compte des deux critères de priorités concernant le retard et la taille du prisme pour minimiser son encombrement à l'intérieur du montage optique, la solution choisie a été le candidat numéro 3 correspondant au rhomboèdre double fabriquée en ZnSe produisant un retard de de 227° avec une taille de 112.5 mm.

Une paire de rhomboèdres a pu être fabriquée et testée en conditions réelles au le laboratoire et il a été constaté que leur réponse polarimétrique globale était tout à fait satisfaisante et en accord avec les prédictions du modèle théorique. L'aspect le plus critique lors de l'utilisation de rhomboèdres en conditions réelles, et en particulier lorsqu'ils sont tournés pendant le pilotage du polarimètre est de pouvoir maintenir le faisceau de lumière parfaitement aligné et sans oscillations. Sur un instrument non-imageur comme le polarimètre infrarouge spectroscopique décrit en [16] et en service actuellement sur la ligne SMIS du synchrotron SOLEIL, il est possible de compenser l'effet du mouvement du faisceau en ajoutant une petite sphère intégratrice juste devant le détecteur, cependant cette solution n'est plus applicable sur un système imageur. Dans le cas de microscope polarimétrique nous avons constaté les images d'intensité correspondant à différents états de polarisation obtenues pour différents azimuts des retardateurs du PSG et du PSA étaient décalées d'une distance équivalente à 4 ou 5 pixels les unes par rapport aux autres. Ce décalage ne pose pas de problème lorsqu'il s'agit de mesurer des échantillons dont la surface est homogène, cependant le décalage peut causer des artefacts polarimétriques assez visibles lorsqu'il s'agit d'imager des objets avec des contours abrupts. La solution classique à ce problème passe par un traitement d'image et le développement d'un algorithme de recalage d'images. Le développement d'un tel algorithme a été commencé mais il n'a pas été fini, car il a été possible de trouver une troisième alternative novatrice pour la conception et le pilotage du polarimètre.

Les principales caractéristiques de la nouvelle configuration et méthode de pilotage sont : i) la capacité de générer des états de polarisation pour le PSG et de configurations d'analyse de polarisation pour le PSA capables de maintenir un conditionnement optimal sur une plage spectrale très large comprise entre 2 et 12  $\mu\text{m}$ , et, ii) le fait d'éviter des déplacements du faisceau. Cette troisième alternative est parfaitement adaptée à des contraintes techniques imposées par la conception du montage optique et ça a été l'option finalement implémentée. Comme il a été signalé dans l'introduction de ce chapitre, il n'est pas possible de donner ici la description détaillée de cette troisième alternative car elle fait partie d'une demande de dépôt de brevet qui est en cours actuellement

## II.2. Conception Optique et Optomécanique

### II.2.1. L'éclairage de Köhler

L'éclairage joue un rôle important en microscopie optique. Historiquement, les microscopes utilisaient pour l'éclairage un système optique formé par des lentilles qui créaient une image de la source d'illumination directement sur l'échantillon en accord avec ce qui était appelé le principe de l'illumination critique. Bien que très efficace au niveau de la collecte de lumière, cette configuration présente des inconvénients pour l'imagerie, puisque l'image de la source, généralement un bulbe incandescent, se superpose à l'objet étudié créant ainsi un éclairage non uniforme. August Köhler proposa en 1893 [34] une méthode alternative, robuste et à la fois facile à mettre en œuvre, qui est devenue un standard depuis en microscopie, et qui est connue actuellement d'après son inventeur comme l'illumination de Köhler. La principale caractéristique de l'illumination de Köhler est de permettre un éclairage uniforme de l'échantillon [35-37] raison pour laquelle a été largement préféré à l'éclairage critique pour l'étude d'échantillons biologiques. Dans son implémentation la plus simple, représentée schématiquement sur la figure II.16, l'éclairage de Köhler, nécessite une source de lumière, un système optique nommé collecteur, et un système optique nommé condenseur.

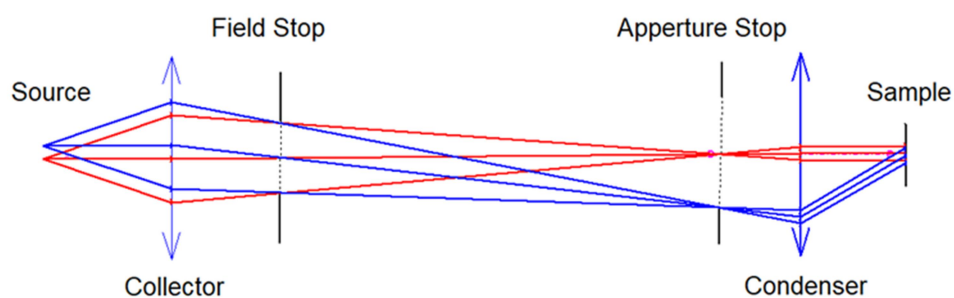


Figure II.16. Schéma optique illustrant le principe de l'illumination de Köhler.

Cette configuration compte aussi avec deux diaphragmes nommés diaphragme de champ et diaphragme d'ouverture. Le diaphragme de champ se place souvent près de du collecteur et sa mission est de limiter la taille de la zone illuminée sur l'échantillon. Le diaphragme d'ouverture se situe sur le plan focal arrière du condenseur et en agissant sur la divergence des rayons arrivant sur la l'échantillon, sert à contrôler l'intensité lumineuse de l'éclairage. La position des deux

diaphragmes dans la configuration de Köhler est telle qu'ils permettent de contrôler indépendamment la divergence et la taille du faisceau lumineux. Le collecteur possède une grande ouverture numérique afin de maximiser le flux de photons collecté. Le collecteur crée une image de la source exactement sur la position du plan focal arrière du condenseur. Cette dernière condition fait que les rayons de lumière émanant de l'image de la source soient collimatés par le condenseur lorsqu'ils sont dirigés vers l'échantillon. Le condenseur, en plus de renvoyer la lumière sur l'échantillon doit aussi créer une image du diaphragme de champ sur celui-ci.

## II.2.2. Conception Optique du Bras d'Éclairage

Le schéma optique montré dans la figure II.17 peut être généralisé ou adapté en fonction des caractéristiques du système d'illumination souhaité. Dans le cas du microscope polarimétrique il est nécessaire de prendre en compte les contraintes suivantes qui lui sont propres : i) la taille de la source, de 2 mm, ii) la nécessité d'avoir un espace d'environ 150 mm pour loger une des parties du polarimètre appelé générateur d'états de polarisation, iii) l'ouverture utile, ou diamètre, des composants optiques utilisés pour le générateur d'états de polarisation, d'environ 20 mm et des optiques utilisés pour focaliser la lumière, entre 25 et 50 mm, iv) le diamètre de la pupille d'entrée du système optique utilisé comme condenseur, d'environ 7 mm et v) pouvoir travailler dans une gamme spectrale très large pouvant aller de l'infrarouge moyen au visible. A toutes ces contraintes s'ajoute le fait qu'il est important d'installer le générateur d'états de polarisation dans une zone du trajet optique où le faisceau soit collimaté plutôt que sur une zone où le faisceau soit convergent pour avoir une distribution de polarisation homogène sur l'ensemble de la section transverse du faisceau lumineux. Sur le schéma de Köhler simple représenté plus haut, le seul endroit où le faisceau est collimaté se trouve entre le condenseur et l'échantillon, cependant, cet espace ne peut pas être utilisé dans la pratique car en général sa taille est trop petite, inférieure à 1 cm, pour héberger le générateur d'états de polarisation. Le générateur d'états de polarisation a été cité ici succinctement pour pouvoir décrire la partie purement optique du microscope polarimétrique, cependant, une définition plus précise de la fonction de ce système dans un polarimètre, ainsi qu'une description détaillée tant de celui-ci comme des caractéristiques des composants optiques qui ont été utilisés dans le microscope se trouve dans les sections I.4 et IV de ce même chapitre.

Afin de satisfaire à l'ensemble de ces contraintes, nous avons utilisé une version modifiée de la configuration de Köhler classique, en utilisant une chaîne de deux télescopes afocaux entre la source et le condenseur. Les deux télescopes ont pour mission de permettre le contrôle de la taille et de l'ouverture du faisceau grâce à aux diaphragmes de champ et d'ouverture respectivement, ainsi que d'offrir un espace suffisant pour pouvoir installer convenablement un générateur d'états de polarisation. Des miroirs sphériques ont été utilisés à la place de lentilles, afin d'éviter des effets d'aberration chromatique et de pouvoir ainsi utiliser le microscope dans un domaine spectral très large. Le condenseur représenté sur la figure II.2 n'est pas une lentille mais un modèle qui correspond à l'élément optique qui a été réellement utilisé dans le montage, un objectif de microscope réflectif de type Schwarzschild (voir section IV.2 pour plus de détails). Le plan focal arrière du modèle utilisé se trouve à l'intérieur de l'élément optique et il est impossible d'y installer un diaphragme d'ouverture. L'avantage du montage optique que nous proposons est qu'il crée une image du diaphragme d'ouverture (c.à.d. de la source) exactement à la position où se trouve le plan focal

arrière de l'objectif de microscope. Le diaphragme d'aperture étant facilement accessible a le même effet qui aurait un diaphragme physique installé dans l'objectif de microscope. Puisque le grossissement typique de l'objectif de microscope est de 25X, la taille de la tache de lumière projetée sur l'échantillon, d'environ 1 mm, est 25 fois plus petite que la taille du faisceau dans le générateur d'états de polarisation.

Par simplicité, sur les figures II.16 et II.17, des rayons appartenant à deux familles, rouge et bleue, ont été représentés. Les rayons appartenant à une même famille, sont émis par une toute petite zone de la source et arrivent collimatés sur l'échantillon à un angle d'incidence donné. Si le diaphragme d'aperture est complètement ouvert des rayons appartenant à de multiples familles arrivent sur la même surface de l'échantillon avec leur angle d'incidence respectif. Ceci à par effet de créer un éclairage de grande intensité. Si on ferme le diaphragme d'aperture, on sélectionne la distribution d'angles d'incidence qui arrivent sur l'échantillon, ce qui a pour effet la réduction de l'intensité de la tache lumineuse sur l'échantillon mais pas sa taille. Enfin, si on déplace latéralement le diaphragme par rapport à l'axe optique et qu'on le ferme assez, il est possible de sélectionner une famille de rayons et d'éclairer ainsi l'échantillon avec un angle d'incidence bien déterminé. Dans la pratique, un compromis raisonnable doit être trouvé entre l'étendu des angles d'incidence avec lesquels l'échantillon est éclairé et l'intensité du faisceau lumineux qui est, *in-fine*, proportionnel au rapport signal sur bruit des images captées par le détecteur du microscope.

La figure II.17 montre un schéma de la configuration du bras d'éclairage. Afin de faciliter l'interprétation du fonctionnement optique du montage, des lentilles ont été représentées sur la figure à la place des miroirs sphériques utilisés réellement dans le montage. Dans le microscope la source primaire de lumière est un laser accordable à puits quantique produisant un faisceau très bien collimaté dont le diamètre est de 2 mm. Afin d'éviter l'apparition d'effets optiques liés à la grande cohérence spatiale du faisceau laser (speckle, diffraction sur les bords, bandes d'interférences...), avant d'arriver au bras d'éclairage, le laser illumine un diffuseur tournant à grande vitesse. Le diffuseur produit une tache lumineuse émettant des rayons avec une certaine divergence et devient ainsi une source de lumière secondaire. La lumière renvoyée par le diffuseur a été considérée ici à des fins de modélisation du système optique comme la source principale du montage optique. La taille cette source de lumière est de 2 mm, comme celle du faisceau laser qui l'a produite.

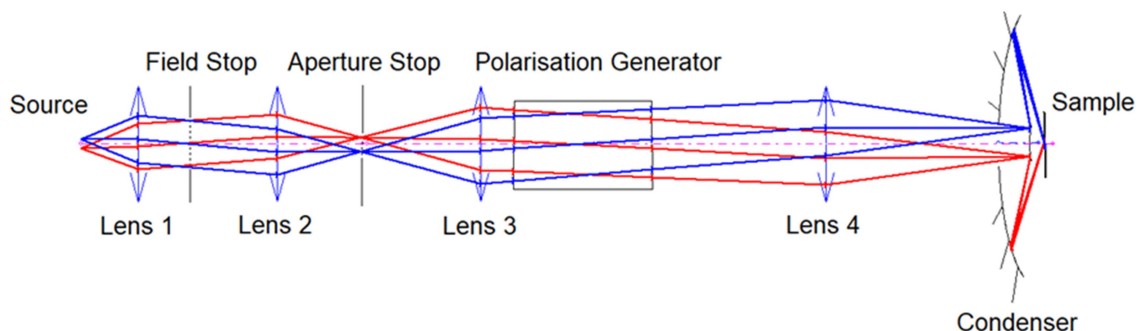


Figure II.17. Schéma optique de la configuration de Köler modifiée utilisé pour le bras d'illumination du microscope.

Le premier système optique est constitué des deux lentilles, 1 et 2, représentées sur la figure II.17. Puisque la source de lumière est située sur le plan focal de la lentille 1, le système produit une image de celle-ci sur le plan focal de la lentille 2. La fonction principale du système de deux lentilles est

d'héberger le diaphragme de champ (*field stop*), et le diaphragme d'aperture (*aperture stop*) situé sur le plan focal de la lentille 2 pour permettre le contrôle indépendant de la divergence et de la taille du faisceau. Bien que cela puisse paraître contradictoire, les noms des diaphragmes ont été choisis non par rapport à la fonction qu'ils auraient dû avoir si on considérait le système formé par les lentilles 1 et 2 individuellement, mais sur l'effet qu'ils ont sur les caractéristiques du faisceau sur le plan de l'échantillon. Le deuxième système est formé par les lentilles 3 et 4. A l'instar du premier système, le couple de lentilles 1 et 2 transporte l'image secondaire de la source situé à la position où se trouve le diaphragme d'aperture, jusqu'au plan focal arrière du condenseur.

### II.2.3. Imagerie bimodale : Le Plan Réel ou Objet, et le Plan de Fourier

Parmi les caractéristiques du microscope polarimétrique est l'imagerie bimodale dans le plan réel et dans le plan de Fourier. Le fait de ne pas avoir deux caméras, ne permet pas d'implémenter simultanément ces deux modes d'imagerie, cependant, comme sera détaillé par la suite, une conception ingénieuse permet le passage séquentiel d'un mode à en introduisant un seul élément optique dans le montage et sans besoin de modifier la position ou la mise au point du détecteur, ce qui à des fins pratiques se traduit par une facilité d'utilisation.

L'imagerie dans le plan réel permet l'obtention d'images correspondant à une partie avec un grossissement déterminé principalement par l'objectif d'imagerie utilisé par le microscope. La résolution des images est proportionnelle à l'aperture numérique, NA, de l'objectif de microscope et, le cas échéant, le nombre de pixels de la caméra utilisée comme détecteur [38]. En général le nombre de pixels du détecteur doit être choisi doit être proche du rapport entre la taille du champ imagé par l'objectif de microscope et la résolution optique (la taille la plus petite qu'il peut résoudre) de celui-ci. Un nombre de pixels trop grand ou trop petit par rapport à l'idéal conduira à des images avec une résolution ou un rapport signal sur bruit dégradé [39].

L'imagerie dans le plan de Fourier permet d'obtenir des images de la distribution angulaire de lumière transmise et / ou diffusée par l'échantillon. Pour se faire la mise au point se fait sur plan focal arrière de l'objectif d'imagerie utilisé pour imager l'échantillon, plutôt que sur le plan objet contenant l'échantillon lui-même, comme c'est le cas pour l'imagerie dans le plan réel [40, 41]. Ainsi, l'imagerie dans le plan réel est une imagerie résolue spatialement tandis que l'imagerie de Fourier est une imagerie résolue angulairement. Les deux modes d'imagerie sont complémentaires. L'étendu du domaine angulaire qui peut être imagé est directement proportionnel à l'aperture numérique de l'objectif de microscope. Si les images sont prises à l'aide d'une caméra, la résolution angulaire sera proportionnelle au nombre de pixels du capteur, par contre, si les images sont prises en « balayant » un détecteur ponctuel, la résolution angulaire dépendra de la taille du détecteur.

La figure II.18 montre une représentation schématique des trajectoires des rayons imagés dans la configuration en mode réel et dans la configuration en mode de Fourier respectivement. Lorsque les images correspondent au plan réel, les rayons de lumière émis par la surface suivent des trajectoires idéalement stigmatiques, autrement dit, tous les rayons émis par un point de l'échantillon se réunissent sur un même point sur le détecteur. Il existe d'ailleurs une correspondance bijective entre les coordonnées spatiales ( $x',y'$ ) sur le plan image (la position des pixels sur une caméra) où les photons sont arrivés, et les coordonnées spatiales ( $x,y$ ) sur le plan de l'échantillon d'où les photons sont partis. Dans le cas de l'imagerie sur le plan de Fourier, si on représente la direction des rayons

lumineux émis par l'échantillon par des coordonnées sphériques  $(\varphi, \theta)$  centrées sur le point d'émission, leur relation avec les coordonnées spatiales  $(x', y')$  sur le plan image sont :  $x' = C \cos(\varphi) \sin(\theta)$  et  $y' = C \sin(\varphi) \sin(\theta)$  où  $C$ , est une constante proportionnelle à la taille du détecteur,  $\varphi$  est la coordonnée sphérique azimutale et  $\theta$  la coordonnée sphérique polaire lié à l'inclinaison du rayon par rapport à l'axe optique.

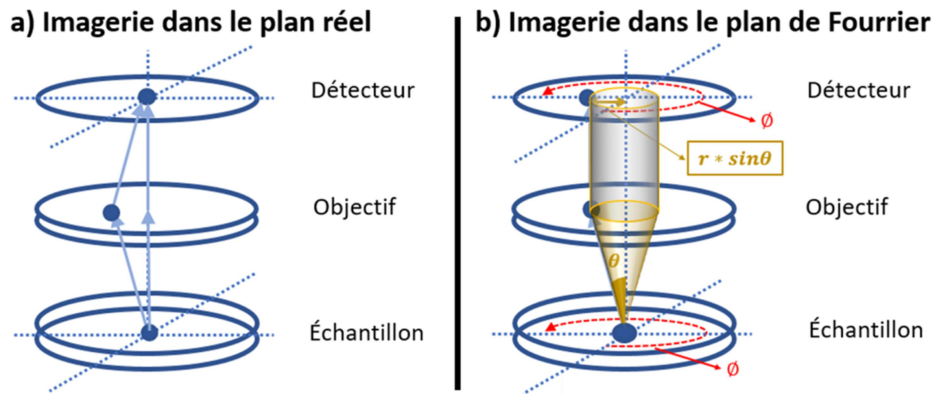


Figure II.18. Vue schématique illustrant la trajectoire des rayons de lumière dans le bras d'image du microscope lorsqu'ils sont émis par l'échantillon jusqu'ils arrivent au détecteur pour une configuration d'imagerie dans le plan réel (a) et dans le plan de Fourier (b). L'image en dessus de chaque schéma illustre un exemple typique d'une surface rugueuse imagée selon les deux modes d'imagerie.

## II.2.4. Conception Optique du Bras d'Image

Le bras d'image du microscope est conçu de façon à pouvoir obtenir des images du plan réel (objet) sur lequel se trouve l'échantillon, ou des images du plan Fourier correspondant au plan focal arrière de l'objectif de microscope utilisé pour imager l'échantillon. Le passage d'un mode d'imagerie à l'autre se fait de manière séquentielle en modifiant la configuration physique des éléments optiques du microscope. Afin de rendre l'utilisation du microscope simple, il a été décidé de privilégier des solutions qui minimisent le nombre d'opérations à faire au niveau des éléments optiques du microscope pour passer d'une configuration à l'autre. Lors de l'étape de conception, une attention particulière a été portée sur des configurations discutées dans la littérature permettant une imagerie du plan de Fourier et du plan réel [4, 41-49]. La conception du bras d'éclairage s'est fortement inspirée de la configuration C discutée en [42]. Selon cette configuration, le passage entre l'espace Fourier et l'espace Réel se fait en substituant une des lentilles du montage par une autre lentille de focale différente situé au même endroit. L'avantage supplémentaire ce de cette configuration est qu'elle permet de conserver intouchée la position et la mise au point de la caméra et des éléments optiques qui succèdent la lentille qui doit être échangée pour passer d'un mode d'imagerie à un autre.

En plus d'une commutation facile, le montage optique doit permettre : i) le contrôle de la taille et de l'aperture des rayons provenant de la zone imagée, et ii) l'installation de l'analyseur d'états de polarisation, qui est un dispositif nécessaire pour pouvoir créer un polarimètre complet de Mueller. Comme sera détaillé dans la section I.4 de ce chapitre, l'analyseur d'états de polarisation impose quelques contraintes par sa taille, environ 15 cm, et par le fait qu'il y a des endroits plus favorables

que d'autres où il peut être placé dans le montage. Pour répondre à l'ensemble de contraintes posées par l'introduction d'un polarimètre à l'intérieur d'un microscope, le montage optique utilise un objectif de microscope, un système à quatre miroirs sphériques et une caméra équipée par le constructeur d'un objectif à focale fixe. Comme dans le cas du bras d'éclairage, et afin de pouvoir travailler dans un domaine spectral large, des miroirs sphériques ont été utilisés dans le montage pour éviter des aberrations chromatiques liées à la dépendance spectrale de la focale des lentilles conventionnelles, ainsi que des problématiques liées au traitement antireflet de celles-ci.

Les figures II.19 a) et b) montrent schématiquement le montage optique du bras d'image configuré pour réaliser une imagerie dans le plan réel et dans le plan de Fourier respectivement. Ces schémas ont été simplifiés en utilisant des lentilles à la place de miroirs sphériques pour faciliter l'illustration de la fonction des différents composants optiques dans le montage. D'ailleurs, pour des raisons de clarté, les proportions des schémas originaux simulés avec le logiciel de conception optique n'ont pas été respectées ; la dimension horizontale a été réduite (contractée) par rapport à la dimension verticale pour créer les images représentées sur la figure.

Le premier des éléments optiques du bras d'imagerie est l'objectif de microscope. Afin de garantir l'achromaticité du microscope dans une gamme spectrale large, l'objectif de microscope utilisé pour imager l'échantillon est un type de système réflectif connu sous le nom de Schwarzschild ou bien Cassegrain inversé. Le fait que l'objectif de microscope utilisé soit corrigé à l'infini veut dire qu'il forme des images à l'infini des objets se trouvant sur le plan objet image. Une façon alternative de présenter ce type d'objectif consiste à dire que les rayons lumineux émis sous forme d'ondes sphériques par un point lumineux situé sur le plan objet, seront captés et transformés par l'objectif en rayons collimatés, autrement dit, en ondes planes. La direction des rayons collimatés, (ou des ondes planes), à la sortie de l'objectif de microscope dépend de la position qui occupait le point de lumière émetteur par rapport à l'axe optique. Si celui-ci était situé sur l'axe optique, les rayons à la sortie de l'objectif seront collimatés et parallèles à l'axe optique. Si ce point était légèrement décalé par rapport à l'axe optique les rayons sortiront de l'objectif collimatés mais avec une certaine inclination par rapport à l'axe optique. L'inclination maximale des faisceaux lumineux qui parviennent à émerger de l'objectif de microscope crée un faisceau avec une petite divergence et détermine en même temps la taille de l'aire (*Field of View*, FOV) qui peut être imagée.

Bien que le choix du condenseur dans le bras d'éclairage et l'objectif dans le bras d'image soit à priori arbitraire, le fait d'utiliser des éléments optiques avec des apertures numériques et des grossissements équivalents sert à maximiser l'efficacité du transfert de photons d'un bras à l'autre du microscope. Ceci s'explique car l'aire de la zone de l'échantillon éclairée et imagée sont comparables, et, en absence d'une diffusion angulaire importante par l'échantillon le cône de lumière le plus ouvert incident sur l'échantillon et le cône de lumière le plus divergent collecté sont aussi équivalents. Dans le cas du microscope polarimétrique, les objectifs de microscope utilisés dans les deux bras sont identiques.

Dans les deux schémas montrés dans la figure, deux familles de rayons ont été représentées en rouge et en bleu. L'origine de la simulation du trajet des rayons appartenant aux deux familles se situe sur le plan focal arrière (BFP) de l'objectif de microscope utilisé pour l'image et finit sur un plan qui représente l'aire sensible (*Focal plane array*, FPA) de la caméra utilisée comme détecteur. La simulation des trajectoires des rayons ne commence pas sur le plan où se situe l'échantillon, car



l'objectif ici est d'illustrer la fonction du montage optique du bras d'éclairage et non pas celle de l'objectif, dont nous manquons d'informations propriétaires du constructeur pour le simuler proprement. Malgré cela, les éléments caractéristiques du faisceau de rayons lumineux utilisé pour la simulation notamment, une divergence de 6°, et une taille de 8 mm au niveau du plan focal arrière de l'objectif de microscope, correspondent aux spécifications données par le fabricant de l'objectif de microscope (voir le Tableau 1 dans la section IV.2 pour plus de détails) et permettent de réaliser une simulation réaliste. Les couleurs des rayons ont été choisis pour rendre évident le fait que le système optique produit soit une image du plan objet où se trouve l'échantillon, soit du plan focal arrière de l'objectif de microscope, en fonction du mode d'imagerie choisi.

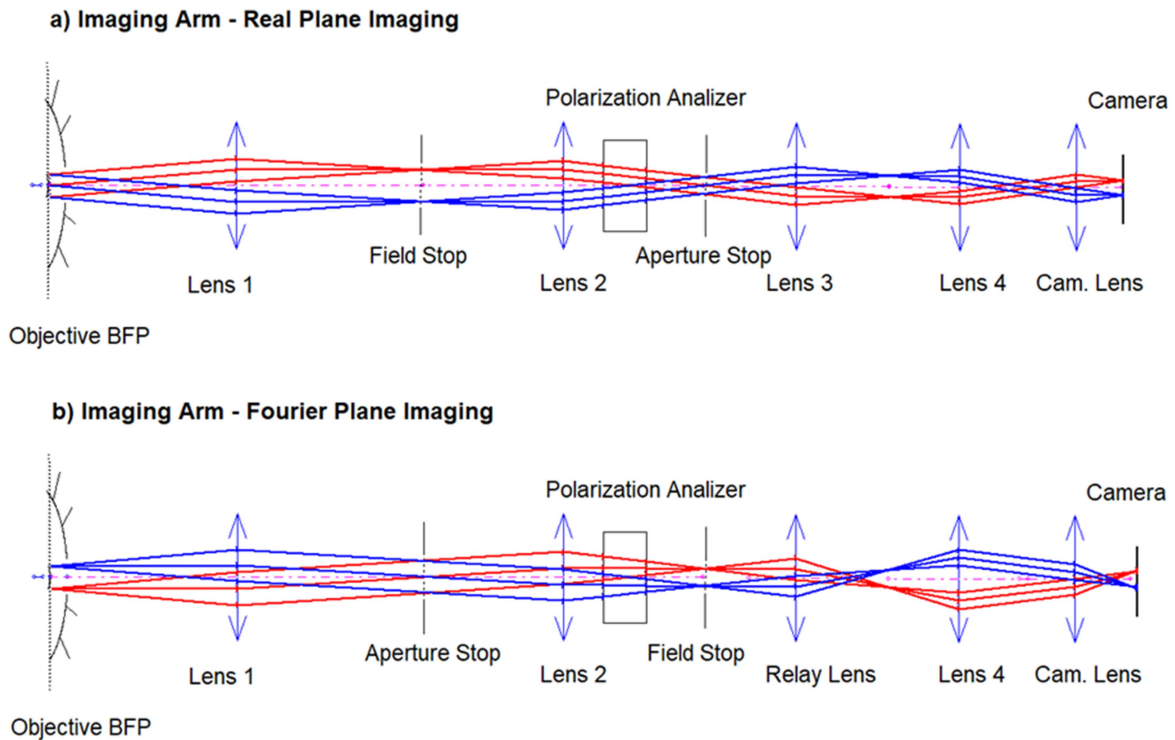


Figure II.19. a) Schéma optique du bras d'image pour imager le plan réel et b) le plan de Fourier.

### Configuration pour l'imagerie du plan réel objet

Les couleurs rouge et bleu ont été utilisés dans le schéma optique sur la figure II.19.a pour représenter deux familles de rayons collimatés émergeant du plan focal arrière de l'objectif de microscope et se propageant dans des directions différentes. Ces deux familles de rayons correspondent à des faisceaux de lumière émis par deux points situés sur les bords externes de la zone imagée par l'objectif. La configuration optique fait que les rayons appartenant à une famille convergent sur un point donné sur l'aire sensible de la caméra utilisée comme détecteur créant ainsi une image, non du plan focal arrière, mais du plan réel où se trouve l'échantillon.

La fonction de la lentille 1 qui se trouve juste après l'objectif de microscope est de former une image réelle magnifiée du plan objet de l'échantillon (appelée image secondaire) dont la taille correspond à celle de la zone imagée multiplié par le grossissement de l'objectif de microscope. A l'endroit où se forme l'image secondaire se place un diaphragme qui joue le rôle de diaphragme de champ en limitant la zone de l'échantillon observée.



Les quatre autres lentilles qui se trouvent après le diaphragme de champ forment deux relais optiques couplés. Les lentilles 2 et 3 forment le premier de ces deux relais dont la fonction principale est de créer un espace suffisant pour pouvoir placer ultérieurement l'analyseur d'états de polarisation. Ce premier relais permet aussi de placer un deuxième diaphragme qui jouera le rôle dans cette configuration d'imagerie de diaphragme d'aperture en limitant la divergence des rayons qui arrivent sur le détecteur. La lentille 3 forme une deuxième image secondaire du plan objet. La lentille 4 et l'objectif de la caméra forment un deuxième relais dont l'objectif est de transporter la deuxième image secondaire tout en adaptant sa taille à celle de la surface sensible de la caméra.

### *Configuration pour l'imagerie du plan de Fourier*

Les configurations optiques pour imager le plan de Fourier et le plan objet réel sont très similaires car le seul élément qui diffère entre les deux est la lentille 3 discutée précédemment, qui est substitué par une lentille de relais (appelé « Relay lens » sur la figure II.19.b). Le changement du mode d'imagerie modifie aussi la fonction des deux diaphragmes. Les diaphragmes de champ et d'aperture en mode imagerie du plan réel objet deviennent les diaphragmes d'aperture et de champ respectivement en mode imagerie du plan de Fourier.

Les couleurs rouge et bleu des rayons correspondant à deux familles différentes représentées sur le schéma optique de la figure II.19.b ont été choisis pour mettre en exergue le fait que le système optique crée une image du plan focal arrière de l'objectif de microscope sur la zone sensible à la lumière de la caméra utilisée comme détecteur. Les rayons représentent le rayonnement émis par deux points situés sur les bords externes de la pupille du microscope, qui est l'endroit où se situe physiquement le plan focal arrière de l'objectif selon les spécifications du fabricant. Le choix fait sur les couleurs montre que des rayons émergents d'un point arbitraire situé sur le plan focal arrière confluent sur un autre point du détecteur formant ainsi une image. La fonction de la lentille 1 est celle de créer une image de l'échantillon sur l'endroit où se place le diaphragme qui joue le rôle de diaphragme d'aperture, car en limitant l'aire de l'échantillon considérée limite en fait l'intensité du diagramme de Fourier enregistrée par le détecteur. La lentille 2 continue à créer quant à elle une image du plan focal arrière (image secondaire) sur la position où se trouve le deuxième diaphragme. Ce diaphragme joue le rôle de diaphragme de champ car limite la taille de la figure de Fourier qui est imagée par le détecteur. Le système formé par la lentille 2 et la lentille de relais crée l'espace nécessaire pour héberger l'analyseur d'états de polarisation et deuxième diaphragme. Enfin, le triplet formé par la lentille de relais, la lentille 4 et l'objectif de la caméra, permet de transporter l'image secondaire du plan focale arrière vers la zone sensible de la caméra. Ce triplet adapte aussi la taille de l'image secondaire pour la faire coïncider avec celle de la zone sensible de la caméra.

## **II.2.5. Conception Optomécanique Globale**

La conception d'un système optique complexe comme le microscope polarimétrique ne doit pas se limiter à l'utilisation d'un logiciel de simulation optique pour le traçage de rayons, sinon qu'elle doit aussi prendre en compte des aspects liés à des caractéristiques mécaniques et physiques des composants utilisés. Ainsi, la conception de l'instrument en devenir doit anticiper l'usage qui sera fait

de celui-ci afin de favoriser une utilisation simple, sûre et confortable. Considérons ici à titre d'exemple la question des miroirs escamotables qui servent à changer de mode d'imagerie pour illustrer ce qui a été fait dans le cadre d'une conception opto-mécanique globale. Du point de vue du logiciel du traçage de rayons il y a plusieurs alternatives équivalentes quant au choix des orientations et des positions de ces miroirs sur le montage. Si ce n'était que les aspects purement optiques qui comptaient, le choix parmi ces alternatives serait complètement arbitraire. Cependant, lorsque la facilité et la sécurité d'utilisation sont prises en compte, les solutions qui permettent de positionner des miroirs près de l'opérateur du microscope ainsi que sur des positions qui évitent de toucher d'autres éléments lors de la manipulation est à privilégier.

Lorsque que les montages deviennent complexes et qui plus est, s'étalent sur les trois dimensions de l'espace, le fait de pouvoir visualiser la position de chaque composant dans le volume, facilite grandement le processus de conception globale opto-mécanique et permet de valider des options *a priori* obtenues à partir du logiciel de simulation optique basé sur le traçage de rayons. Pour les besoins de la simulation nous avons utilisé un logiciel de CAO (Conception Assisté par Ordinateur) qui nous permet de prépositionner sur un espace numérique des modèles des différents composants utilisés. Nous pouvons ainsi vérifier par exemple que l'encombrement des éléments optiques (miroirs, lentilles, polariseurs, moteurs...) est compatible avec leur position, et avec les dimensions prévues par le logiciel de conception optique. Si des incompatibilités sont détectées grâce à la simulation CAO, une nouvelle configuration optique peut être testée afin de les éviter. L'itération entre des simulations tridimensionnelles avec le logiciel de CAO et le logiciel de conception optique est nécessaire et permet d'optimiser la configuration finale et d'éviter des incompatibilités au niveau du positionnement et à l'opération des différents composants du système. Le schéma à gauche de la figure II.20 est une vue en perspective correspondant à une simulation réalisée avec le logiciel de CAO montrant l'essentiel du bras d'éclairage et le corps du microscope. L'image à droite de la même figure est une photographie du montage optique réel montrant le bras d'éclairage et une partie du corps du microscope. La comparaison entre la simulation et la réalisation pratique permet de constater la grande similitude entre les deux. Le bras d'éclairage compte surtout des miroirs sphériques et leurs montures respectives. Le générateur d'états n'est pas visible sur cette vue. Le corps du microscope compte une colonne sur laquelle se trouvent les supports motorisés du condenseur, l'échantillon et l'objectif d'imagerie.

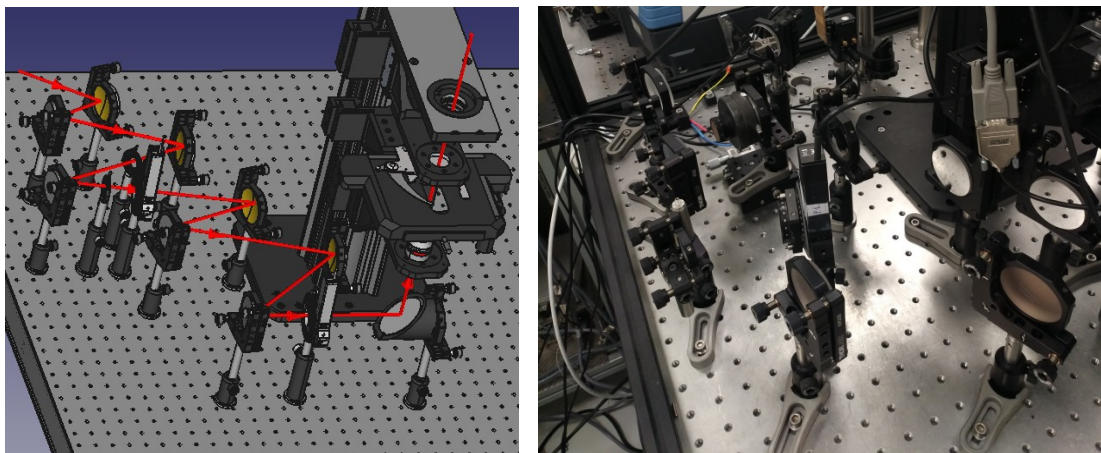


Figure II.20. Image correspondant à la simulation CAO du bras d'éclairage couplé au corps du microscope (gauche). Image montrant le bras d'éclairage et une partie du corps du microscope (droite).

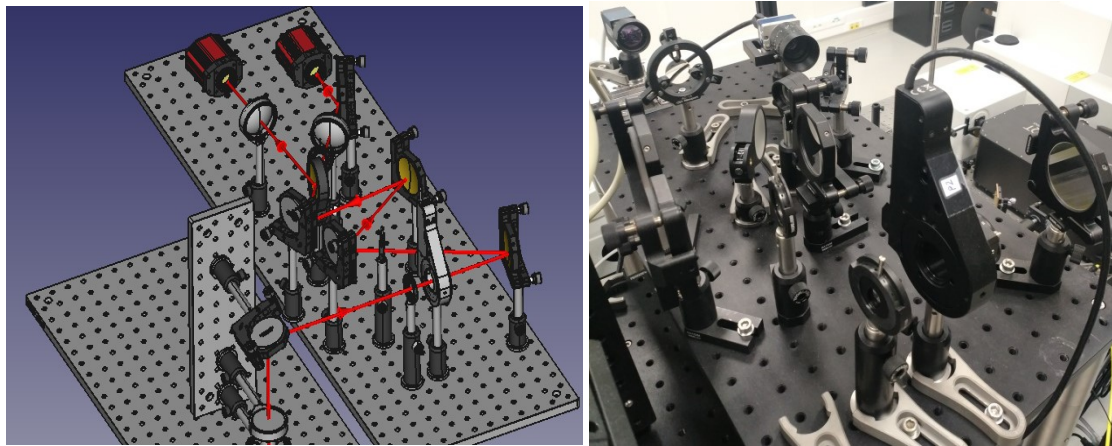


Figure II.21. Image correspondant à la simulation CAO du bras d'image couplé à la partie haute du corps du microscope (gauche). Image du montage réel montrant le bras d'image et la partie haute du corps du microscope polarimétrique (droite).

Le schéma à gauche de la figure II.21 est une vue en perspective correspondant à une simulation réalisée avec le logiciel de CAO montrant le bras d'image et la partie haute du corps du microscope. L'image à droite de la figure II.21 est une photographie du montage optique réel montrant aussi la partie haute du corps du microscope et le bras d'éclairage. Le bras d'image contient des miroirs sphériques et leurs montures respectives, l'analyseur d'états de polarisation et deux caméras pour réaliser des images dans le domaine spectral visible et dans l'infrarouge.

## II.3. Sélection de composants

### II.3.1. La Source de Lumière

Choisir la source de lumière adéquate est un point essentiel. Afin de tester l'éventuel réalisabilité d'un microscope infrarouge couplé à une source d'haute brillance et puissance il y a deux solutions possibles, soit utiliser un faisceau laser ou bien un faisceau synchrotron. Le faisceau synchrotron offre un domaine de longueurs d'onde continu et très large allant de l'infrarouge lointain jusqu'au visible ce qui fait de lui le candidat idéal pour être couplé à un microscope multispectrale. Malheureusement l'accès à un faisceau synchrotron est limité pour des besoins du service qu'une ligne de lumière doit donner à l'ensemble de ses utilisateurs. Un faisceau laser, même s'il est accordable, offre un domaine spectral plus réduit qu'un faisceau synchrotron, cependant, il est plus facilement accessible, et pour certaines longueurs d'onde il est aussi plus puissant qu'un faisceau synchrotron. C'est donc pour des raisons purement pratiques qu'il a été jugé intéressant d'utiliser dans un premier temps une source laser pour mener à bien l'assemblage et les premiers tests du microscope polarimétrique, et dans un deuxième temps utiliser le faisceau synchrotron lorsque le fonctionnement de l'instrument soit optimisé et validé.

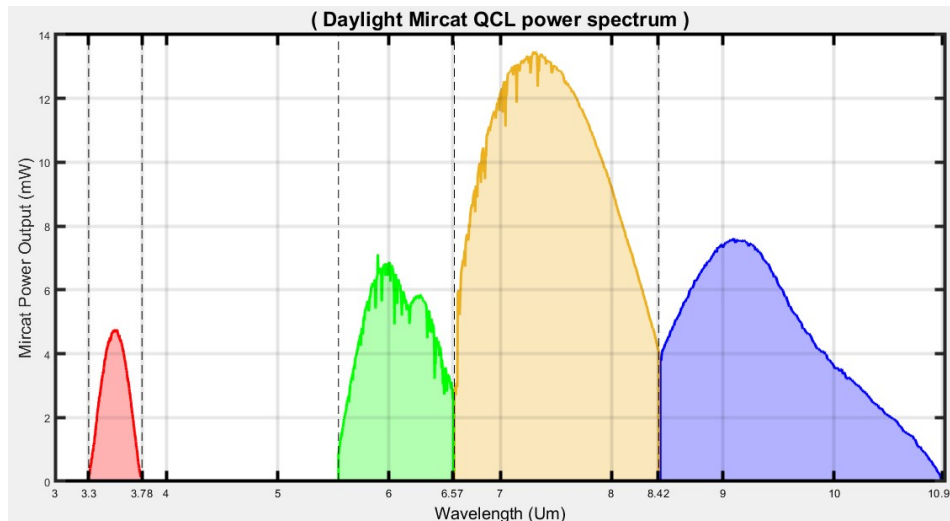


Figure II.22. Diagramme montrant la puissance spectrale émise par le laser utilisé pour ce travail.

La source de rayonnement infrarouge utilisée pour cette étude est un laser à cascade quantique (QCL) accordable Mircat-QT (DRS DAYLIGHT) à quatre modules. Le domaine spectral de la source couvre le domaine de spectrale continu entre 5.5 et 11  $\mu\text{m}$  ainsi qu'un petit domaine compris entre 3.3 et 3.78  $\mu\text{m}$ . Le laser fonctionne en mode pulsé émettant des pulses de très courte durée, environ 40ns à une fréquence variable entre autour de 3 MHz. Le faisceau est polarisé linéairement, ce qui permet, en principe de ne pas utiliser de polariseur linéaire pour le PSG. La taille de spot est de 2.5 mm. La figure II.22 montre la puissance spectrale du faisceau émis par le laser utilisé pour ce travail mesuré avec un puissancemètre calibré. La graphique a été divisée en quatre zones pour différencier le domaine de travail respectif des quatre modules intégrés dans le laser.

### II.3.2. Objectifs de Microscope

Afin d'identifier les objectives adéquates, tout d'abord on a défini le cahier de charge pour la sélection des objectives qui contient deux aspects suivants : avoir une réponse achromatique afin d'éviter soit des aberrations chromatiques et permettre de travailler sur un domaine spectral large et ii) pouvoir éclairer l'échantillon avec une ouverture numérique large afin de pouvoir avoir une grande variété d'angles d'incidence potentiellement disponibles et pouvoir exploiter ainsi au maximum les possibilités de l'imagerie de Fourier. Les objectifs qui permettent de satisfaire au mieux les deux critères de sélection sont ceux de type réflectif. Etant constitués de deux miroirs, leur domaine de travail s'étend naturellement du visible à l'infrarouge avec une excellente qualité. Hormis des éléments optiques faites sur mesure, les objectifs de microscope réflectifs commerciaux les plus courants sont de type Schwarzschild ou Cassegrain inversés [50, 51]. Comme indiqué sur le schéma illustré dans la figure II.23, ce type d'objectif utilise deux miroirs, un concave (secondaire) et l'autre convexe (primaire) pour focaliser un faisceau de lumière sur une toute petite surface. En fonction du rapport de focales et de la distance qui sépare les miroirs, l'objectif peut avoir une conjugaison dite finie ou infinie. Si la conjugaison est à l'infini, comme c'est le cas des modèles utilisés pour ce travail, l'objectif de microscope transforme un faisceau collimaté incident en un petit spot limité par diffraction. Des objectifs corrigés à l'infini offrent plus de flexibilité au niveau de la

conception optique que des objectifs avec une conjugaison finie et évitent la formation d'images doubles si des éléments optiques comme des polariseurs ou des retardateurs sont introduits dans le chemin optique [52].

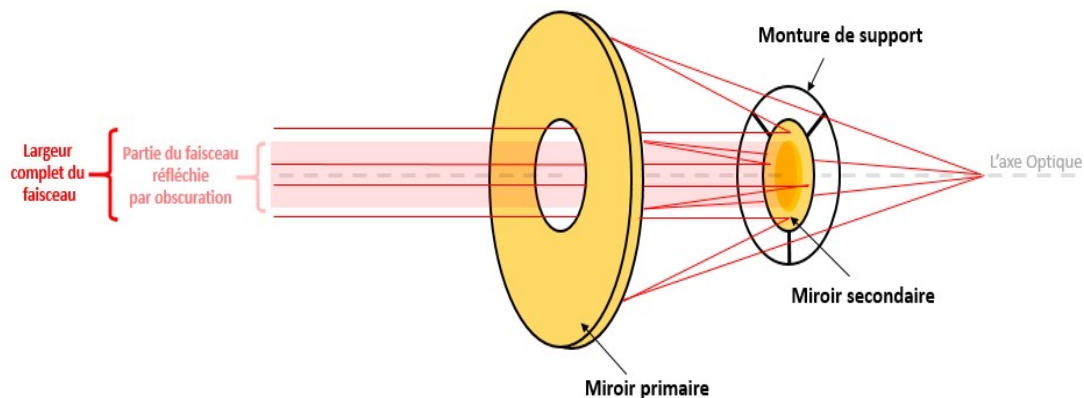


Figure II.23. Schéma la configuration optique des deux miroirs (primaire et secondaire) utilisés pour créer un objective de type Schwarzschild.

Une caractéristique commune à tous les objectifs de type Schwarzschild est l'obscurisation d'une partie du faisceau due à la présence du petit miroir secondaire qui obstrue une partie du faisceau lumineux. L'obscurisation agit comme un diaphragme qui limite le passage de rayons avec une ouverture comprise entre zéro, (parallèles à l'axe optique) et une valeur caractéristique de l'objectif considéré. Ainsi, le domaine d'angles d'incidence accessibles est limité entre une valeur minimale déterminée par l'obscurisation et une valeur maximale déterminée par l'aperture numérique de l'objectif. Les images de Fourier montrant la pupille de sortie de l'objectif, présentent une zone circulaire centrale sombre correspondant à l'obscurisation, entourée d'un anneau circulaire clair correspondant au domaine d'angles d'incidence de travail accessibles. L'obscurisation est définie comme le rapport entre l'aire de la zone circulaire noire (obstruée) et l'aire totale de la pupille de sortie de l'objectif. L'obscurisation typique des objectifs de microscope commerciaux se situe entre 18 et 22 %.

Les paramètres essentiels à considérer lors du choix d'un objectif sont : l'angle d'incidence maximal, l'angle d'incidence minimale et la distance de travail (Working distance). Le tableau 1 regroupe les caractéristiques de quelques objectifs de microscope commerciaux. Les caractéristiques listées sont l'aperture numérique, NA, le diamètre de la pupille d'entrée  $\varnothing_{PUP}$ , la distance focale, F, la distance de travail (working distance), WD, l'obscurisation, OBS, l'angle d'incidence minimal,  $\theta_{min}$ , l'angle d'incidence maximale  $\theta_{max}$ , et le domaine d'angles d'incidence accessible  $\Delta\theta = \theta_{max} - \theta_{min}$ . Sur le tableau, les distances et tailles sont exprimées en millimètres et les angles en degrés.

Les objectifs choisis sont le 25X de la société Thorlabs, et le 40X de la société Pike. Ensemble, ces deux objectifs permettent de maximiser le domaine d'angles d'incidence de travail de la combinaison (entre 9.7° et 51.3°) tout en gardant une continuité entre les domaines angulaires respectifs. D'un autre côté, cette combinaison d'objectifs permet d'assurer une distance de travail suffisante pour pouvoir loger des échantillons d'épaisseurs diverses.



Marque / modèle	NA	$\varnothing_{PU}$ P	F	WD	OBS	$\Theta_{min}$	$\Theta_{max}$ x	$\Delta\theta$
THORLABS 15x	0.3	8	13.3	23.8	0.22	7.3	17.4	10.1
THORLABS 25x	0.4	6.4	8	12.5	0.22	9.7	23.5	13.1
THORLABS 40x	0.5	5.1	5	7.8	0.18	11	30	19
PIKE 20x	0.7	15	10	14	0.52	24.1	44.5	20
PIKE 40x	0.78	8.5	5	8.3	0.42 9	25.3	51.3	26
PIKE 100x	0.8	3.4	2	1.8	0.6	29.33	53.1	23.7

Tableau 1. Caractéristiques d'un ensemble représentatif d'objectifs commerciaux standard.

A titre d'exemple la figure II.25 montre deux images d'une mire de test de résolution latérale imagée avec le microscope polarimétrique dans l'espace réel (a) et l'espace de Fourier (b). Les 6 petites lignes visibles sur l'image de droite correspondent aux 3 éléments de soutien des miroirs secondaires des objectifs de microscope utilisés pour éclairer et pour imager l'échantillon respectivement.

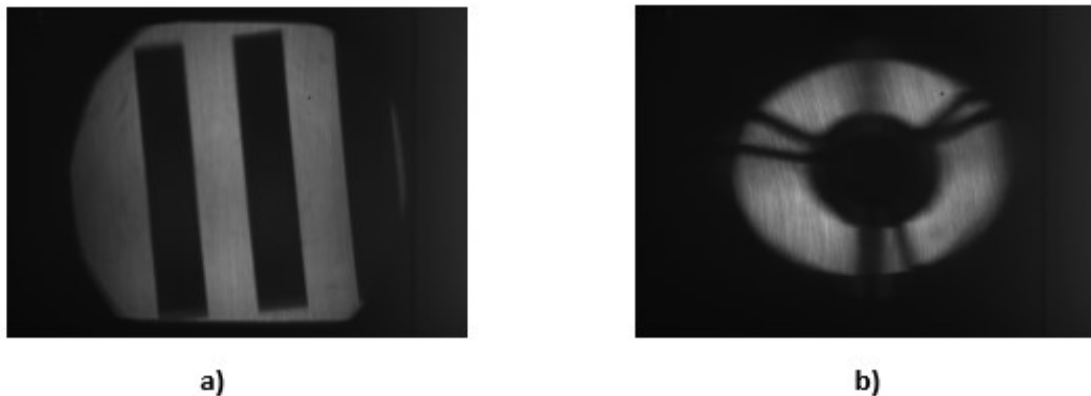


Figure II.25. Deux images prises avec le microscope polarimétrique permettant de visualiser l'espace réel a) et l'espace de Fourier b). L'échantillon considéré en a) est une portion d'une mire type USAF 1951 permettant de tester la résolution des images.

### II.3.3. Les détecteurs : Caméras visible et infrarouge

#### Caméra infrarouge

Parmi les différents caméras infrarouges disponibles commercialement nous avons choisi dans un premier temps, un modèle simple afin de pouvoir prouver le principe de l'imagerie polarimétrique infrarouge. Parmi les différentes alternatives sur le marché, la caméra choisie pour cette étude est un modèle commercial (Calibir GM, Teledyne DALSA) qui utilise comme détecteur un circuit intégré formé par une matrice de micro bolomètres non-refroidis. Le nombre de pixels actifs est de 320x240, mais suffisant pour obtenir des images avec une résolution latérale de 7  $\mu\text{m}$  lorsqu'elle est intégrée dans l'ensemble du microscope. Cette résolution est proche de la limite de résolution classique du

microscope à des longueurs d'onde infrarouges. La caméra infrarouge peut être aussi pilotée par un logiciel externe type Matlab ou Labview grâce à un paquet de programmation intégré. La vitesse de transfert d'images est inférieure à 1 s par image grâce à une connexion type Ethernet GIGe. Le domaine spectral de longueurs d'onde auquel est sensible le détecteur est compris entre 7.5 et 16  $\mu\text{m}$ . La figure II.26 représente la réponse de la caméra sur une échelle normalisée.

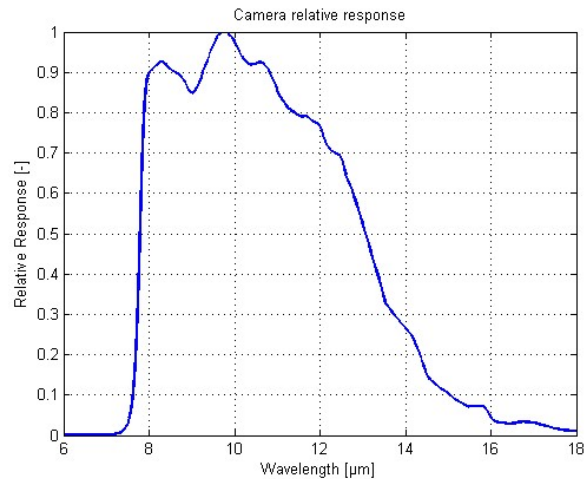


Figure II.26. Courbe typique de réponse spectrale pour bolomètres

### Camera visible

En ce qui concerne la camera visible, le choix s'est porté sur un Camera de type Génie Nano commercialisée par TELEDYNE DALSA, modèle G3-GM11-M2020 dont les caractéristiques principales sont : Une grande résolution de 2048x1536 pixels, la possibilité d'être pilotée via un logiciel externe comme Matlab, une vitesse de transfert d'images via un port Ethernet GiGe inférieure à 1 s par image, et finalement une profondeur de 16-bits. La caméra visible est sensible dans un domaine spectral compris au moins entre 400 et 1000 selon les spécifications du constructeur comme indiqué sur la figure II.27.

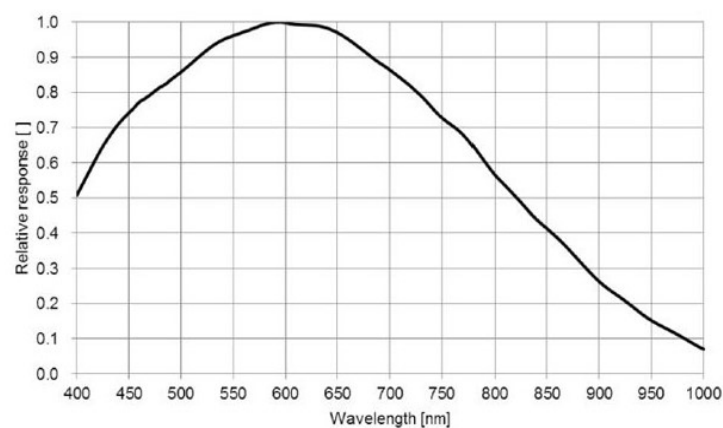


Figure II.27. Sensibilité du capteur Sony IMX265 installé sur la camera visible. Mesure fournie par le constructeur.

## Bibliographie

- [1] R. Chipman, W.-S. T. Lam, G. Young, *Polarized Light and Optical Systems*, CRC Press (2019).
- [2] D. Goldstein, *Polarized Light*, 2<sup>nd</sup> edition, Marcel Dekker, (2003).
- [3] Hauge, P. S., "Recent development in instrumentation in ellipsometry," *Surface Sci.*, 96, 108–140 (1980).
- [4] S. Ben Hatit, M. Foldyna, A. De Martino, B. Drévilion, Angle-resolved Mueller polarimeter using a microscope objective, *Phys. Stat. Sol. (a)* 205 (2008) 743–747. DOI: 10.1002/pssa.200777806.
- [5] J. Palviainen, R. V. J. Silvennoinen, J. Rouvinen, Analysis of microfibril angle of wood fibers using laser microscope polarimetry, *Opt. Eng.* 43 (2004). DOI: 10.1117/1.1630057.
- [6] A. Le Gratiot, A. Mohebi, F. Callegari, P. Bianchini, A. Diaspro, Review on Complete Mueller Matrix Optical Scanning Microscopy Imaging, *D* 2021, *Appl. Sci.* 2021, 11(4), 1632, DOI : 10.3390/app11041632.
- [7] D. Lara, C. Dainty, Axially resolved complete Mueller matrix confocal microscopy, *Appl. Opt.* 45 1917 (2006), DOI: 10.1364/AO.45.001917.
- [8] E. Garcia-Caurel, A. De Martino, B. Drevillon, Spectroscopic Mueller polarimeter based on liquid crystal devices, *Thin Solid Films*, 455 (2004) 120-123. DOI : 10.1016/j.tsf.2003.12.056.
- [9] A. De Martino, Y-K. Kim, E. Garcia-Caurel, B. Laude, B. Drévilion, Optimized Mueller polarimeter with liquid crystals, *Opt. Lett.* 28 (2003) 616-618.
- [10] L. M. S. Aas, D. G. Skåre, P. G. Ellingsen, P. A. Letnes, M. Kildemo, Design, optimization and realization of a ferroelectric liquid crystal based Mueller matrix ellipsometer using a genetic algorithm, *Thin Solid Films*, 571 (20014) 120-123. DOI : 10.1016/j.tsf.2013.11.146.
- [11] Y. Chen, H. Xianyu, J. Sun, P. Kula, R. Dabrowski, S. Tripathi, R. J. Twieg, S.-T. Wu, Low absorption liquid crystals for mid-wave infrared applications, *Opt. Express* 19, (2011) 10843-10848. DOI. 10.1364/OE.19.010843.
- [12] E. K. Petrak, T. G. Baur, Liquid crystals for polarization control in the MWIR, *Proceedings of SPIE Polarization: Measurement, Analysis, and Remote Sensing XI* (2014) 909910. DOI: 10.1117/12.2053458.
- [13] R. M. A. Azzam, *Photopolarimetric measurement of the Mueller matrix by Fourier analysis of a single detected signal*, *Opt. Lett.* 2 148 (1978), DOI: 10.1364/OL.2.000148.
- [14] M. H. Smith, *Optimization of a dual-rotating-retarder Mueller matrix polarimeter*, *Appl. Opt.* 41 2488 (2002), DOI: 10.1117/12.452904.
- [15] D. A. Goldstein, *Mueller matrix dual-rotating retarder polarimeter*, *Appl. Opt.* 31 6676 (1992), DOI: 10.1364/AO.31.006676.



- [16] E. Garcia-Caurel, A. Lizana, G. Ndong, B. Al-Bugami, C. Bernon, E. Al-Qahtani, F. Rengnez, A. de Martino, *Mid-infrared Mueller ellipsometer with pseudo-achromatic optical elements*, Appl. Opt. 54 2776 (2015), DOI: 10.1364/AO.54.002776
- [17] F. Stabo-Eeg, M. Kildemo, I. S. Nerbø, M. Lindgren, "Well-conditioned Multiple Laser Mueller Matrix Ellipsometer", Opt. Eng. 47, 073604 (2008). DOI: 10.1117/1.2957047.
- [18] J. Scott Tyo, "Design of optimal polarimeters: maximization of signal-to-noise ratio and minimization of systematic error" Appl. Opt. 41, 619-630 (2002). DOI: 10.1364/ao.41.000619.
- [19] J. Scott Tyo, "Noise equalization in Stokes parameter images obtained by use of variable-retardance polarimeters" Opt. Lett. 25, 1198-1200 (2000). DOI: 10.1364/ol.25.001198.
- [20] D. S. Sabatke, M. R. Descour, E. Dereniak, W. C. Sweatt, S. A. Kemme, and G. S. Phipps, Optimization of retardance for a complete Stokes polarimeter, Opt. Lett. 25, 802–804 (2000). DOI: 10.1364/ol.25.000802.
- [21] M.R. Foreman, A. Favaro, A. Aiello, "Optimal Frames for Polarization State Reconstruction", Phys. Rev. Lett. 115, 263901 (2015). DOI: 10.1103/PhysRevLett.115.263901.
- [22] P. Delsarte, J. M. Goethals, and J. J. Seidel, "Spherical codes and designs", Geometriae Dedicata 6, 363 (1977). DOI: 10.1007/BF03187604.
- [23] Y. Mimura, A construction of spherical 2-design, Graphs. Combi. 6, 369 (1990). DOI: 10.1007/BF01787704.
- [24] D. Clarke, Achromatic Halfwave Plates and Linear Polarization Rotators, Opt. Act. 14 (1967) 343-350. DOI: 10.1080/713818045.
- [25] P. Hariharan, Broad-band apochromatic retarders: choice of materials, Opt. Laser Technol. 34 (2002) 509-511. DOI: 10.1016/S0030-3992(02)00050-6
- [26] P. Hariharan, P.E. Ciddor, Broad-band superachromatic retarders and circular polarizers for UV visible and near infrared, J Mod. Opt. 15 (2004) 2315-2322. DOI: 10.1080/09500340408232660.
- [27] D. B. Chenault and Russell A. Chipman, "Infrared birefringence spectra for cadmium sulfide and cadmium selenide," Appl. Opt. 32, 4223-4227 (1993).
- [28] D. A. Roberts, "Dispersion equations for nonlinear optical crystals: KDP, AgGaSe<sub>2</sub>, and AgGaS<sub>2</sub>," Appl. Opt. 35, 4677-4688 (1996).
- [29] M. Born and E. Wolf, Principles of Optics, 6th ed. (Pergamon, Oxford, 1980) p. 50.
- [30] J. M. Bennett, "A Critical Evaluation of Rhomb-Type Quarterwave Retarders," Appl. Opt. 9, 2123-2129 (1970).
- [31] K. B. Rochford, A. H. Rose, P. A. Williams, C. M. Wang, I. G. Clarke, P. D. Hale, and G. W. Day, "Design and performance of a stable linear retarder," Appl. Opt. 36, 6458-6465 (1997).
- [32] B. Ya. Zeldovich, I. V. Ciapurin, H. V. Sarkissian, C. Tsai, " Fresnel Rhomb and Other Devices for Handling and Teaching Polarization: Inexpensive Design", 10/08/2004, 10.1364/ETOP.2003.EWE5.

- [33] N. N. Nagib and S. A. Khodier, "Optimization of a rhomb-type quarter-wave phase retarder," *Appl. Opt.* 34, 2927-2930 (1995).
- [34]. A. Köhler, "A new method of illumination for photomicrographical purposes," *J. Roy. Micr. Soc.* 10, 433–440 (1893).
- [35] J. Girkin, *A Practical Guide to Optical Microscopy*, CRC Press, Taylor & Francis Group, London, New York (2020)
- [36] Tomasz S. Tkaczyk, *Field Guide to Microscopy*, SPIE Field Guides, Vol. FG13 (2010)
- [37] D. B. Murphy, *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*, Willey-Liss (2001).
- [38] H. W. Zieler, *The Optical Performance of the Light Microscope* (2 vols.). Microscope Publications, Ltd., Chicago, 1972 ; vol. 1, 102 pp. ; vol. 2, 110 pp.
- [39] R. K. Reddy, M. J. Walsh, M. V. Schulmerich, P. S. Carney, R. Bhargava, High-Definition Infrared Spectroscopic Imaging, *Appl. Spec.* 67 (2013) 93-105. DOI: 10.1366/11-06568.
- [40] J. W. Goodman, *Introduction to Fourier Optics*, Third Edition, Roberts & Company Publishers (2005)
- [41] D. Dominguez, N. Alharbi, M. Alhusain, A. A. Bernussi, L. G. de Peralta, Fourier Plane Imaging Microscopy, *J. App. Phys.* 116 (2014) 103102. DOI: 10.1063/1.4895157
- [42] J. A. Kurvits, M. Jiang, and R. Zia, Comparative analysis of imaging configurations and objectives for Fourier microscopy, *J.O.S.A. A* 32 (2015) 2082-2092. DOI: 10.1364/JOSAA.32.002082.
- [43] R. Shi, N. Janunts, C. Hellmann, F. Wyrowski, Vectorial physical-optics modeling of Fourier microscopy systems in nanooptics, *J.O.S.A. A* 37 (2020) 1193-1205. DOI: 10.1364/JOSAA.392598.
- [44] G. Zheng, R. Horstmeyer, and C. Yang, Wide-field, high-resolution Fourier ptychographic microscopy, *Nat. Photonics* 7, (2013) 739–745. DOI: 10.1038/NPHOTON.2013.187.
- [45] R. Biehl, Real space and Fourier microscopy of colloidal suspensions confined to a parallel plate geometry, *Rev. Sci. Inst.* 75 (2004) 906. DOI: 10.1063/1.1687042.
- [46] T. Rothe, M. Schmitz, and A. Kienle, Angular and spectrally resolved investigation of single particles by darkfield scattering microscopy, *J.B.O.* 17 (2012) 117006. DOI: 10.1117/1.JBO.17.11.117006.
- [47] O. Arteaga, S. M. Nichols, J. Antó, Back-focal plane Mueller matrix microscopy: Mueller conoscopy and Mueller diffractometry, *Appl. Surf. Sci.* 421, (2017) 702-706. DOI: 10.1016/j.apsusc.2016.10.129.
- [48] S. Otsuki, N. Murase, H. Kano, Mueller matrix microscopic ellipsometer, *Opt. Comm.*, 305 (2013) 194-200. DOI: 10.1016/j.optcom.2013.04.065, 305.
- [49] O. G. Rodríguez-Herrera, D. Lara, C. Dainty, Far-field polarization-based sensitivity to sub-resolution displacements of a sub-resolution scatterer in tightly focused fields, *Opt. Expr.*, , 18 (2010) 5609. DOI: 10.1364/OE.18.005609.

- [50] K. Schwarzschild, K. Schwarzschild, Untersuchungen zur Geometrische Optik, II—Theorie der Spiegeltelescope, Royal Observatory at Gottingen (1905).
- [51] S. Rosin, Inverse Cassegrain Systems, Appl. Opt. 7 (1968) 1483-1497. DOI: 10.1364/AO.7.001483
- [52] R. E. Fischer, B. Tadic-Galeb, P. R. Yoder, Optical System Design, 2<sup>nd</sup> ed., Chapter 12, Pages 256-257 (2008), SPIE PRESS, DOI : 10.1036/0071472487.

# Chapitre III. Étalonnage et Validation du Microscope Polarimétrique

## Introduction

L'ensemble d'images captées par la caméra utilisée comme détecteur d'un polarimètre est équivalent au produit  $\mathbf{AMW}$ , où  $\mathbf{M}$  est la matrice Mueller de l'échantillon. En conséquence, il faut connaître les deux matrices  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{W}$  à l'avance pour pouvoir calculer la matrice  $\mathbf{M}$ . En théorie, si les éléments optiques composant le PSG et le PSA sont bien connus, les matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  peuvent être modélisées avec précision. En pratique, les matrices expérimentales  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  peuvent être assez différentes du modèle en raison de la présence d'effets dus au désalignement des composants optiques du PSG et du PSA, la méconnaissance de l'ensemble des défauts des éléments optiques, ainsi qu'aux fluctuations de température ou à d'autres facteurs inconnus. Par conséquent, une procédure d'étalonnage est nécessaire pour déterminer leurs valeurs réelles.

Pour le dispositif que j'ai développé dans le cadre du projet doctoral, j'avais le choix d'utiliser une des deux procédures d'étalonnages décrites en détail dans la section suivante. La première approche est le ECM (*Eigenvalue Calibration Method*), ou la méthode des valeurs propres, élaborée au sein du laboratoire LPICM par E. Compain [1]. C'est une procédure qui a prouvé son efficacité et sa solidité depuis longtemps. La deuxième procédure est totalement nouvelle ; j'ai activement participé à son codage et à la vérification expérimentale de sa validité au sein d'une équipe composée de R. Ossikovski, E. Garcia-Caurel et moi-même. Il s'agit de la procédure dénommée PCM (pour *Polarizer Calibration Method*) ou la méthode du polariseur.

J'ai utilisé les deux procédures d'étalonnage dans le but de valider les résultats obtenus. Les deux méthodes prennent automatiquement en compte toutes les imperfections du montage expérimental décrites par un comportement linéaire, déterminant ainsi les vraies matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  sans modélisation préalable détaillée du PSG et du PSA. Elles peuvent être aussi utilisées pour étalonner un polarimètre Mueller en configuration de transmission ou de réflexion.

## III.1. Principe Théorique d'Étalonnage par la Méthode ECM

En ce qui suit on va se référer à des matrices théoriques ou idéales, et à des matrices expérimentales. Afin de distinguer clairement entre les unes et les autres, les matrices théoriques seront notées en majuscules, par exemple le produit des matrices  $\mathbf{A}$ ,  $\mathbf{M}$  et  $\mathbf{W}$  sera noté  $\mathbf{AMW}$ , tandis que la matrice mesurée, produite par la suite des éléments optiques représentés par les matrices idéales  $\mathbf{A}$ ,  $\mathbf{M}$  et  $\mathbf{W}$  sera notée  $(\mathbf{amw})$ . Le bloc entre parenthèses  $(\mathbf{amw})$  désigne une seule matrice, soumise aux règles de l'algèbre matricielle ; cependant ces règles ne peuvent pas être appliquées à

ses éléments constitutifs, soit  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{m}$  ou  $\mathbf{w}$ , individuellement. Ainsi, si on néglige l'effet du bruit et des erreurs systématiques, il sera possible d'écrire :

$$AMW = (amw) \text{ ou bien } MW = A^{-1}(amw) \text{ mais pas } a^{-1}AMW = (mw).$$

Si l'on considère deux échantillons de matrices de Mueller respectives  $M_1$  et  $M_2$ , leurs mesures  $(am_1w)$  et  $(am_2w)$  et leurs équivalences théoriques  $AM_1W$  et  $AM_2W$ , sont liées par les relations suivantes :

$$AM_1W = (am_1w) \quad (3.1)$$

$$AM_2W = (am_2w) \quad (3.2)$$

Si l'on considère que  $M_1$  et  $(am_1w)$  sont inversibles, on aura à partir de l'équation (3.1) :

$$A = (am_1w) W^{-1} M_1^{-1}$$

En remplaçant  $A$  dans (3.2), on obtient :

$$M_1^{-1}M_2W - W(am_1w)^{-1}(am_2w) = 0 \quad (3.3)$$

En faisant les mêmes opérations pour  $W$ , on aura :

$$AM_2M_1^{-1} - (am_1w)^{-1}(am_2w)A = 0 \quad (3.4)$$

Les matrices  $W$  et  $A$  sont respectivement les solutions des systèmes d'équations linéaires (3.3) et (3.4). Les matrices théoriques  $M_1^{-1}M_2$  et  $M_2M_1^{-1}$  ne sont pas encore connues. Le concept mathématique qui permet leur détermination est à l'origine du nom de la méthode d'étalonnage, celui des valeurs propres.

La méthode des valeurs propres consiste à former une famille d'applications linéaires ne dépendant pas de  $A$  (respectivement  $W$ ), dont  $W$  (respectivement  $A$ ) est le seul élément commun aux noyaux de ces applications. Ainsi, on peut affirmer que  $W$  (respectivement  $A$ ) sera proportionnelle au seul vecteur propre correspondant à la valeur propre 0, c'est-à-dire au vecteur propre correspondant à l'élément du noyau. Pour la résolution de  $W$ , les applications linéaires sont de la forme :

$$\begin{aligned} H_{M_1M_2}^W : M(R^{4 \times 4}) &\rightarrow M(R^{4 \times 4}) \\ H_{M_1M_2}^W(X) &= M_1^{-1}M_2 \cdot X - X \cdot (am_1w)^{-1} \cdot (am_2w) \end{aligned} \quad (3.5)$$

En ce qui concerne la matrice  $A$ , la famille d'applications linéaires est à la forme suivante :

$$\begin{aligned} H_{M_1M_2}^A : M(R^{4 \times 4}) &\rightarrow M(R^{4 \times 4}) \\ H_{M_1M_2}^A(X) &= X \cdot M_2 \cdot M_1^{-1} - (am_2w) \cdot (am_1w)^{-1} \cdot X \end{aligned} \quad (3.6)$$

Si les mesures étaient parfaites, on aurait alors :

$$H_{M_1M_2}^W(W) = 0 \text{ et } H_{M_1M_2}^A(A) = 0 \quad (3.7)$$

C'est-à-dire que  $W$  et  $A$  appartiendraient au noyau de la famille  $H_{M_1M_2}^W$  et au noyau de la famille  $H_{M_1M_2}^A$  respectivement, indépendamment de  $M_1$  et  $M_2$ .

Afin de résoudre l'équation (3.7), il est utile de reformuler les expressions des matrices  $W$  et  $A$  sous forme vectorielle. Les applications (3.5) et (3.6) peuvent s'écrire comme une multiplication d'un

vecteur,  $X_{16}$ , de 16 éléments se déduisant de la matrice  $X$  de dimension (4 x 4), par une matrice  $H$  de dimension (16 x 16). Les matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$ , représentées respectivement par les vecteurs  $W_{16}$  et  $A_{16}$ , sont les solutions du système:

$$H.X_{16} = 0 \quad (3.8)$$

Pour le PSG et le PSA, la matrice  $H$  (de dimension 16x16) est égale respectivement à :  $H_{W,M_i,M_j}$  et  $H_{A,M_i,M_j}$ . La solution du système (3.8) par la méthode des moindres carrés est donnée par la relation :

$$K.X_{16} = 0 \quad (3.9)$$

où, dans le cas du PSG :

$$K = K_W = \sum_{i,j} H_{W,M_i,M_j}^t \cdot H_{W,M_i,M_j} \quad (3.10)$$

alors que dans celui du PSA :

$$K = K_A = \sum_{i,j} H_{A,M_i,M_j}^t \cdot H_{A,M_i,M_j} \quad (3.11)$$

$\{M_i\}$  et  $\{M_j\}$  indiquent les deux matrices de Mueller des deux échantillons de référence utilisées pour l'étalonnage mais dont les valeurs des éléments ne sont pas encore connues. Ces échantillons peuvent être différents en fonction de la configuration optique du polarimètre.

La matrice  $K$  est une matrice réelle positive et symétrique ; elle peut donc être diagonalisée et ses 16 valeurs propres sont toutes positives ou nulles. L'objectif est de choisir un ensemble d'échantillons de référence de façon à ce que les dimensions  $\cap_{i,j} Ker [H_{M_i,M_j}^W]$  et  $\cap_{i,j} Ker [H_{M_i,M_j}^A]$  soient égales à 1 chacune. Autrement dit, pour qu'il y ait une solution unique pour  $W$  et  $A$  la matrice  $K$  doit avoir 15 valeurs propres non nulles et une seule valeur propre nulle. Les solutions  $W^{16}$  et  $A^{16}$  de l'équation (3.8) seront alors données par les vecteurs propres associés à l'unique valeur propre égale à zéro des applications  $K^W$  et de  $K^A$  respectivement.

### III.1.2. Protocole Expérimental pour l'Implémentation de la Méthode de Calibration ECM

Le protocole expérimental est divisé en deux étapes :

**Première étape :** La procédure d'étalonnage d'ECM nécessite que 16 images d'intensité soient tout d'abord acquises (séquentiellement) en configuration de transmission sans aucun échantillon, c.-à-d. en présence uniquement de l'air. La matrice de Mueller théorique de l'air, égale à l'identité, est notée  $M_0$ . Ensuite vient le choix des échantillons de références d'étalonnage. Plusieurs composants optiques aux propriétés polarimétriques bien connues peuvent être utilisés. Ces échantillons sont :

- 1) un polariseur linéaire dont l'axe de transmission est orienté à 0° par rapport au référentiel du laboratoire ; sa matrice de Mueller théorique est notée  $P0^\circ$  ;
- 2) un polariseur linéaire dont l'axe de transmission est orienté à 90° par rapport à l'axe de transmission de  $P0^\circ$  ; sa matrice de Mueller théorique est notée  $P90^\circ$  ;

3) un déphaseur (lame de retard) dont l'axe rapide est orienté à 30° par rapport à l'axe de transmission de P0° ; sa matrice de Mueller théorique est notée **L30°**.

Une fois le choix fait, on peut réécrire (3.3) à (3.4) en fonction des matrices associées aux échantillons de référence. Concernant la détermination de **W** dans l'équation (3.3), la matrice **M<sub>1</sub>** est remplacée par celle de l'air **M<sub>0</sub>**, et la matrice **M<sub>2</sub>** par celle de l'air suivi de celle d'un des trois échantillons de référence précédemment mentionnés. De façon similaire, pour la détermination de la matrice **A** dans l'équation (3.4), il est nécessaire de remplacer la matrice **M<sub>1</sub>** par la matrice de l'air, et la matrice **M<sub>2</sub>** par la matrice de l'air suivi de celle d'un des trois échantillons de référence. Cette procédure permet d'adapter les équations (3.3) et (3.4) à chacun des échantillons de référence. Pour le polariseur à 0°, on a :

$$W^{-1} P0^\circ W - (a m_0 w)^{-1} (a m_0 p_0^\circ w) = 0 \quad (3.12)$$

$$A P0^\circ A^{-1} - (a p_0^\circ m_0 w) (a m_0 w)^{-1} = 0 \quad (3.13)$$

Pour le polariseur à 90°, on a :

$$W^{-1} R(-90^\circ) P90^\circ R(90^\circ) W - (a m_0 w)^{-1} (a m_0 p_{90^\circ} w) = 0 \quad (3.14)$$

$$A R(-90^\circ) P90^\circ R(90^\circ) A^{-1} - (a p_{90^\circ} m_0 w) (a m_0 w)^{-1} = 0 \quad (3.15)$$

Pour le déphaseur à 30°, on a :

$$W^{-1} R(-30^\circ) L30^\circ R(30^\circ) W - (a m_0 w)^{-1} (a m_0 l_{30^\circ} w) = 0 \quad (3.16)$$

$$A R(-30^\circ) L30^\circ R(30^\circ) A^{-1} - (a l_{30^\circ} m_0 w) (a m_0 w)^{-1} = 0 \quad (3.17)$$

Afin de pouvoir résoudre les équations (de 3.12 à 3.17), il est nécessaire de connaître les matrices théoriques **P0°**, **P90°** et **L30°** qui représentent les échantillons de référence. Il est important de signaler que la précision de l'étalonnage repose sur l'utilisation des expressions théoriques des matrices **P0°**, **P90°** et **L30°** qui représentent les échantillons de référence. Tout écart entre les matrices **P0°**, **P90°** et **L30°** et celles des composants, est équivalent à l'introduction d'erreurs systématiques dans la détermination de **W** et de **A**, et par conséquent, dans les mesures de la matrice de Mueller faites par l'appareil.

En principe, on dispose de plusieurs choix pour les matrices **P0°**, **P90°** et **L30°** suivant le degré de détail pris en compte dans la description. Mon choix s'est porté sur un modèle assez général présentant les matrices de Mueller des échantillons de référence comme un déphaseur dichroïque (contenant à la fois un retard de phase linéaire et un dichroïsme). Sa matrice peut s'écrire comme :

$$\tau \begin{bmatrix} 1 & \cos 2\Psi & 0 & 0 \\ \cos 2\Psi & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \sin 2\Psi \cos \Delta & \sin 2\Psi \sin \Delta \\ 0 & 0 & -\sin 2\Psi \sin \Delta & \sin 2\Psi \cos \Delta \end{bmatrix} \quad (3.18)$$

Dans l'équation (3.18),  $\tau$  est le coefficient de transmission pour un faisceau non polarisée,  $\Delta$  est le retard et,  $\Psi$  est l'angle ellipsométrique permettant de décrire la diatténuation linéaire (ou le dichroïsme), décrit mathématiquement comme :  $\tan(\Psi) = |f_x|/|f_y|$ . Dans cette expression,  $f_x$  et  $f_y$  représentent respectivement des coefficients de réflexion ou de transmission (en fonction de la configuration considérée) selon deux directions mutuellement orthogonales. Pour le cas d'un polariseur idéal les angles  $\Psi$  et  $\Delta$  sont les deux égaux à 0°. Un retardateur idéal ne possède pas de diatténuation, il aura donc un angle  $\Delta$  égal à son retard, et un angle  $\Psi$  égal à 45°.

La matrice de l'équation (3.18) a quatre valeurs propres non nulles. En revenant aux équations (3.12) à (3.17), il est possible de démontrer que les valeurs propres des matrices  $P0^\circ$ ,  $P90^\circ$  et  $L30^\circ$  sont respectivement égales à celles du produit  $(a m_0 w)^{-1} (a m_0 p_0^\circ w)$ ,  $(a p_{90^\circ} m_0 w) (a m_0 w)^{-1}$  et  $(a m_0 w)^{-1} (a m_0 l_{30^\circ} w)$ . Ainsi, en déterminant les valeurs propres des produits de matrices expérimentales, il devient possible de déterminer les paramètres des échantillons d'étalonnage, ce qui a par ailleurs donné le nom de la procédure.

**Deuxième étape:** Détermination des matrices  $W$  et  $A$  suivant la méthode d'étalonnage standard ECM.

Mesures nécessaires pour la détermination de la matrice  $W$  du PSG :

1. Mesure de  $B_0$  (La matrice de l'intensité de l'air) de l'échantillon  $M_0$  (l'air) avec la configuration expérimentale suivante ( $PSG\_M_0\_PSA$ ). On obtient la mesure expérimentale ( $B_0 = a m_0 w$ ), qui est enregistrée car elle sert comme mesure de référence pour les autres échantillons. Mesure des matrices  $B_1$ ,  $B_2$  et  $B_3$  qui correspondent respectivement aux mesures expérimentales du polariseur à  $0^\circ$ , le polariseur à  $90^\circ$  et le déphaseur à  $30^\circ$ .

$B_1 = a m_0 p_0^\circ w$  avec la configuration suivante ( $PSG\_P_0^\circ\_M_0\_PSA$ ).

$B_2 = a m_0 p_{90^\circ} w$  avec la configuration suivante ( $PSG\_P_{90^\circ}\_M_0\_PSA$ ).

$B_3 = a m_0 l_{30^\circ} w$  avec la configuration suivante ( $PSG\_L_{30^\circ}\_M_0\_PSA$ ).

Calculs appliqués aux matrices expérimentales :

- Le polariseur orienté à  $0^\circ$  par rapport au plan d'incidence :

Réécrire les équations (3.12) et (3.13) pour la matrice  $W$  sous la forme d'une relation de similitude :

$$W^{-1} P0^\circ W = (a m_0 w)^{-1} (a m_0 p_0^\circ w) = B_0^{-1} B_1$$

Les paramètres caractéristiques de la matrice théorique  $P0^\circ$  ( $\Psi, \Delta, \tau$ ) sont ainsi déterminés à partir des valeurs propres expérimentales du produit ( $B_0^{-1} B_1$ ).

- Le polariseur orienté à  $90^\circ$  par rapport au plan d'incidence :

Réécrire les équations (3.14) et (3.15) pour la matrice  $W$  sous la forme d'une relation de similitude :

$$W^{-1} R(-90^\circ) P90^\circ R(90^\circ) W = (a m_0 w)^{-1} (a m_0 p_{90^\circ} w) = B_0^{-1} B_2$$

Les paramètres caractéristiques de la matrice théorique  $P90^\circ$  ( $\Psi, \Delta, \tau$ ) sont ainsi déterminés à partir des valeurs propres expérimentales du produit ( $B_0^{-1} B_2$ ).

- Le déphaseur orienté à  $30^\circ$  par rapport au plan d'incidence :

Réécrire les équations (3.16) et (3.17) pour la matrice  $W$  sous la forme d'une relation de similitude :

$$W^{-1} R(-30^\circ) L30^\circ R(30^\circ) W = (a m_0 w)^{-1} (a m_0 l_{30^\circ} w) = B_0^{-1} B_3$$

Les paramètres caractéristiques de la matrice théorique  $L30^\circ$  ( $\Psi, \Delta, \tau$ ) sont ainsi déterminés à partir des valeurs propres expérimentales du produit ( $B_0^{-1} B_3$ ).



2. Construction des matrices (16x16)  $\mathbf{H}$  associées aux familles d'applications linéaires :  $H_{M_1 M_2}^W$

1. Polariseur à  $0^\circ$  :  $M_1 = M_0$ ,  $M_2 = M_0 \cdot P_{0^\circ}$ , et  $H = H_{W, M_0, P_{0^\circ}}$
2. Polariseur à  $90^\circ$  :  $M_1 = M_0$ ,  $M_2 = M_0 \cdot P_{90^\circ}$ , et  $H = H_{W, M_0, P_{90^\circ}}$
3. Déphaseur à  $30^\circ$  :  $M_1 = M_0$ ,  $M_2 = M_0 \cdot L_{30^\circ}$ , et  $H = H_{W, M_0, L_{30^\circ}}$

3. Calcul de la matrice  $\mathbf{K}^W$  :

$$K^W = H_{W, M_0, P_{0^\circ}}^t \cdot H_{W, M_0, P_{0^\circ}} + H_{W, M_0, P_{90^\circ}}^t \cdot H_{W, M_0, P_{90^\circ}} + H_{W, M_0, L_{30^\circ}}^t \cdot H_{W, M_0, L_{30^\circ}}$$

Après avoir calculé les valeurs propres de la matrice  $\mathbf{K}^W$ , on assigne à  $\mathbf{W}$  le vecteur propre correspondant à l'unique valeur propre nulle de  $\mathbf{K}^W$ , on le normalise par rapport à sa première composante et on le retransforme en matrice 4x4. Finalement,  $\mathbf{A}$  peut être déterminée à partir de l'équation :

$$\mathbf{A} = \mathbf{B}_0 \cdot \mathbf{W}^{-1} \quad (3.19)$$

## III.2. Principe d'Étalonnage par la Méthode PCM

La méthode d'étalonnage standard basée sur les valeurs propres, pour les polarimètres de Mueller utilise deux composants optiques : un polariseur linéaire et un déphaseur linéaire ou circulaire [1-4]. Contrairement aux polariseurs, les déphaseurs peuvent présenter des variations significatives de retard à des angles d'incidence différents de l'incidence normale ou sur de larges plages spectrales. En conséquence, la qualité d'étalonnage d'un polarimètre imageur ou spectroscopique varie en général avec l'ouverture numérique de l'objectif ou avec la largeur de la plage de longueurs d'onde. Pour éviter une telle variation de performance, il faut recourir à des déphaseurs à grand angle d'acceptation ou achromatiques ; généralement, cela augmente la complexité et le coût du polarimètre.

Il est donc souhaitable d'élaborer une procédure d'étalonnage n'utilisant pas de déphaseur. L'avantage supplémentaire d'une telle procédure, outre la stabilité des performances quelle que soit la configuration polarimétrique spécifique, est le gain potentiel en simplicité technique. En effet, il est toujours préférable, au niveau de la fabrication industrielle, de réduire autant que possible le nombre de composants utilisés. Ainsi, on obtient un polarimètre plus compact et plus simple à utiliser et à entretenir avec, de plus, un temps d'exécution réduit pour la procédure d'étalonnage.

Cependant une méthode d'étalonnage utilisant uniquement un polariseur linéaire est incapable de déterminer les composantes circulaires des états de polarisation générés et analysés par le polarimètre de Mueller. En effet, de manière générale un vecteur de Stokes peut s'exprimer en fonction de l'ellipticité ( $\epsilon$ ) et de l'azimut ( $\alpha$ ) comme indiqué dans l'équation (1.8), Dans le cas particulier d'un faisceau ayant traversé un polariseur l'ellipticité est égale à zéro ( $\epsilon=0$ ) : cela conduit à un vecteur de Stokes à composante  $\mathbf{S}_3$  présentant la polarisation circulaire nulle de la forme :

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} 1 \\ \cos 2\alpha \\ \sin 2\alpha \\ 0 \end{pmatrix} \quad (3.20)$$

Dans ce qui suit, je montrerai que les composantes circulaires manquantes peuvent être déterminées en supposant que les états de polarisation sont totalement polarisés, c'est-à-dire sous l'hypothèse que l'instrument n'introduit aucune dépolarisation. La dépolarisation induite par l'instrument est généralement due aux réflexions multiples présentes dans les composants optiques ainsi qu'à la diffusion ; cette hypothèse est donc généralement valable pour des polarimètres soigneusement conçus et alignés. Nous avons donc élaboré une méthode d'étalonnage par polariseur seul (PCM) valable pour les polarimètres sans dépolarisation.

Un polarimètre de Mueller (que nous avons déjà vu au chapitre précédent) se compose d'une source lumineuse, un générateur d'états de polarisations (PSG), l'échantillon à étudier, un analyseur d'états de polarisation (PSA) et un détecteur. Dans un polarimètre à états discrets, les quatre états de polarisation générés par les PSG sont transformés linéairement par la matrice de Mueller de l'échantillon avant d'être projetés sur (ou analysés par) les quatre états de polarisation du PSA [5,6]. Le détecteur mesure les 16 intensités lumineuses résultantes à partir desquelles les 16 éléments de la matrice de Mueller sont déduits. La relation de mesure fondamentale du polarimètre de Mueller est

$$\mathbf{AMW} = \mathbf{B}, \quad (3.21)$$

où  $\mathbf{B}$  est la matrice des intensités lumineuses mesurées,  $\mathbf{W}$  est la matrice du **PSG**,  $\mathbf{A}$  est la matrice du **PSA**, et  $\mathbf{M}$  est la Matrice de Mueller de l'échantillon. Les deux matrices instrumentales  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  contiennent chacune quatre états de polarisation et, en conséquence, peuvent être représentées sous formes partitionnées,

$$\mathbf{W} = [\mathbf{w}_1 \quad \mathbf{w}_2 \quad \mathbf{w}_3 \quad \mathbf{w}_4] \quad (3.22.a)$$

et

$$\mathbf{A} = [\mathbf{a}_1 \quad \mathbf{a}_2 \quad \mathbf{a}_3 \quad \mathbf{a}_4]^T \quad (3.22.b)$$

où les colonnes  $\mathbf{w}_k$  et  $\mathbf{a}_k$ ,  $k = 1, 2, 3, 4$ , représentent des vecteurs de Stokes totalement polarisés (l'exposant  $T$  signifie la transposition). Les deux matrices instrumentales sont non singulières et, de plus, bien conditionnées algébriquement [6] ; les ensembles de vecteurs de Stokes qu'elles contiennent dépendent uniquement de la conception optique du polarimètre. Le but de la procédure d'étalonnage est de déterminer les matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  à partir d'une série de mesures de composants d'étalonnage convenablement choisis avec des matrices de Mueller  $\mathbf{M}$  différentes.

Dans la méthode PCM proposée, la matrice de Mueller  $\mathbf{M}$  est celle d'un polariseur linéaire tourné à un azimut donné  $\alpha$ . Si le vecteur de Stokes de l'état de polarisation transmis par polariseur est noté  $\mathbf{p}$  minuscule, alors la matrice de Mueller  $\mathbf{P}$  majuscule du polariseur peut être écrite comme un projecteur, c'est-à-dire en tant que produit dyadique de  $\mathbf{p}$  par lui-même,

$$\mathbf{P} = \frac{1}{2} * \mathbf{p} \mathbf{p}^T = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 \\ \cos 2\alpha \\ \sin 2\alpha \\ 0 \end{bmatrix} [1 \quad \cos 2\alpha \quad \cos 2\alpha \quad 0] = \begin{bmatrix} 1 & \cos 2\alpha & \sin 2\alpha & 0 \\ \cos 2\alpha & \cos^2 2\alpha & \sin 2\alpha \cos 2\alpha & 0 \\ \sin 2\alpha & \sin 2\alpha \cos 2\alpha & \sin^2 2\alpha & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (3.23)$$

Puisque  $\mathbf{P}$  est un projecteur, il en sera de même pour la matrice d'intensité  $\mathbf{B}$ , comme il s'en suit facilement à partir de la relation de mesure (3.21)

$$\mathbf{APW} = [\mathbf{a}_1 \quad \mathbf{a}_2 \quad \mathbf{a}_3 \quad \mathbf{a}_4]^T \frac{1}{2} \mathbf{p} \mathbf{p}^T [\mathbf{w}_1 \quad \mathbf{w}_2 \quad \mathbf{w}_3 \quad \mathbf{w}_4]$$

$$= \frac{1}{2} [\mathbf{p}^T \mathbf{a}_1 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{a}_2 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{a}_3 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{a}_4]^T X [\mathbf{p}^T \mathbf{w}_1 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{w}_2 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{w}_3 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{w}_4] = \mathbf{B}. \quad (3.24)$$

Supposons que la matrice d'intensité  $\mathbf{B}$  est représentée sous la forme d'un projecteur, c'est-à-dire que

$$\mathbf{B} = \frac{1}{2} \mathbf{b} \mathbf{c}^T, \quad (3.25)$$

où  $\mathbf{b}$  et  $\mathbf{c}$  sont des vecteurs connus. Une méthode pratique et résistante au bruit pour obtenir les deux vecteurs de la décomposition ci-dessus est de construire les deux matrices symétriques  $\mathbf{B}\mathbf{B}^T$  et  $\mathbf{B}^T\mathbf{B}$ , et d'identifier  $\mathbf{b}$  et  $\mathbf{c}$  comme étant les vecteurs propres associés aux plus grandes valeurs propres (ou, de manière équivalente, valeurs singulières) de  $\mathbf{B}\mathbf{B}^T$  et  $\mathbf{B}^T\mathbf{B}$ , respectivement. Ceci résulte du fait que, tout comme  $\mathbf{B}$ , les deux matrices  $\mathbf{B}\mathbf{B}^T$  et  $\mathbf{B}^T\mathbf{B}$  sont des projecteurs ayant une valeur propre unique non nulle.

Ensuite, il découle des équations (3.24) et (3.25) que la relation de mesure se divise en deux vecteurs,

$$[\mathbf{p}^T \mathbf{w}_1 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{w}_2 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{w}_3 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{w}_4] = \mathbf{t} \mathbf{c}, \quad (3.26.a)$$

Et

$$[\mathbf{p}^T \mathbf{a}_1 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{a}_2 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{a}_3 \quad \mathbf{p}^T \mathbf{a}_4]^T = \mathbf{t}^{-1} \mathbf{b}, \quad (3.26.b)$$

où  $\mathbf{t}$  est un facteur de proportionnalité inconnu. Les équations (3.26) peuvent être réécrites à travers les composantes des différents vecteurs comme

$$\frac{\mathbf{p}^T \mathbf{w}_1}{c^{(1)}} = \frac{\mathbf{p}^T \mathbf{w}_2}{c^{(2)}} = \frac{\mathbf{p}^T \mathbf{w}_3}{c^{(3)}} = \frac{\mathbf{p}^T \mathbf{w}_4}{c^{(4)}} = \mathbf{t}, \quad (3.27a)$$

et

$$\frac{\mathbf{p}^T \mathbf{a}_1}{b^{(1)}} = \frac{\mathbf{p}^T \mathbf{a}_2}{b^{(2)}} = \frac{\mathbf{p}^T \mathbf{a}_3}{b^{(3)}} = \frac{\mathbf{p}^T \mathbf{a}_4}{b^{(4)}} = \mathbf{t}^{-1}, \quad (3.27.b)$$

(La notation  $v^{(k)}$  représente la  $k$ -ième composante du vecteur  $\mathbf{v}$ .) Ceci permet d'éliminer le facteur inconnu de chaque ensemble de composantes. Concrètement, l'élimination du facteur ( $\mathbf{t}$ ) de (3.27a) fournit les trois équations linéaires suivantes :

$$c_i^{(2)} w_1^{(1)} - c_i^{(1)} w_2^{(1)} + c_i^{(2)} w_1^{(2)} \cos 2\alpha_i - c_i^{(1)} w_2^{(2)} \cos 2\alpha_i + c_i^{(2)} w_1^{(3)} \sin 2\alpha_i - c_i^{(1)} w_2^{(3)} \sin 2\alpha_i = 0$$

$$c_i^{(3)} w_2^{(1)} - c_i^{(2)} w_3^{(1)} + c_i^{(3)} w_2^{(2)} \cos 2\alpha_i - c_i^{(2)} w_3^{(2)} \cos 2\alpha_i + c_i^{(3)} w_2^{(3)} \sin 2\alpha_i - c_i^{(2)} w_3^{(3)} \sin 2\alpha_i = 0 \quad (3.27.c)$$

$$c_i^{(4)} w_3^{(1)} - c_i^{(3)} w_4^{(1)} + c_i^{(4)} w_3^{(2)} \cos 2\alpha_i - c_i^{(3)} w_4^{(2)} \cos 2\alpha_i + c_i^{(4)} w_3^{(3)} \sin 2\alpha_i - c_i^{(3)} w_4^{(3)} \sin 2\alpha_i = 0$$

De même pour ( $\mathbf{t}^{-1}$ ) de l'éq. (3.27.b) l'élimination donne trois autres équations linéaires :

$$b_i^{(2)} a_1^{(1)} - b_i^{(1)} a_2^{(1)} + b_i^{(2)} a_1^{(2)} \cos 2\alpha_i - b_i^{(1)} a_2^{(2)} \cos 2\alpha_i + b_i^{(2)} a_1^{(3)} \sin 2\alpha_i - b_i^{(1)} a_2^{(3)} \sin 2\alpha_i = 0$$

$$b_i^{(3)} a_2^{(1)} - b_i^{(2)} a_3^{(1)} + b_i^{(3)} a_2^{(2)} \cos 2\alpha_i - b_i^{(2)} a_3^{(2)} \cos 2\alpha_i + b_i^{(3)} a_2^{(3)} \sin 2\alpha_i - b_i^{(2)} a_3^{(3)} \sin 2\alpha_i = 0 \quad (3.27.d)$$

$$b_i^{(4)} a_3^{(1)} - b_i^{(3)} a_4^{(1)} + b_i^{(4)} a_3^{(2)} \cos 2\alpha_i - b_i^{(3)} a_4^{(2)} \cos 2\alpha_i + b_i^{(4)} a_3^{(3)} \sin 2\alpha_i - b_i^{(3)} a_4^{(3)} \sin 2\alpha_i = 0$$

En vectorisant la matrice de PSG  $\mathbf{W}$  par colonnes dans le vecteur à 16 composantes  $\mathbf{w}$ ,

$$\mathbf{w} = \text{vec}(\mathbf{W}) = \begin{bmatrix} \mathbf{w}_1 \\ \mathbf{w}_2 \\ \mathbf{w}_3 \\ \mathbf{w}_4 \end{bmatrix} \quad (3.28)$$

nous pouvons réécrire l'équation. (3.27a) sous forme matricielle,

$$\begin{bmatrix} c^{(2)} \mathbf{P}^T & -c^{(1)} \mathbf{P}^T & \mathbf{0}^T & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{0}^T & c^{(3)} \mathbf{P}^T & -c^{(2)} \mathbf{P}^T & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{0}^T & \mathbf{0}^T & c^{(4)} \mathbf{P}^T & -c^{(3)} \mathbf{P}^T \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{w}_1 \\ \mathbf{w}_2 \\ \mathbf{w}_3 \\ \mathbf{w}_4 \end{bmatrix} = \mathbf{P}_c \mathbf{w} = \mathbf{0}, \quad (3.29.a)$$

(où  $\mathbf{0} = [\mathbf{0} \ \mathbf{0} \ \mathbf{0} \ \mathbf{0}]^T$ ). De même, après avoir vectorisé la matrice de PSA transposée  $\mathbf{A}^T$  sous la forme  $\mathbf{a} = \text{vec}(\mathbf{A}^T)$  par analogie avec l'équation (3.28), nous pouvons reformuler l'équation (3.27.b) sous une forme analogue à celle de l'équation (3.29.a),

$$\begin{bmatrix} b^{(2)} \mathbf{P}^T & -b^{(1)} \mathbf{P}^T & \mathbf{0}^T & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{0}^T & b^{(3)} \mathbf{P}^T & -b^{(2)} \mathbf{P}^T & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{0}^T & \mathbf{0}^T & b^{(4)} \mathbf{P}^T & -b^{(3)} \mathbf{P}^T \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{a}_1 \\ \mathbf{a}_2 \\ \mathbf{a}_3 \\ \mathbf{a}_4 \end{bmatrix} = \mathbf{P}_b \mathbf{a} = \mathbf{0}, \quad (3.29.b)$$

Les équations (3.29) représentent deux systèmes de trois équations homogènes linéaires chacun pour les deux vecteurs inconnus à 16 composantes,  $\mathbf{w}$  et  $\mathbf{a}$ . Les deux matrices  $\mathbf{P}_c$  et  $\mathbf{P}_b$  étant de dimension  $3 \times 16$ , les deux systèmes sont clairement sous-déterminés. Pour les déterminer complètement (ou les surdéterminer), il faut effectuer une série de  $n$  mesures d'étalonnage à  $n$  azimuts du polariseur différents  $\alpha_i$ , donnant les séries de matrices  $\mathbf{P}_c^{(i)}$  et  $\mathbf{P}_b^{(i)}$ ,  $i = 1, 2, \dots, n$ . Si ces dernières sont empilées par colonnes, alors on obtient deux systèmes de  $3n \times 16$  équations linéaires homogènes pour les deux vecteurs inconnus  $\mathbf{w}$  et  $\mathbf{a}$ ,

$$\begin{bmatrix} \mathbf{P}_c^{(1)} \\ \mathbf{P}_c^{(2)} \\ \dots \\ \mathbf{P}_c^{(n)} \end{bmatrix} \mathbf{w} = \mathbf{P}_{nc} \mathbf{w} = \mathbf{0}, \quad (3.30.a)$$

et

$$\begin{bmatrix} \mathbf{P}_b^{(1)} \\ \mathbf{P}_b^{(2)} \\ \dots \\ \mathbf{P}_b^{(n)} \end{bmatrix} \mathbf{a} = \mathbf{P}_{nb} \mathbf{a} = \mathbf{0}, \quad (3.30.b)$$

Enfin, il convient de mentionner que le formalisme ci-dessus, établi pour les polarimètres à états discrets, peut être facilement adapté au cas des polarimètres modulés en continu (à composants tournants ou à effet photo-élastique) en construisant des matrices PSG et PSA à partir des coefficients de développement en série de Fourier, comme expliqué en [2].

### Solution des équations résultantes

Comme mentionné précédemment, les composantes circulaires des vecteurs de Stokes, représentés respectivement par les colonnes et les lignes des matrices **PSG** et **PSA** dans les équations (3.22.a) et (3.22.b), ne peuvent pas être déterminées. Ceci est une conséquence directe du fait que le polariseur linéaire est incapable de moduler la polarisation circulaire, comme on le voit formellement à partir de l'équation (3.23), dans laquelle la quatrième composante de l'état de polarisation **p** transmis par le polariseur est identiquement nulle. En conséquence, les 4-ième, 8-ième, 12-ième et 16-ième colonnes des deux matrices **P<sub>c</sub>** et **P<sub>b</sub>** de l'équation (3.29), ainsi que celles de **P<sub>nc</sub>** et **P<sub>nb</sub>** de l'équation (3.30), sont identiquement nulles. Par conséquent, les 4-ième, 8-ième, 12-ième et 16-ième composantes des deux vecteurs inconnus **w** et **a**, correspondant aux composantes circulaires des vecteurs de Stokes contenus dans les matrices **PSG** et **PSA**, ne peuvent pas être obtenues à partir de l'équation (3.30).

Il en résulte des observations ci-dessus que l'équation (3.30) se réduit effectivement à

$$\mathbf{P}_{nc}^r \mathbf{w}^r = \mathbf{0}, \quad (3.31.a)$$

et

$$\mathbf{P}_{nb}^r \mathbf{a}^r = \mathbf{0}, \quad (3.31.b)$$

où les deux matrices réduites **P<sub>nc</sub><sup>r</sup>** et **P<sub>nb</sub><sup>r</sup>** sont obtenues en supprimant respectivement les 4-ième, 8-ième, 12-ième et 16-ième colonnes de **P<sub>nc</sub>** et **P<sub>nb</sub>**, tandis que les deux vecteurs réduits inconnus **w<sup>r</sup>** et **a<sup>r</sup>** résultent de la suppression des 4-ième, 8-ième, 12-ième, et 16-ième composantes de **w** et **a**, respectivement. En conséquence de ce processus de réduction, la dimension de **P<sub>nc</sub><sup>r</sup>** et **P<sub>nb</sub><sup>r</sup>** est de  $3n \times 12$ , alors que **w<sup>r</sup>** et **a<sup>r</sup>** sont des vecteurs à 12 composantes. Il est clair que le nombre minimum de valeurs différentes d'azimut du polariseur nécessaire pour que l'équation (3.31) ait une solution non triviale est de quatre. Bien qu'il existe une solution analytique pour le cas complètement déterminé  $n = 4$  [7], nous préférons ici une approche générale de diagonalisation valable pour tout  $n \geq 4$ , en raison de l'amélioration potentielle de la résilience au bruit. Premièrement, nous construisons les deux matrices symétriques  $12 \times 12$  **P<sub>nc</sub><sup>rT</sup> P<sub>nc</sub><sup>r</sup>** et **P<sub>nb</sub><sup>rT</sup> P<sub>nb</sub><sup>r</sup>**; les vecteurs inconnus **w<sup>r</sup>** et **a<sup>r</sup>** sont alors donnés par les vecteurs propres respectifs associés aux plus petites (théoriquement, nulles) valeurs propres. En effet, en vertu de l'équation (3.31), les vecteurs **w<sup>r</sup>** et **a<sup>r</sup>** appartiennent aux noyaux associés aux valeurs propres nulles de **P<sub>nc</sub><sup>r</sup>** et **P<sub>nb</sub><sup>r</sup>** respectivement

De cette façon, 12 des 16 composantes de **w** et **a** sont déterminées par identification directe avec celles de **w<sup>r</sup>** et **a<sup>r</sup>**. Les 4-ième, 8-ième, 12-ième et 16-ième composantes restantes de **w** et **a** sont obtenues à partir de celles déjà connues en utilisant l'hypothèse que les vecteurs de Stokes composant les matrices PSG et PSA sont totalement polarisés, autrement dit que DOP=1. Ainsi, à partir de l'équation (1.7) nous obtenons la relation suivante :

$$S_3 = \sqrt{S_0^2 - S_1^2 - S_2^2} \quad (3.32.a)$$

De laquelle nous en déduisons les deux séries d'équations :

$$w_{4k} = \varepsilon_W^{(k)} \sqrt{w_{4k-3}^2 - w_{4k-2}^2 - w_{4k-1}^2}, \quad (3.32.b)$$

$$a_{k4} = \varepsilon_A^{(k)} \sqrt{a_{k4-3}^2 - a_{k4-2}^2 - a_{k4-1}^2}, \quad (3.32.c)$$

où  $\varepsilon_W^{(k)} = \pm 1$  et  $\varepsilon_A^{(k)} = \pm 1$  et  $k = 1, 2, 3, 4$ . Les deux séries de signes  $\varepsilon_W^{(k)}$  et  $\varepsilon_A^{(k)}$  sont ajustées en fonction des matrices de Mueller  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  théoriques, obtenues en modélisant le polarimètre suivant sa conception optique concrète.

Au final, les deux matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  sont reconstruites à partir des vecteurs  $\mathbf{w}$  et  $\mathbf{a}$  à l'aide de l'équation (3.28). L'une des deux matrices ainsi déterminées doit être normalisée pour que la relation de mesure (3.24) soit satisfaite. Notez que, contrairement aux méthodes standards [1–3], PCM fournit simultanément les deux matrices d'instruments  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  en raison de la propriété de projection du polariseur; de plus, aucune mesure de l'« air » n'est requise.

### III.2.1. Protocole Expérimental pour l'Implémentation de la Méthode de Calibration PCM

À des fins de mise en œuvre pratique, nous résumons la procédure **PCM** dans une séquence étape par étape :

1. Mesurer la matrice d'intensité  $\mathbf{B}$  pour quatre réglages d'azimut du polariseur d'étalonnage.
2. Décomposer les quatre matrices  $\mathbf{B}$  conformément à l'équation (3.25) en identifiant  $\mathbf{c}$  et  $\mathbf{b}$  avec les vecteurs propres associés aux plus grandes valeurs propres (ou valeurs singulières) des matrices  $\mathbf{B}^T \mathbf{B}$  et  $\mathbf{B} \mathbf{B}^T$ , respectivement.
3. Pour chaque réglage d'azimut du polariseur, calculer l'état transmis par le polariseur  $\mathbf{p}$  à partir de l'équation (3.23) et le multiplier par les composantes respectives des vecteurs  $\mathbf{c}$  et  $\mathbf{b}$  pour construire les matrices  $\mathbf{P}_c$  et  $\mathbf{P}_b$  conformément à l'équation (3.29).
4. Empiler les matrices  $\mathbf{P}_c$  et  $\mathbf{P}_b$  de tous les réglages d'azimut dans les matrices respectives  $\mathbf{P}_{nc}$  et  $\mathbf{P}_{nb}$  comme indiqué dans l'équation (3.30) et supprimer les 4-ième, 8-ième, 12-ième et 16-ième colonnes identiquement nulles de  $\mathbf{P}_{nc}$  et  $\mathbf{P}_{nb}$  pour obtenir les matrices réduites  $\mathbf{P}_{nc}^r$  et  $\mathbf{P}_{nb}^r$  apparaissant dans l'équation (3.31).
5. Résoudre l'équation (3.31) en obtenant les vecteurs réduits  $\mathbf{w}^r$  et  $\mathbf{a}^r$  comme vecteurs propres associés aux plus petites valeurs propres (ou valeurs singulières) des matrices  $\mathbf{P}_{nc}^{rT} \mathbf{P}_{nc}^r$  et  $\mathbf{P}_{nb}^{rT} \mathbf{P}_{nb}^r$ , respectivement.
6. Identifier 12 des 16 composantes des vecteurs  $\mathbf{w}$  et  $\mathbf{a}$  à partir de  $\mathbf{w}^r$  et  $\mathbf{a}^r$ , et déterminer les 4 composantes manquantes via l'équation (3.32) en ajustant leurs signes conformément au modèle matriciel du polarimètre.
7. Reconstruire les matrices du PSG et du PSA ( $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$ ) à partir des vecteurs  $\mathbf{w}$  et  $\mathbf{a}$  comme suit à partir de l'équation (3.28) et redimensionner l'une d'entre elles afin que l'équation (3.24) soit satisfaite.

En présentant la méthode d'étalonnage, nous avons supposé que le PSG et le PSA du polarimètre de Mueller génèrent et analysent le nombre minimum d'états de polarisation discrets nécessaire, soit

quatre. Si le PSG et le PSA génèrent et analysent respectivement  $p > 4$  et  $q > 4$  états (mesure surdéterminée), les équations déjà établies restent inchangées ; seules les dimensions des matrices et des vecteurs qui y figurent augmentent. L'utilisation d'un nombre d'états supérieure à 4 dans le PSG ou le PSA, implique une surdétermination qui dans certains cas, et notamment si le type de bruit a une composante gaussienne dominante, peut servir à réduire le bruit aléatoire par rapport à un cas non-surdéterminé ( $p=4, q=4$ ). En particulier, les dimensions des deux matrices réduites  $P_{nc}^r$  et  $P_{nb}^r$  apparaissant dans l'équation (3.31) deviennent  $3n \times (4p - 4)$  et  $3n \times (4q - 4)$ , alors que les vecteurs réduits  $w^r$  et  $a^r$  contiennent respectivement  $4p - 4$  et  $4q - 4$  composantes. Bien entendu, le nombre minimum de réglages d'azimut requis du polariseur d'étalonnage augmente également. Elle est donnée par le plus petit entier  $n_{min}$  tel que  $n_{min} \geq \max(4p - 4, 4q - 4)/3$ , où « max » désigne la valeur maximale ; par exemple, si  $p = 5$  et  $q = 6$ , alors  $n_{min}=7$ .

### III.3. Validation des Mesures Polarimétriques dans le Domaine Visible et Infrarouge

Dans cette section on montrera les résultats de plusieurs tests qui permettent de juger de la qualité des matrices de Mueller mesurées avec le polarimètre. Tout d'abord, on vérifiera la linéarité du système ; ensuite, on validera les méthodes d'étalonnage, après quoi on présentera les matrices obtenues à partir des composants de référence (air, polariseur, et déphaseur). Enfin, on présentera les résultats d'une étude de stabilité dont l'objectif était de déterminer la précision des mesures de même que leur stabilité (ou répétabilité) avec ou sans l'intervention des utilisateurs.

#### III.3.1. Vérification de la Linéarité de la Caméra Visible

Compte tenu du fait que la relation de mesure polarimétrique (3.21) est une application linéaire, la linéarité du système est une étape très importante à vérifier afin de s'assurer de l'exactitude des mesures qui seront obtenues, afin de donner suite à l'achèvement de la conception et du montage de l'instrument.

Notre méthode pour vérifier la linéarité du système repose sur une application de la loi de Malus, découverte en 1809. Elle implique la mesure de l'intensité d'un faisceau lumineux ayant traversé un système formé par au moins deux polariseurs en fonction de l'orientation des axes de transmission respectifs des polariseurs utilisés pour la mesure.

Dans le cas le plus simple, si on place deux polariseurs (un polariseur et un analyseur) l'un à la suite de l'autre sur le trajet de la propagation d'un faisceau lumineux, alors, l'intensité du faisceau émergent dépend de l'angle entre les deux directions de polarisation des deux polariseurs (autrement dit, entre les deux axes de transmission de deux polariseurs). On note  $(I_0)$  l'intensité du faisceau incident,  $(I)$  l'intensité du faisceau émergent, et  $\theta$  l'angle entre l'axe de transmission du polariseur et celui de l'analyseur. Alors, d'après la loi de Malus, l'intensité à la sortie suit une fonction en cosinus carré comme exprimé par l'équation suivante :

$$I = \frac{I_0}{2} \cos^2 \theta \quad (3.33)$$

( $I_0$  est l'intensité de la lumière incidente, supposée non polarisée). La figure III.1 illustre le principe de la loi de Malus. **P1** est le premier polariseur dans le trajet optique, alors que **P2** est l'analyseur. Tout en gardant l'axe de transmission de **P1** parallèle à l'axe **Y**, on fait tourner **P2** à plusieurs valeurs de l'azimut, en commençant, par exemple, par  $\theta = 0^\circ$ , jusqu'à  $\theta = 180^\circ$ . Lorsqu'on mesure à chaque fois l'intensité à la sortie via le détecteur **D**, les points de mesure suivent en théorie l'équation (3.33) si la réponse du détecteur est linéaire, donc proportionnelle au flux de photons détecté. Il est à noter que le nombre ou les valeurs des azimuts à considérer ne sont pas une contrainte. La figure **la figure** III.1 représente quelques-uns à titre illustratif. L'objectif étant uniquement d'avoir assez de points pour pouvoir observer une corrélation entre les points expérimentaux et la courbe décrite par l'équation (3.33).

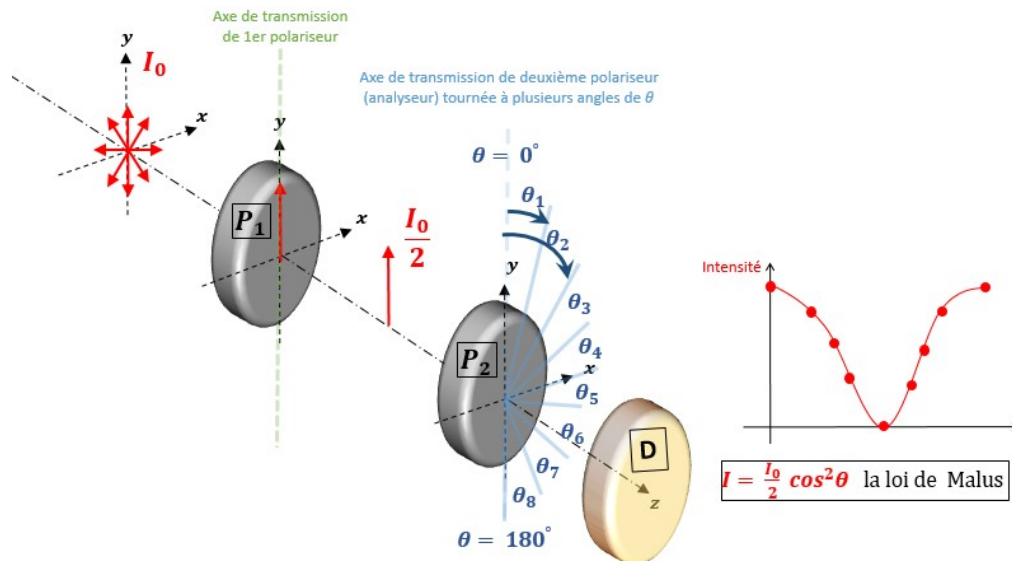


Figure III.1 : Application de la loi de Malus. **P1** est le premier polariseur, **P2** est l'analyseur, **D** est le détecteur.

Dans notre cas, j'ai appliqué la loi de Malus en utilisant la caméra visible du polarimètre, une caméra DALSA NANO M2020 équipée d'un capteur Sony IMX265 monochrome comme détecteur pour mesurer l'intensité de la lumière émergente, et vérifier ainsi sa linéarité.

Afin de réaliser l'expérience décrite dans la figure 1, j'ai utilisé deux polariseurs commerciaux à film dichroïque (LPVISE de Thorlabs), ainsi qu'une source laser verte dont la longueur d'onde (530nm) est comprise dans le domaine de la sensibilité de la camera et pour laquelle le rendement quantique est supérieure à 0.9, d'après les spécifications du constructeur montrées dans la figure III.2.



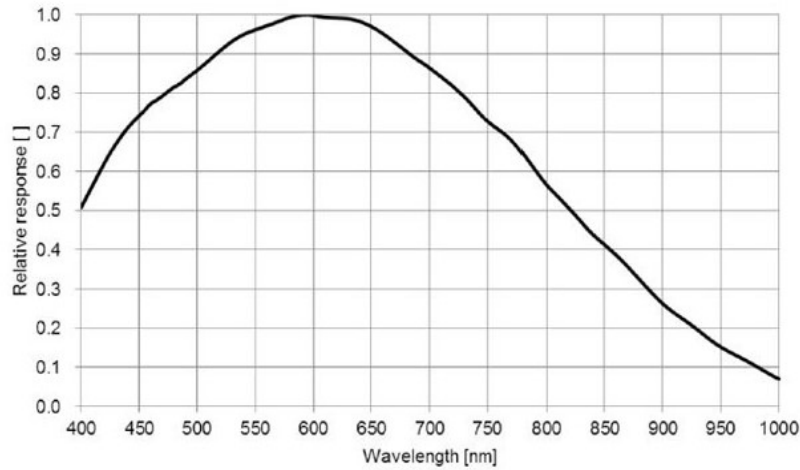


Figure III.2 : Sensibilité du capteur Sony IMX265 installé sur la camera visible. Mesure fournie par le constructeur Sony.

La réponse polarimétrique des deux polariseurs linéaires utilisés pour cette expérience a été mesurée avec un polarimètre commercial (HORIBA SMartSE) spectroscopique non-imageur couvrant le domaine spectral entre 450 nm et 1000 nm. Le polarimètre spectroscopique se trouve installé et en service au laboratoire LPICM à l'École Polytechnique. La figure III.3 montre la matrice de Mueller spectroscopique d'un des polariseurs lorsque son axe de transmission est orienté horizontalement par rapport à l'axe de référence du laboratoire. En se référant à la forme de la matrice de Mueller d'un polariseur idéal horizontal présenté dans le tableau 3 du premier chapitre, nous concluons que le polariseur se comporte comme un polariseur idéal à la longueur d'onde (530nm) du laser vert utilisé. La matrice de Mueller du deuxième polariseur était comparable à celle du premier polariseur, raison pour laquelle elle n'est pas montrée ici. Ainsi, nous pouvons utiliser les deux polariseurs dans l'expérience de la loi de Malus.

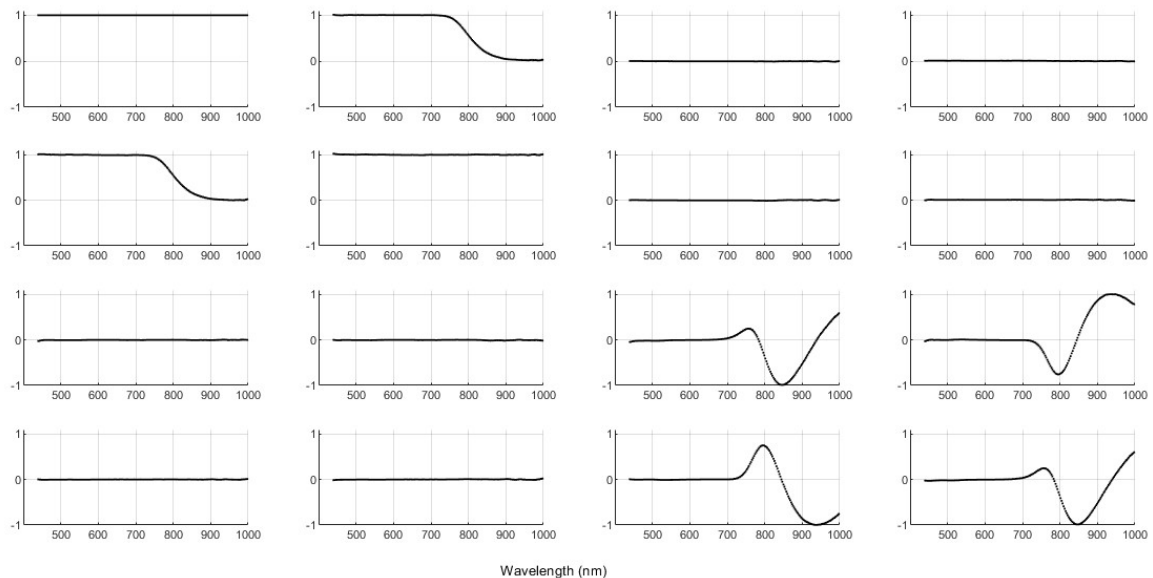


Figure III.3 : La matrice de Mueller spectroscopique du polariseur linéaire utilisé pour tester la linéarité du détecteur.

Comme illustré par la figure III.1 sur l'application de loi de Malus, j'ai mesuré des images d'intensité en démarrant de la position où les deux polariseurs sont orientés à zéro degrés. Ensuite, j'ai fait tourner l'analyseur ( $P_2$ ) à 18 azimuts différents de  $0^\circ$  à  $180^\circ$  avec un pas de  $10^\circ$  à chaque fois, tout en gardant l'angle du premier polariseur ( $P_1$ ) fixé à zéro degré. De cette manière, j'ai acquis une collection de 19 images suffisante pour tester l'accord entre les mesures expérimentales issues de la camera à tester et la courbe donnée par la loi de Malus.

Comme le montre la Figure III.4, j'ai effectué l'expérience de test de linéarité de la camera quatre fois sur quatre jours consécutifs. La courbe (en rouge) présente la fonction théorique de la loi de Malus, tandis que les points bleus sont obtenus de la valeur moyenne des intensités de 9 pixels choisis au centre de chaque image. Pour chaque mesure j'ai utilisé un au total 19 images qui équivaut à bouger azimuth de l'analyseur entre  $0^\circ$  et  $180^\circ$  tous les  $5^\circ$ . Les résultats illustrés sur la figure III.4 montrent qualitativement d'une part la bonne linéarité de la caméra et d'une autre part une bonne stabilité pendant quatre jours consécutifs

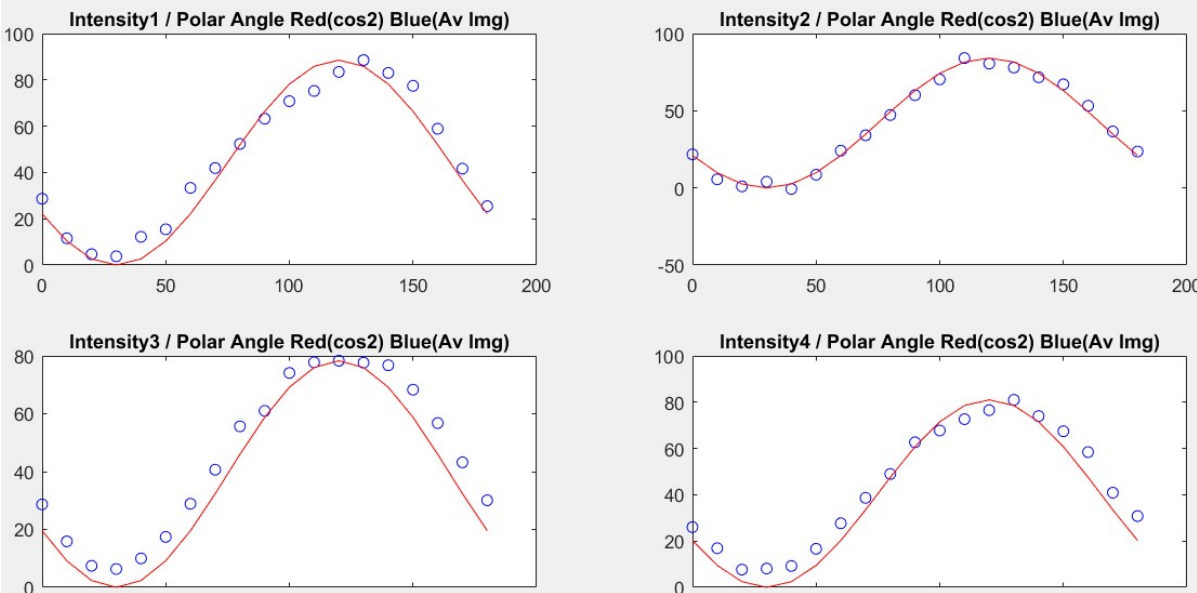


Figure III.4 : Accord entre courbe théorique (en rouge) et points expérimentaux (en bleu).

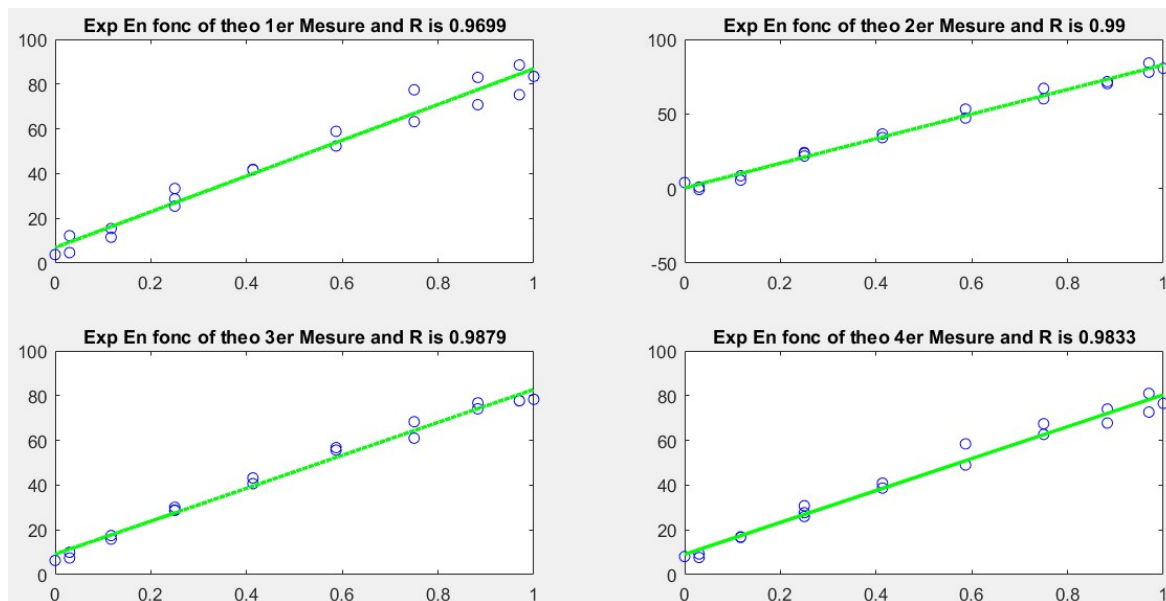


Figure III.5 : Courbes permettant de déterminer la corrélation linéaire existant entre les données expérimentales et la loi de Malus théorique pour des mesures faites pendant quatre jours consécutifs. Pour chaque graphique, l'axe des abscisses correspond au modèle théorique et l'axe des ordonnées aux mesures expérimentales. Le coefficient de corrélation linéaire correspondant à chaque paire de données est indiqué.

Afin de juger quantitativement les résultats obtenus et présentés sur la figure III.4, j'ai calculé un indicateur appelé coefficient de régression linéaire, noté  $R$  dans ce qui suit, pour les quatre mesures de la figure III.4. Ce coefficient a pour objectif de quantifier la tendance que la corrélation entre les mesures expérimentales (représentées par les points bleus) et les valeurs théoriques correspondantes (la courbe en rouge) puisse être représentée par une droite. Ainsi, la valeur  $R=1$  présente le cas idéal où les mesures suivent parfaitement la loi de Malus. Afin de calculer le coefficient  $R$  j'ai comparé un vecteur contenant les données expérimentales, et un autre vecteur contenant les résultats du modèle théorique qui ajuste le mieux possible les données expérimentales. En analogie avec la figure III.4 la figure III.5 montre la corrélation linéaire entre les données expérimentales mesurés sur quatre jours consécutifs et les données théoriques correspondantes qui les ajustent le mieux. On constate que les valeurs de  $R$  varient entre 0.9699 et 0.999 ce qui peut être considéré comme très proche de l'idéalité. J'en donc déduit donc que la caméra peut être considérée comme suffisamment linéaire et stable dans le temps comme pour être utilisée comme détecteur pour les mesures polarimétriques dans le domaine spectral visible.

### III.3.2. Vérification de la Linéarité de la Caméra Infrarouge

Cette sous-section a pour objectif de décrire les résultats expérimentaux dont l'objectif était de vérifier et de mesurer la linéarité de la caméra infrarouge. Par analogie à la stratégie discutée précédemment pour le domaine visible, des mesures reposant sur la loi de Malus ont été utilisées aussi pour valider la caméra infrarouge. Pour les expériences dans l'infrarouge on n'applique pas la loi de Malus de la manière « classique » comme discutée dans la section précédente, mais une version généralisée utilisant trois polariseurs linéaires placés séquentiellement dans le trajet du

faisceau entre la source et la caméra infrarouge. Dans cette version du montage, représentée schématiquement sur la figure III.6, les deux polariseurs aux extrêmes du montage, Polar 1 et Polar 3, restent fixes tandis que le troisième polariseur, Polar 2, peut tourner.

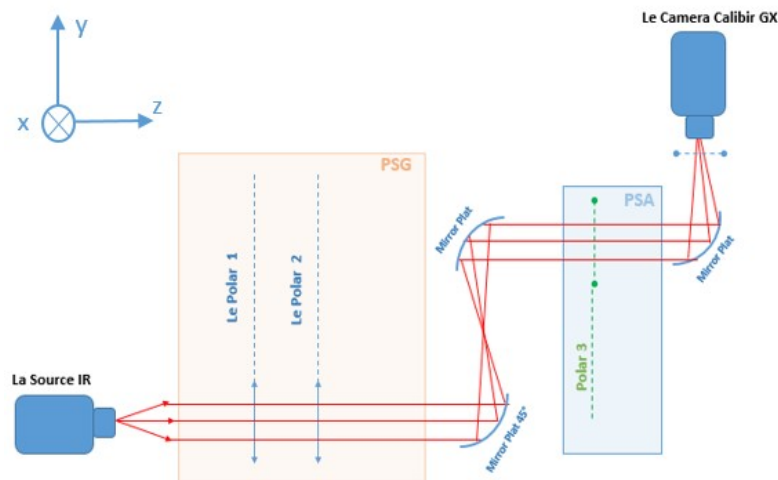


Figure III.6 : Le montage d'application de la loi de Malus dans le cas de la vérification de la linéarité du système dans le domaine spectral de l'infrarouge.

Cette variation du système expérimental s'explique par le fait que les mesures ont été faites à travers du microscope polarimétrique une fois monté. Le polar 1 et le polar 3 sont en fait les polariseurs du PSG et du PSA, tandis que le polar 2 est placé sur le porte-échantillon et est l'élément utilisé comme référence pour la calibration de l'instrument. De ce fait les mesures peuvent être affectées par l'état de polarisation du faisceau incident sur le polar 1, et par l'éventuelle diatténuation de l'ensemble de miroirs entre le PSA et la caméra. Les retardateurs du PSG et du PSA ont été ôtés pour les besoins de ces mesures. Le fait de fixer la rotation des deux polariseurs, Polar 1 et Polar 3, permet de s'affranchir de tous ces effets indésirables difficiles à modéliser. De ce fait, les valeurs d'intensité détectées devraient suivre une loi légèrement différente de l'expression de la loi de Malus classique. En effet, dans cette configuration, la loi de Malus généralisée devient :

$$E_2 = \frac{1}{2} E_0 \cos^4 \theta \quad (3.34)$$

où  $E_2$  est l'intensité détectée par la camera à bolomètre et  $E_0$  est l'intensité à l'entrée. L'angle  $\theta$  est celui formé par les deux axes de transmission parallèles des deux polariseurs Le Polar 1 et Le Polar 3 et l'axe de Polar 2.

La figure III.7 présente la vérification de l'accord entre la courbe théorique de l'équation (3.34) et les données expérimentales des intensités détectées en quatre positions différents (North, West, South et East). Pour chaque position la valeur de l'intensité est donnée par la moyenne des valeurs de 49 pixels, l'objectif étant d'explorer la linéarité du système en quatre points simultanément, ainsi que de s'assurer de la stabilité de la linéarité sur la surface globale de détecteur. Les quatre points noirs sur l'image indiquent les endroits caractérisés. Les quatre autres figures montrent les résultats de l'expérience pour chaque point. Les figures indiquent qualitativement un très bon accord entre les courbes théoriques (en rouge) d'après l'équation (3.34) et les mesures expérimentales des intensités (cercles bleus). Finalement, afin d'évaluer cette corrélation quantitativement de la même manière que sur la figure 5, j'ai calculé les coefficients de régression linéaire R pour les quatre points (North, West, South et East). Leurs valeurs sont supérieures ou égales à 0.994, ce qui démontre un très bon accord quantitatif.

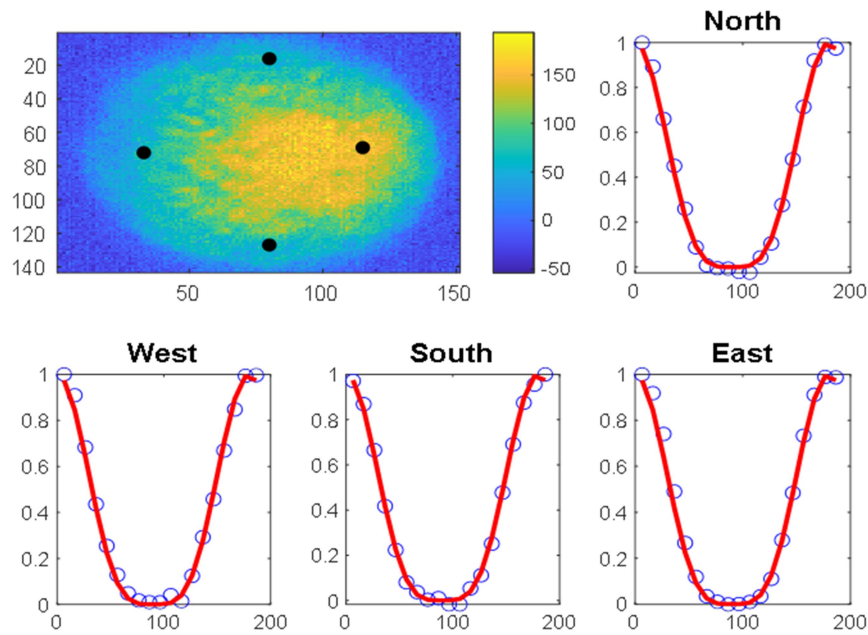


Figure III.7 : Accord entre les valeurs théoriques (courbes en rouge) et les valeurs expérimentales (cercles bleus). Les points noirs sur l'image (associés aux quatre points cardinaux) représentent les endroits où la vérification de la linéarité a été réalisée.

En conclusion, nous avons démontré la linéarité du système dans les domaines spectraux visible et infrarouge. De plus, grâce à l'application de la loi de Malus sur le montage complet du microscope polarimétrique infrarouge, nous avons montré que les éléments constituant le microscope comme les miroirs et les lentilles n'ont pas d'influence sur les états de polarisations générées par le PSG et le PSA.

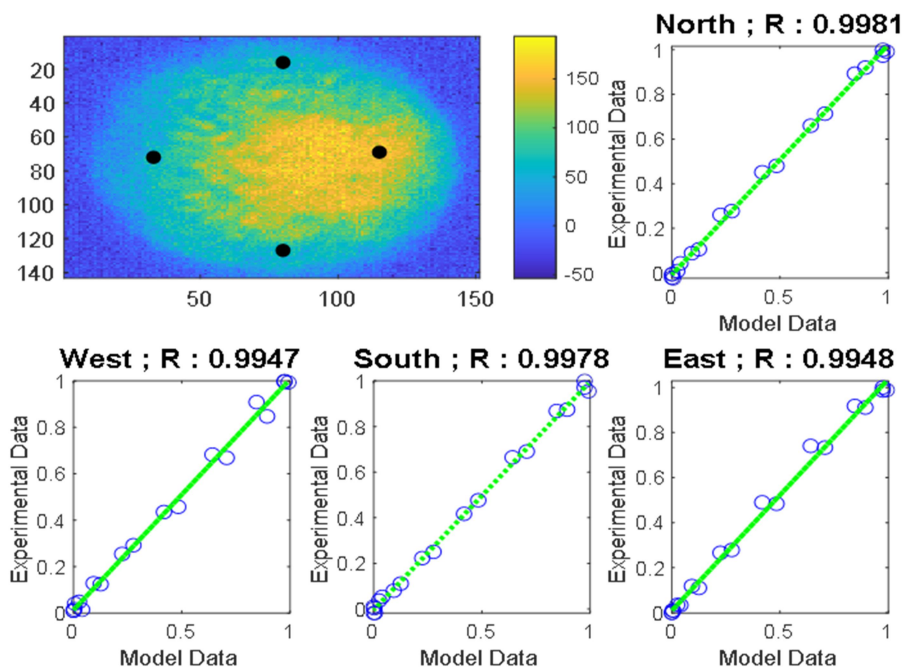


Figure III.8 : Coefficients de régression linéaire,  $R$  et endroits correspondants (points noirs sur l'image) où la vérification de la linéarité du système a été réalisée.

## III.4 Validation des Méthodes de Calibration PCM et ECM

### III.IV.1. Validation de la Méthode PCM avec un Polarimètre Commercial Spectroscopique

Pour valider expérimentalement la méthode, un polarimètre de Mueller spectroscopique à base de cristaux liquides ferroélectriques commercial (SmartSE de HORIBA) a été utilisé (Figure III.9). La gamme spectrale visible-NIR (450–1000 nm) est couverte par une source halogène, assistée d'une source LED bleu secondaire pour augmenter l'intensité lumineuse à des longueurs d'onde inférieures à 500 nm. Le polarimètre fournit la matrice de Mueller complète de l'échantillon en environ 2 s, avec une précision d'environ 0,02 par élément de matrice normalisée. (La précision a été déduite à partir de l'écart type entre la mesure de la matrice de Mueller normalisée de l'espace libre – l'air – et la matrice d'identité sur toute la plage spectrale.)

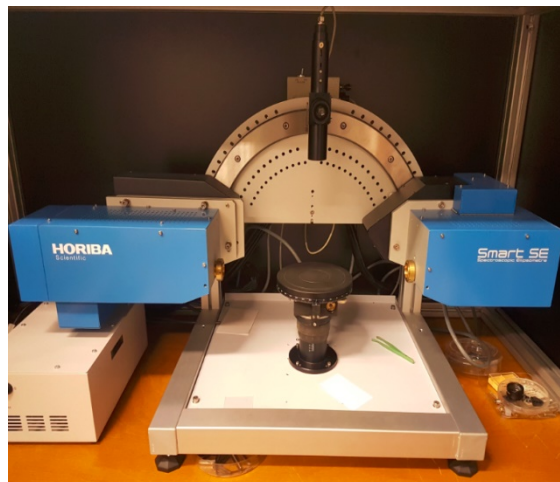


Figure III.9 : Le polarimètre commercial de Mueller spectroscopique à base de cristaux liquides ferroélectriques (SmartSE de HORIBA)

Le polarimètre, monté sur une platine de goniomètre motorisée pour le réglage de l'angle d'incidence, a été mis en configuration de transmission et un polariseur commercial à film dichroïque (LPVISE de Thorlabs) monté sur une platine tournante manuelle a été inséré dans le trajet optique rectiligne entre le PSG et le PSA. Un polariseur d'entrée de gamme a été délibérément utilisé pour évaluer la robustesse de la méthode. Dans une étape préliminaire visant à caractériser le polariseur seul, ce dernier a été réglé à l'azimut de zéro degrés (axe de transmission vertical) et sa matrice de Mueller normalisée, rapportée sur la Figure III.10, a été mesurée sur toute la gamme spectrale. (Avant d'effectuer la mesure, le polarimètre a été calibré en utilisant la procédure ECM standard.)

Le polariseur à film se comporte comme un polariseur « idéal » satisfaisant l'équation (3.23) à des longueurs d'onde inférieures à environ 750 nm, conformément à ses spécifications techniques (400-700 nm) [8]. Ceci est clairement visible à partir de la comparaison des éléments de matrice de la figure III.10 avec ceux de la matrice de Mueller d'un polariseur vertical idéal (obtenue en posant  $\alpha = 0^\circ$  dans l'équation (3.23)) :

$$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (3.35)$$

Plus précisément, le taux d'extinction du polariseur à film est spécifié comme étant supérieur à 100 sur la plage de longueurs d'onde nominale de 400 à 700 nm [8]. Au-dessus d'environ 750 nm, le taux d'extinction chute rapidement et le polariseur à film se comporte plutôt comme un déphaseur fortement chromatique. Par conséquent, on peut s'attendre à ce que la méthode PCM utilisant le dispositif actuel fonctionne à des longueurs d'onde comprises entre 450 et 750 nm. (La limite de longueur d'onde courte de 450 nm est imposée par la zone de fonctionnement de sécurité des déphaseurs à cristaux liquides du polarimètre.)

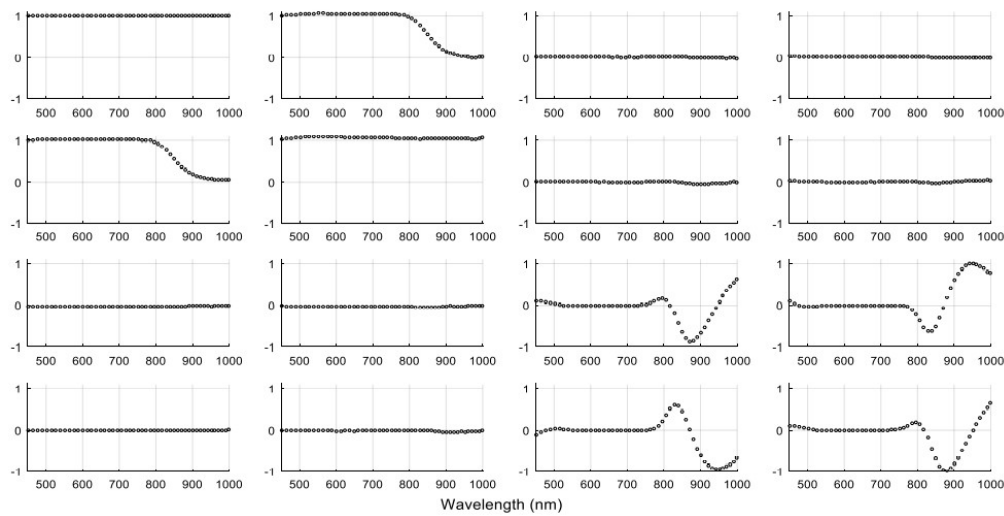


Figure III.10 : Matrice de Mueller du polariseur du film fixé à 0° (axe de transmission vertical).

Dans une deuxième étape préliminaire, le degré de polarisation, DOP, des vecteurs de Stokes constituant les matrices d'étalonnage du PSG et du PSA (**W** et **A**), fournies par la méthode standard d'étalonnage aux valeurs propres [1,2], a été évalué via l'équation (1.7) afin de détecter l'éventuelle présence de dépolarisation induite par l'instrument. Nous remarquons d'après les résultats affichés dans les deux Figures III.11 et III.12 pour les deux matrices **W** et **A** respectivement que les moyennes des valeurs DOP sur l'ensemble du spectre variaient au-dessus de 0,996 et 0,993, respectivement, avec un écart type inférieur ou égale à 0.017 pour tous les vecteurs de Stokes. Cette vérification garantit le respect de la condition d'absence de dépolarisation, nécessaire à l'application de la méthode PCM.

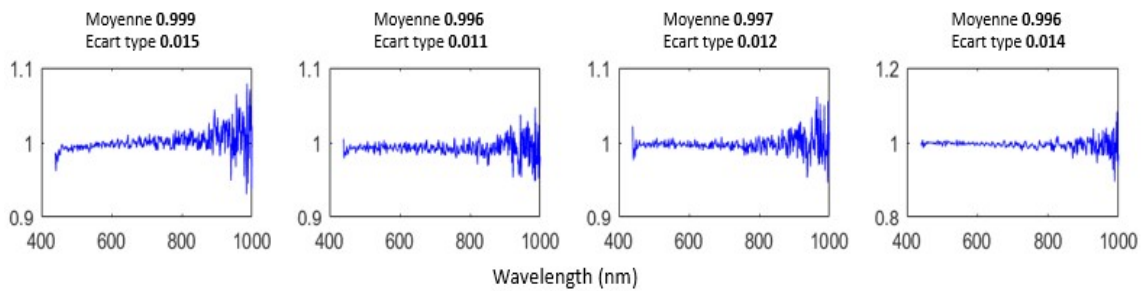


Figure III.11. Degré de polarisation, DOP, des vecteurs de Stokes constituant la matrice du PSG **W** sur le domaine spectral [450 - 1000] nm.



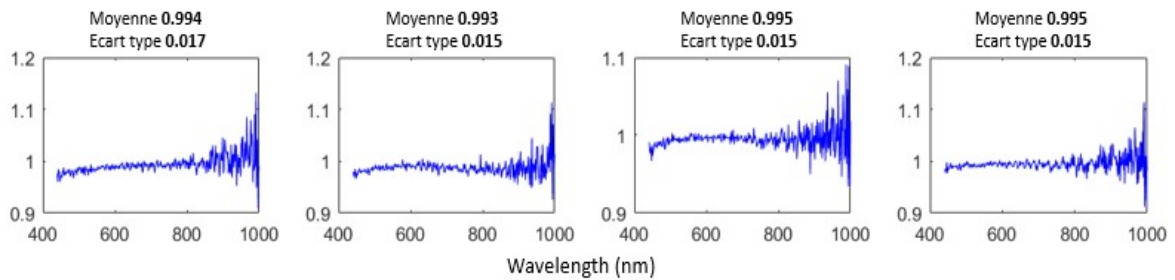


Figure III.12 : Degré de polarisation, DOP, des vecteurs de Stokes constituant la matrice du PSA **A** sur le domaine spectral [450 - 1000] nm.

Ensuite, le polariseur a été tourné consécutivement vers les  $n = 4$  réglages d'azimut  $0^\circ$ ,  $30^\circ$ ,  $45^\circ$  et  $60^\circ$ , les quatre matrices d'intensité lumineuse **B** ont été enregistrées et la procédure **PCM** a été appliquée.

### **Résultats de la validation et discussion connexe :**

Les figures III.13 et III.14 montrent, en couleur rouge, les matrices du PSG et du PSA obtenues avec la procédure PCM. À titre de comparaison, les deux figures indiquent également (en bleu) les deux matrices instrumentales obtenues avec l'approche ECM standard. Les matrices du PSG et du PSA correspondant à la méthode ECM sont calculées automatiquement par le polarimètre spectroscopique Smart-SE lors d'une étape de calibration de routine et sont stockées ensuite dans le disque dur de l'ordinateur de contrôle. Les deux matrices **W** et **A** ont été normalisées à leurs éléments de première ligne dans le cas de **W** et de colonne dans le cas de **A**, pour souligner leur nature de vecteurs de Stokes, ainsi que pour améliorer la comparaison visuelle entre les deux méthodes d'étalonnage (les valeurs absolues de tous les éléments de matrice ne dépassent pas l'unité).

Comme on le voit sur les figures, l'accord entre les deux approches d'étalonnage est très proche sur la gamme de longueurs d'onde 450–750 nm, même si la composante circulaire n'est pas directement accessible par le polariseur d'étalonnage. Au-delà de cette plage spectrale, l'approche PCM échoue en raison de la dégradation de la propriété de projection du polariseur à film utilisé, comme le montrent précédemment la figure III.10 et la discussion afférente.

Quantitativement, l'erreur quadratique moyenne (rms) par élément de la matrice **W** (évaluée à partir de l'écart type entre les spectres PCM et ECM respectifs sur la plage de 450 à 750 nm) s'est avérée être de 0,034, alors que celle par élément de la matrice **A** était de 0,027. Les deux valeurs sont du même ordre de grandeur, bien que légèrement supérieures, à la précision ( $\sim 0,02$ ) du polarimètre de Mueller commercial utilisé. Les erreurs quadratiques moyennes de **W** et **A** chutent respectivement à 0,030 et 0,023 si elles sont évaluées sur la gamme spectrale 450–700 nm, correspondant aux spécifications techniques du polariseur. Ces valeurs valident dans la pratique l'approche PCM utilisant un polariseur à film d'entrée de gamme avec un taux d'extinction aussi bas que 100.

À titre d'un autre indicateur quantitatif, j'ai calculé le coefficient de corrélation, noté (R), qui mesure la qualité de la régression linéaire entre les deux résultats d'étalonnage ECM et PCM, par élément de matrice **W** et de matrice **A** sur la gamme spectrale de 450 à 750 nm. Le fait d'avoir  $R=1$



correspond au cas idéal où les deux résultats d'étalonnage sont identiques alors que  $R=0$  correspondrait au cas opposé où les deux résultats sont complètement dispersés et ne peuvent pas être représentés par une ligne droite. Ainsi, le coefficient  $R$  est un « baromètre » qui quantifie la tendance pour que les mesures soient représentables par une droite. Nous remarquons sur les figures 15 et 16 que toutes les valeurs de  $R$  pour les éléments des deux matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  sont supérieures ou égales à 0.96 ce qui est très proche de la valeur idéale. Ceci nous amène à la même conclusion que celle obtenue à partir de l'indicateur quantitatif précédemment calculé ( $rms$ ) : la méthode PCM est valide pour les applications pratiques.

Il convient de noter que, lors de l'obtention des matrices d'instrument par la procédure PCM, une attention particulière a dû être portée lors de l'évaluation des éléments de la dernière ligne de la matrice  $\mathbf{W}$  et la dernière colonne de  $\mathbf{A}$  en utilisant l'équation (3.32). Les deux signes  $\varepsilon_W^{(k)} = \pm 1$  et  $\varepsilon_A^{(k)} = \pm 1$  ont dû être ajustés par morceaux afin d'obtenir une continuité sur toute la gamme spectrale pour toutes les longueurs d'onde. En outre, pour atténuer la discontinuité résultant des valeurs négatives parasites induites par le bruit de mesure se produisant sous les racines carrées de l'équation (3.32) lorsque les deux éléments de matrice  $W_{43}$  et  $A_{43}$  croisent l'abscisse (voir Figures III.13 et III.14, respectivement), des décalages positifs,  $\delta_{W_{43}} = 0.007$  et  $\delta_{A_{34}} = 0.002$ , beaucoup plus petits que le niveau de bruit, ont été ajoutés aux valeurs sous les racines. L'addition de ces décalages empêche efficacement l'apparition de valeurs négatives et assure un croisement continu de l'axe des abscisses pour les deux éléments de la matrice.

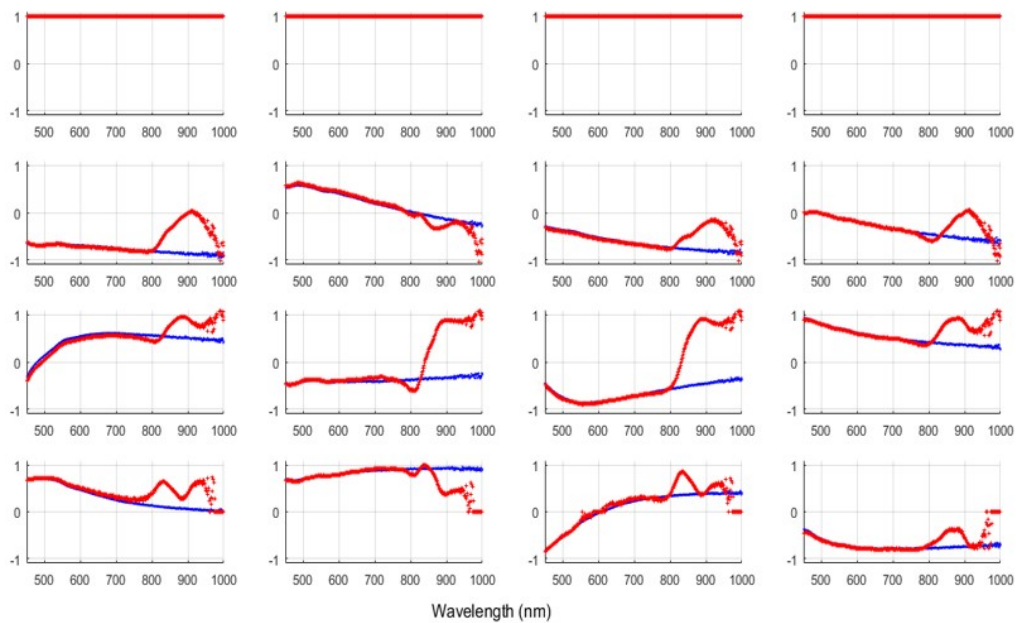


Figure III.13. Matrice d'étalonnage du PSG ( $W$ ) obtenue avec les approches PCM (rouge) et ECM (bleu).

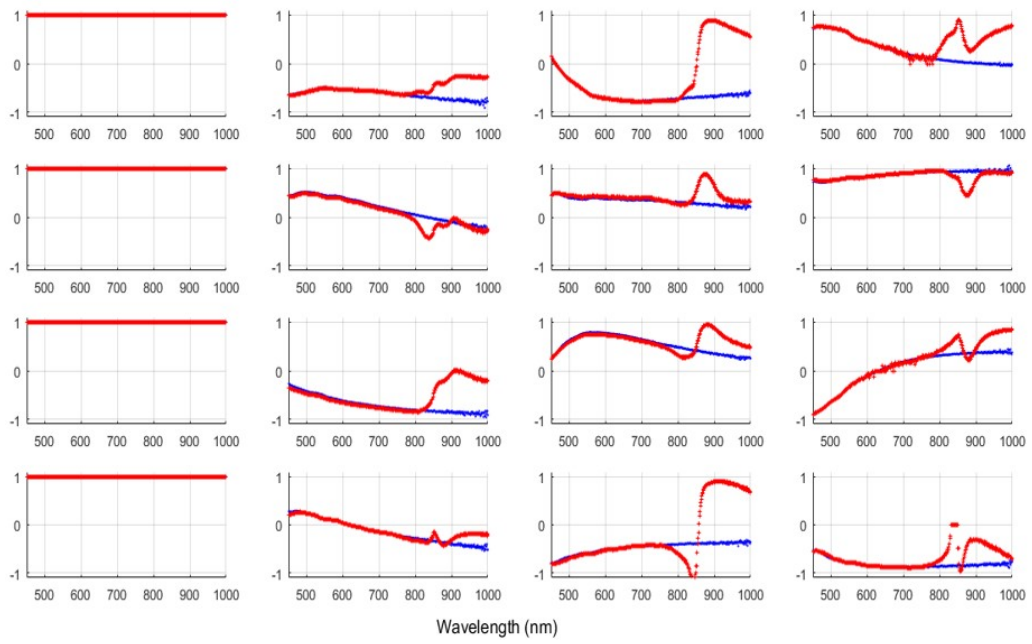


Figure III.14. Matrice d'étalonnage du PSA (A) obtenue avec les approches PCM (rouge) et ECM (bleu).

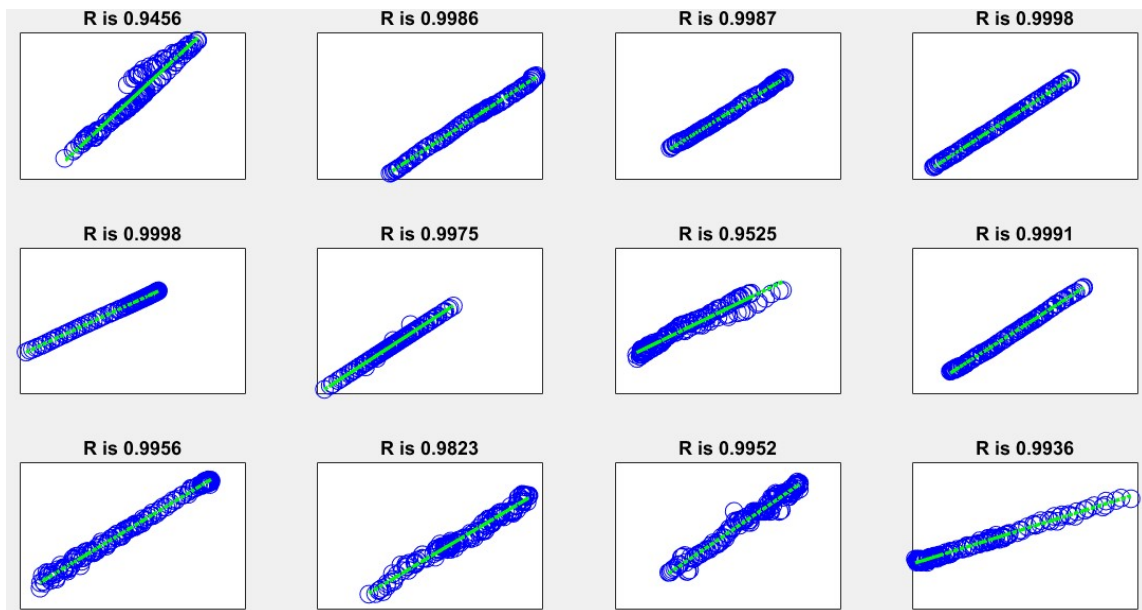


Figure III.15. Coefficients de régression linéaire  $R$  entre les deux matrices spectroscopiques  $W_{ECM}$  et  $W_{PCM}$  sur la gamme spectrale comprise entre 450 – 750nm.

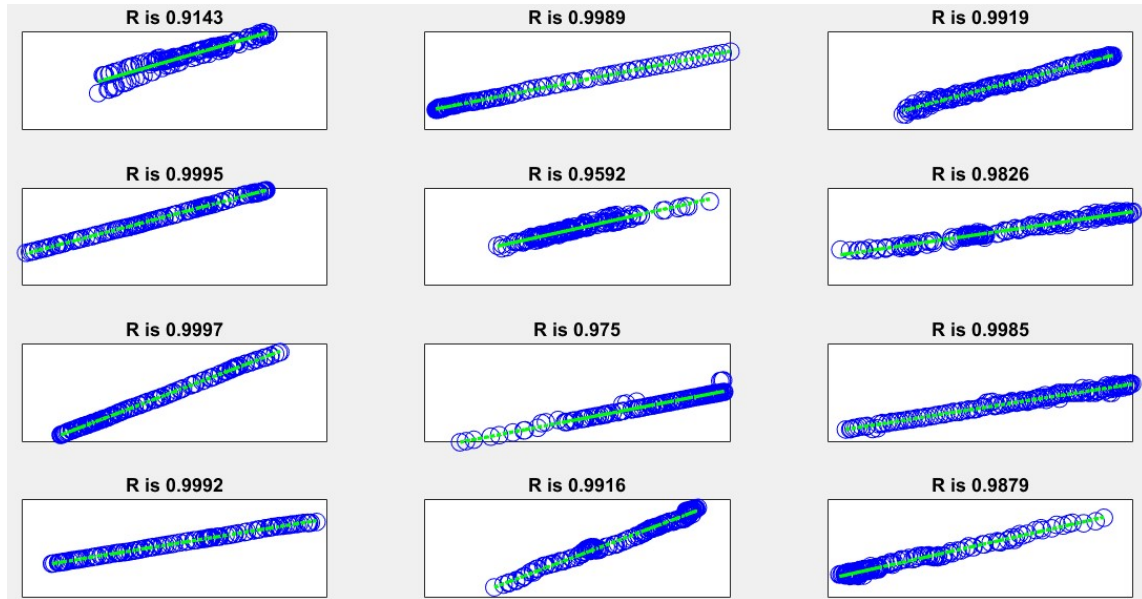


Figure III.16. Coefficients de régression linéaire  $R$  entre les deux matrices spectroscopiques  $A_{ECM}$  et  $A_{PCM}$  sur la gamme spectrale comprise entre 450 – 750nm

#### **Propositions pour le raffinement de la méthode :**

La validation expérimentale présentée ci-dessus étant juste une preuve de principe pour la procédure PCM, plusieurs voies d'amélioration des performances de l'approche peuvent être facilement proposées. Ainsi, au lieu de prendre des valeurs arbitraires pour les quatre (ou plus) valeurs d'azimut du polariseur  $\alpha_i$ ,  $i = 1, 2, 3, 4$ , on peut théoriquement les optimiser sur toute la plage des azimuts ( $0^\circ < \alpha < 180^\circ$ ) de manière à maximiser la plus petite valeur propre non nulle de la matrice symétrique  $\mathbf{P}_n^{rT} \mathbf{P}_n^r$  où  $\mathbf{P}_n^r = [\mathbf{P}_{nc}^r \ \mathbf{P}_{nb}^r]$  est la matrice composite obtenue en empilant  $\mathbf{P}_{nc}^r$  et  $\mathbf{P}_{nb}^r$  ligne par ligne. En effet, selon l'équation (3.31), les deux vecteurs inconnus  $\mathbf{w}^r$  et  $\mathbf{a}^r$  appartiennent aux noyaux associés aux valeurs propres nulles de  $\mathbf{P}_{nc}^r$  et  $\mathbf{P}_{nb}^r$  de sorte que le vecteur composé  $[\mathbf{w}^{rT} \ \mathbf{a}^{rT}]^T$  appartient au noyau de  $\mathbf{P}_n^r$ ; la maximisation de la valeur la plus proche de la valeur propre nulle de  $\mathbf{P}_n^{rT} \mathbf{P}_n^r$  assure donc une séparation optimale des deux noyaux.

Cependant, étant donné que  $\mathbf{P}_{nc}^r$  et  $\mathbf{P}_{nb}^r$  dépendent de l'instrument (parce qu'ils impliquent la matrice d'intensité lumineuse  $\mathbf{B}$  et, par conséquent, les matrices instrumentales  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$ ), les valeurs d'azimut optimales en dépendent elles aussi. Pour tirer profit de cette procédure d'optimisation, il faut modéliser la réponse du polarimètre à étalonner. Notons qu'une telle modélisation doit être implémentée de toute façon, car elle est nécessaire à la détermination des signes des quatrièmes composantes des vecteurs de Stokes, comme déjà discuté.

Une fois les réglages d'azimut théoriques (optimaux ou sous-optimaux) du polariseur choisis, on peut déterminer leurs valeurs réelles, c'est-à-dire les valeurs effectivement utilisées dans l'étalonnage, en minimisant le rapport  $\lambda_{24}/\lambda_{23}$ , où  $\lambda_{24}$  est le plus petit (théoriquement, nulle) valeur propre de la matrice  $\mathbf{P}_n^{rT} \mathbf{P}_n^r$  tandis que  $\lambda_{23}$  est la deuxième plus petite valeur propre (les 24 valeurs propres étant notées par ordre décroissant).

Il est à noter qu'ici la matrice  $\mathbf{P}_n^r$  est obtenue à partir de l'expérience, alors que dans le paragraphe précédent elle est évaluée à partir du modèle du polarimètre. Si l'espacement entre les quatre réglages d'azimut  $\alpha_i$  est régulier et que sa valeur est connue avec précision (par exemple, comme

dans le cas d'un platine à moteur pas à pas), seule une optimisation à un seul paramètre, le décalage commun des azimuts (au lieu d'une optimisation générale à quatre paramètres sur chaque azimut  $\alpha_i$ ) doit être effectuée. La détermination des valeurs réelles des azimuts des composants d'étalonnage est également une étape standard dans les approches ECM [1] et du maximum de vraisemblance [9].

Enfin, pour assurer une meilleure résilience et un meilleur filtrage du bruit, on peut surdéterminer la procédure PCM en utilisant plus de quatre réglages d'azimut de polariseur ou en ajustant les éléments de la matrice spectroscopique, déterminés longueur d'onde par longueur d'onde, avec des polynômes de faible degré variant lentement sur la gamme spectrale d'intérêt. Finalement, par l'utilisation d'un polariseur haut de gamme au lieu de celui à film d'entrée de gamme, on ne pourra qu'améliorer la qualité d'étalonnage.

La principale caractéristique de la méthode du polariseur, PCM, et celle qui la différencie de la méthode des valeurs propres, ECM, est que la méthode PCM ne requiert que d'un bon polariseur comme échantillon de calibration, tandis que la méthode ECM requiert un polariseur et au moins un retardateur. En principe la méthode du polariseur, PCM, a été développée comme une alternative à la méthode des valeurs propres, ECM afin d'être appliquée pour des polarimètres opérant dans des domaines spectraux non-conventionnels comme par exemple les rayons X, l'ultraviolet extrême, les térahertz ou les micro-ondes pour lesquels des bons polariseurs linéaires existent, mais il est difficile, voire impossible, de trouver des retardateurs de qualité. L'infrarouge est un cas un peu particulier pour lequel il y a de polariseurs achromatiques, de retardateurs travaillant dans un domaine spectral restreint (lames d'onde simples), mais pas de retardateurs achromatiques ou quasi-achromatiques sur un spectre large sont difficilement (voir chapitre II, section II.1.4 pour une discussion complète). Ainsi, la raison qui a motivé la considération de la méthode PCM dans ce travail a été celle d'éviter l'utilisation d'un seul retardateur achromatique ou d'une collection de retardateurs chromatiques, (incontournable pour la méthode ECM), lorsque une calibration polarimétrique sur un large spectre est envisagée.

## III.4.2. Validation de la Méthode ECM avec le Microscope Polarimétrique

Les résultats discutés dans cette section, notamment l'application de la méthode ECM de calibration, ont été obtenus avec le microscope polarimétrique. Indépendamment du mode d'imagerie ou du domaine spectral considéré, le bruit est un des aspects auxquels la méthode ECM est le plus sensible. Ceci s'explique notamment parce que l'implémentation de la méthode ECM implique indéfectiblement l'utilisation de l'inverse de la matrice  $\mathbf{B}_0$ , dont le conditionnement théorique ne dépasse pas  $0.33=0.577^2$ , ce qui contribue à l'amplification du bruit et d'autres erreurs lors de l'application de l'algorithme de calibration. Le conditionnement de la matrice  $\mathbf{B}_0$  est déterminé par le produit du conditionnement du PSG et du PSA. Le rapport signal sur bruit présent sur les mesures est donc un aspect très important à prendre en compte pour garantir une application réussie de la méthode ECM. Si les mesures d'intensité réalisées par le polarimètre (les images, dans le cas concret du microscope) présentent un bas rapport signal sur bruit, un traitement numérique s'imposera afin de réduire (ou idéalement d'éliminer) le bruit. Le microscope polarimétrique utilise deux caméras, une CMOS pour capturer des images dans le visible et une caméra à base de microbolomètres pour des images dans l'infrarouge (voir chapitre II, section II.3). Pour des raisons liées à

l'intensité du faisceau et à la sensibilité du détecteur, les images dans le domaine infrarouge ont un rapport signal sur bruit plus bas que celle de la caméra visible, raison pour laquelle les images dans l'infrarouge ont dû être traitées avant d'être utilisées pour appliquer la méthode ECM. La recette pour réduire le bruit a consisté principalement à appliquer deux filtres, d'abord un filtre interpolateur pour éviter des pixels aberrants et ensuite un filtre linéaire par convolution d'une masque (ou kernel). La méthode de prétraitement est décrite à la fin de cette section.

Que ce soit dans le visible ou l'infrarouge, la façon d'implémenter la méthode ECM requiert deux étapes. L'objectif de la première étape est une analyse des matrices **B** des échantillons de référence afin de déterminer les orientations (azimuts) et les propriétés qui caractérisent leur réponse optique respective. La deuxième étape profite des résultats de la première étape pour réaliser une détermination, pixel à pixel, des matrices **A** et **W** correspondant au PSA et au PSG respectivement. Dans ce qui suit, je présente les résultats obtenus pour chacune de ces deux étapes lorsque la méthode de calibration est appliquée pour des images dans le domaine infrarouge à une longueur d'onde de  $7.5 \mu\text{m}$  ( $1330 \text{ cm}^{-1}$ ). Des résultats obtenus avec et sans le traitement pour réduire le niveau de bruit sont présentés.

### Première étape : Pré-étalonnage

Comme déjà mentionné, du fait même du principe de la méthode des moindres carrés, la matrice **K** figurant dans l'équation (3.9) est une matrice réelle symétrique et définie semi-positive. Elle peut donc être diagonalisée ; ses 16 valeurs propres, toutes positives ou nulles, sont rangées par ordre décroissant de  $(\lambda_1)$  à  $(\lambda_{16})$ . S'il existe une solution unique pour **W** ou **A**, alors la matrice **K** a 15 valeurs propres non nulles, de  $(\lambda_1)$  à  $(\lambda_{15})$ , et une valeur propre nulle unique,  $(\lambda_{16})$ . La solution pour **W**<sup>16</sup> ou **A**<sup>16</sup> est donnée par le vecteur propre associé à l'unique valeur propre nulle.

En pratique, l'opération de diagonalisation de la matrice **K** est répétée jusqu'à ce que les valeurs des angles d'orientation (azimuts)  $\theta_i$  ( $i = P0^\circ, P90^\circ, L30^\circ$ ) des composants d'étalonnage qui minimisent la valeur propre  $\lambda_{16}$  soient trouvées. En effet, si **K** est calculée avec des valeurs imprécises des orientations  $\theta_0^\circ, \theta_{90}^\circ$  et  $\theta_{L30}^\circ$ , alors les valeurs propres de **K** sont toutes strictement positives et toutes éloignées du zéro. Dans ce cas, l'équation (3.9) n'a pas de solution. Au contraire, si **K** est calculée avec des valeurs précises des orientations  $\theta_0^\circ, \theta_{90}^\circ$  et  $\theta_{L30}^\circ$ , alors ses 15 premières valeurs propres sont strictement positives et  $\lambda_{16}$  est très proche de zéro (nulle, théoriquement). En pratique,  $\lambda_{16}$  être très petite mais pas exactement nulle car **K** est perturbée par le bruit expérimental. Pour cette raison, la procédure d'étalonnage consiste à déterminer les valeurs des angles d'orientation qui minimisent le rapport  $(\lambda_{16}/\lambda_{15})$  que j'appelle le rapport d'optimisation.

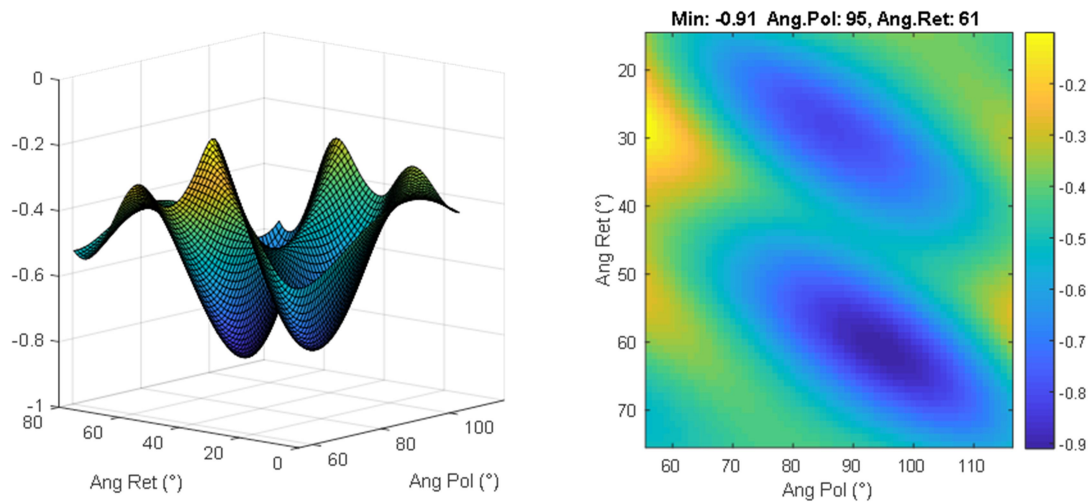


Figure III.17 a) Carte tridimensionnelle (gauche) et contour correspondant (droite) montrant la dépendance de la fonction de mérite utilisé pour la recherche des angles des éléments de calibration en fonction de la position du polariseur à 90° et de la lame de retard. Résultats obtenus à partir d'images brutes sans traiter.

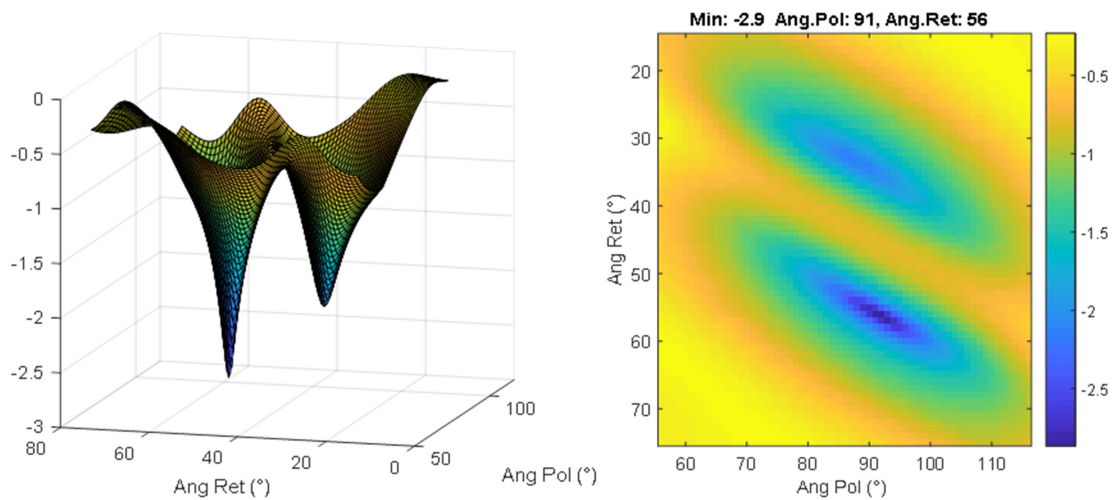


Figure III.17 b) Carte tridimensionnelle (gauche) et contour correspondant (droite) montrant la dépendance de la fonction de mérite utilisé pour la recherche des angles des éléments de calibration en fonction de la position du polariseur à 90° et de la lame de retard. Résultats obtenus à partir d'images filtrées.

Concrètement, l'axe de transmission de P0° est pris pour référence ( $\theta_{P0^\circ} = 0^\circ$ ) tandis que  $\theta_{P90^\circ}$  et  $\theta_{L30^\circ}$  sont variés par rapport à lui. Dans la procédure d'optimisation numérique, les entrées  $\theta_{P90^\circ}$  et  $\theta_{L30^\circ}$  sont modifiées jusqu'à ce que les valeurs des angles qui minimisent le rapport d'optimisation soient trouvées. Comme point de départ,  $\mathbf{K}$  est calculée avec les valeurs théoriques  $\theta_{P90^\circ} = 90^\circ$  et  $\theta_{L30^\circ} = 30^\circ$ . Ensuite, ces orientations sont optimisées autour de ces valeurs théoriques. Ainsi, les valeurs optimisées dépendent de deux facteurs, les valeurs précises des angles d'orientation des échantillons d'étalonnage et le bruit expérimental. Par conséquent, je considère cette étape comme une étape de pré-étalonnage (ou étape préliminaire) qui nous apprend sur la qualité et la précision de l'opération de l'étalonnage, avant de passer à l'étape suivante où on détermine les deux matrices d'étalonnage  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$ . La figure III.17.a présente en trois dimensions les valeurs du rapport d'optimisation ( $\lambda_{16}/\lambda_{15}$ ) en fonction de  $\theta_{P90^\circ}$  et  $\theta_{L30^\circ}$  pour le microscope polarimétrique infrarouge à une longueur d'onde de 7.5  $\mu\text{m}$  (1330  $\text{cm}^{-1}$ ). On constate qu'un minimum pour le rapport d'optimisation d'une valeur ( $\lambda_{16}/\lambda_{15} \approx -0.91$ ) est atteint pour les angles  $\theta_{P90^\circ} = 95^\circ$  et



$\theta_{L30^\circ} = 61^\circ$ . (La valeur de  $61^\circ$  peut être expliquée par une erreur dans le montage mécanique du déphaseur, qui fait que la valeur de  $30^\circ$  sur la graduation de la monture est en réalité une valeur autour de  $60^\circ$ .) Cette erreur de positionnement est sans conséquence pour les résultats de la calibration, car on peut montrer que les deux azimuts,  $30^\circ$  et  $60^\circ$  sont équivalents vis-à-vis de la méthode d'étalonnage.

Quand un filtrage est appliqué aux matrices d'intensité (**B0**, **BP0**, **BP90**, et **BL30**) avant de lancer la procédure d'étalonnage ECM, on obtient le résultat présenté sur la figure III.17.b. Celle-ci présente un minimum de  $(\lambda_{16}/\lambda_{15} \approx -2.9)$  pour les angles  $\theta_{P90^\circ} = 91^\circ$  et  $\theta_{L30^\circ} = 56^\circ$ . Le fait de passer de  $-0.91$  à  $-2.9$  pour la valeur du rapport d'optimisation est une amélioration très considérable (d'environ mille fois du fait de l'échelle logarithmique utilisée dans la figure. En effet, le filtrage numérique appliqué aide à s'affranchir du bruit systématique fixe à la camera.



Figure III.18. Image montrant une photographie du diffuseur rotatif.

L'utilisation d'un laser infrarouge accordable comme source de lumière a l'avantage de permettre une imagerie à large champ de vision et une intensité lumineuse plus élevée que celle obtenue avec une source incandescente, assurant ainsi, un meilleur rapport signal sur bruit. En raison de sa grande cohérence spatiale et temporelle, le laser produit des taches de lumière (*speckle*, en anglais) qui dégradent la qualité de l'image. Pour contourner ce problème et, plus concrètement, réduire le speckle et augmenter le contraste, nous utilisons une configuration originale basée sur un diffuseur en ayant une surface rugueuse recouvert d'une couche d'or et entraîné par un moteur rotatif tournant à plus de 2400 révolutions par minute. La réponse optique du diffuseur, et notamment l'angle de diffusion de la lumière, n'est pas achromatique. Plus la longueur d'onde est élevée, moins le diffuseur est efficace pour diffuser la lumière et ainsi, ses performances dans l'infrarouge sont un peu moins bonnes que dans le visible. Le choix de la longueur d'onde dépend de la nature de l'échantillon, de la sensibilité du détecteur et de la puissance spectrale de la source. La figure III.19 montre la dépendance du signal détecté par la caméra en fonction de la longueur d'onde lorsque les polariseurs sont retirés du trajet optique et le porte-échantillon est laissé vide. On observe une forte dépendance spectrale et la présence de deux valeurs maximales autour de  $7.5 \mu\text{m}$  ( $1330 \text{ cm}^{-1}$ ) et  $9 \mu\text{m}$  ( $1100 \text{ cm}^{-1}$ ). Pour des raisons évidentes, la plupart de mesures utilisées au cours de cette thèse ont été réalisées autour de ces deux longueurs d'onde. En dépit des apparences, l'intensité du rayonnement infrarouge détecté est loin de saturer la caméra. Nous avons constaté qu'au mieux, lors d'une mesure polarimétrique de routine (calibration, mesure de l'air...) le bruit thermique remplit à peu près 51.2% de la dynamique de la caméra, tandis que des variations d'intensité du laser ne représentent qu'environ 1.1% de sa capacité dynamique restante.

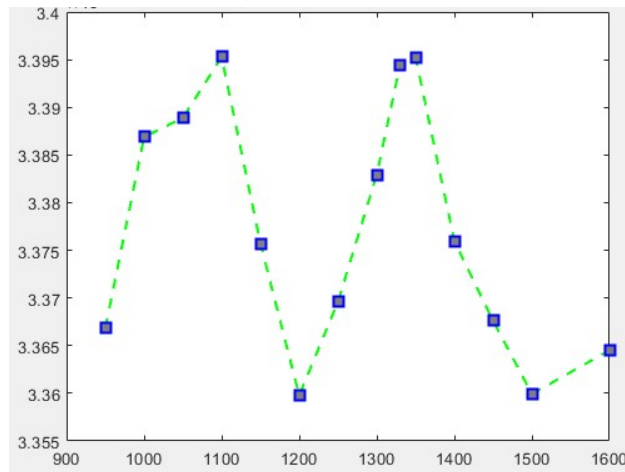


Figure III.19. Variation spectrale de l'intensité mesurée par le microscope. L'axe des abscisses correspond au nombre d'ondes en  $\text{cm}^{-1}$ .

### Deuxième étape : Etalonnage

L'objectif de la deuxième étape du processus d'étalonnage est la détermination des deux matrices **W** et **A**. Le prétraitement numérique de filtrage permet une nette amélioration des résultats de la calibration. Celle-ci peut être constatée visuellement et qualitativement sur les figures III.20.a et III.20.b où la matrice d'étalonnage **W** est présentée non filtrée et filtrée respectivement ; il en va de même pour la matrice **A**, présentée sur les figures III.21.a et III.21.b. On observe clairement que, grâce au traitement numérique, les matrices d'étalonnage deviennent plus homogènes et moins bruitées.



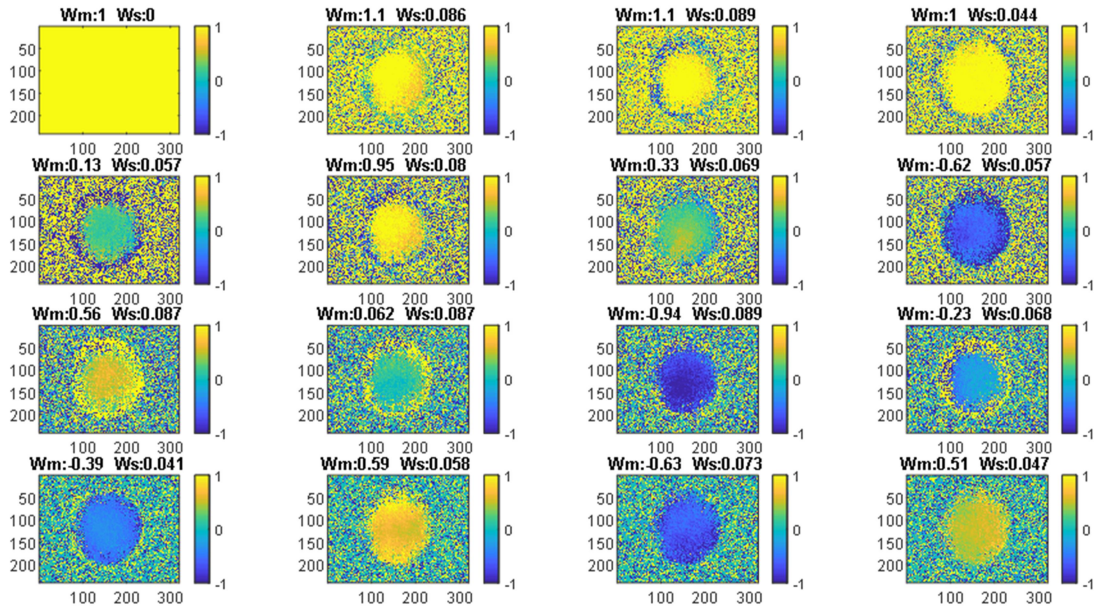


Figure III.20.a : Matrice d'étalonnage  $W$  non filtrée. Les axes sur les images correspondent aux coordonnées des pixels.

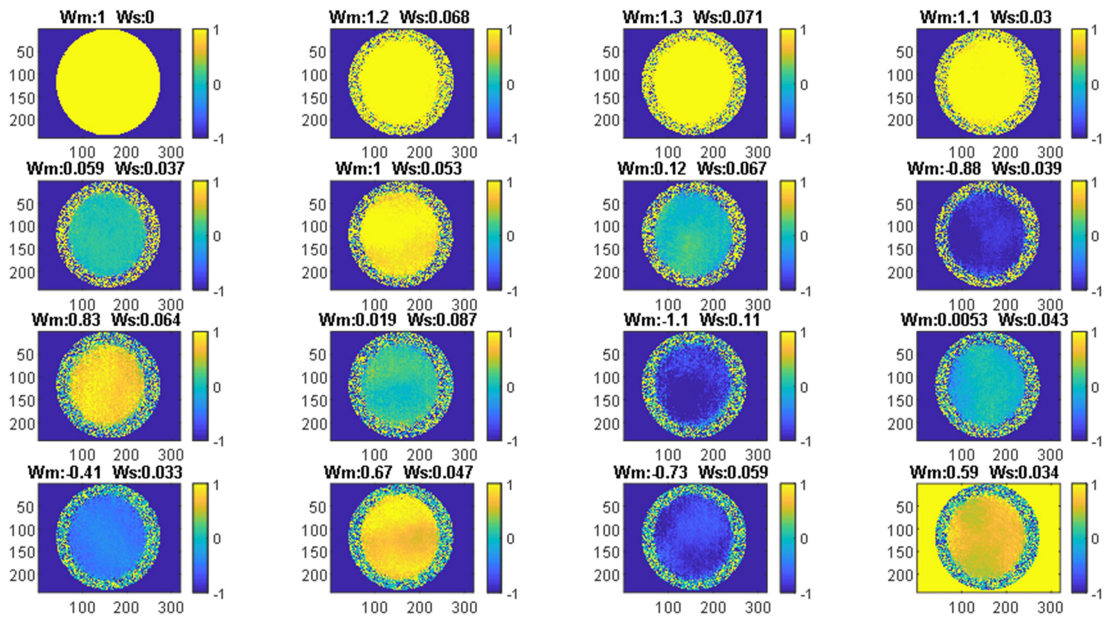


Figure III.20.b : Matrice d'étalonnage  $W$  filtrée. Les axes sur les images correspondent aux coordonnées des pixels.

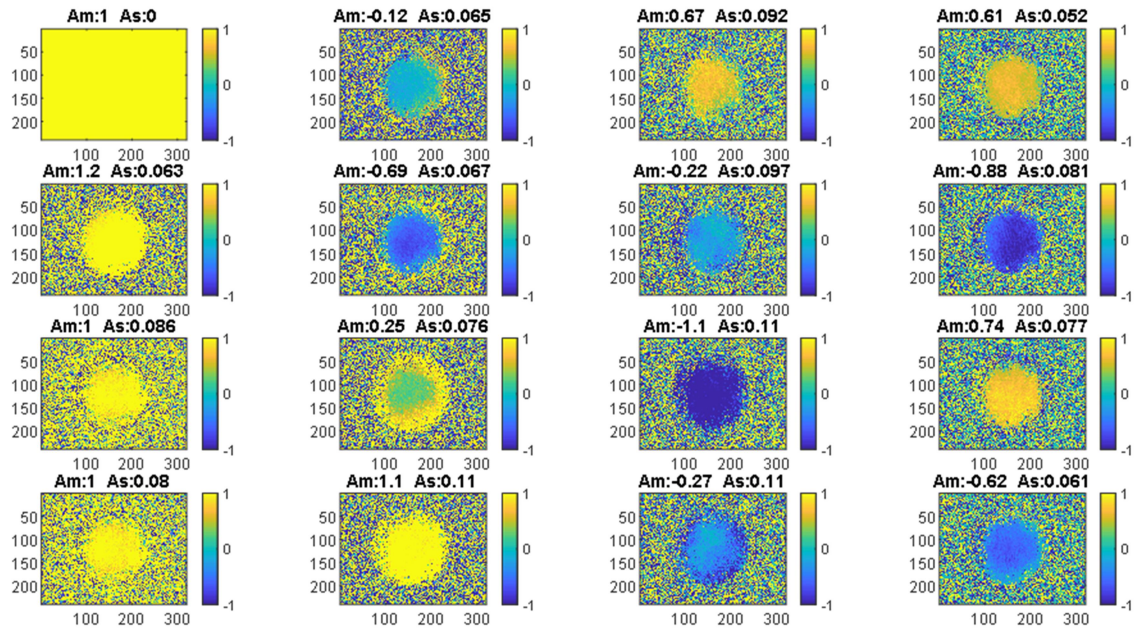


Figure III.21.a : Matrice d'étalonnage **A** non filtrée. Les axes sur les images correspondent aux coordonnées des pixels.

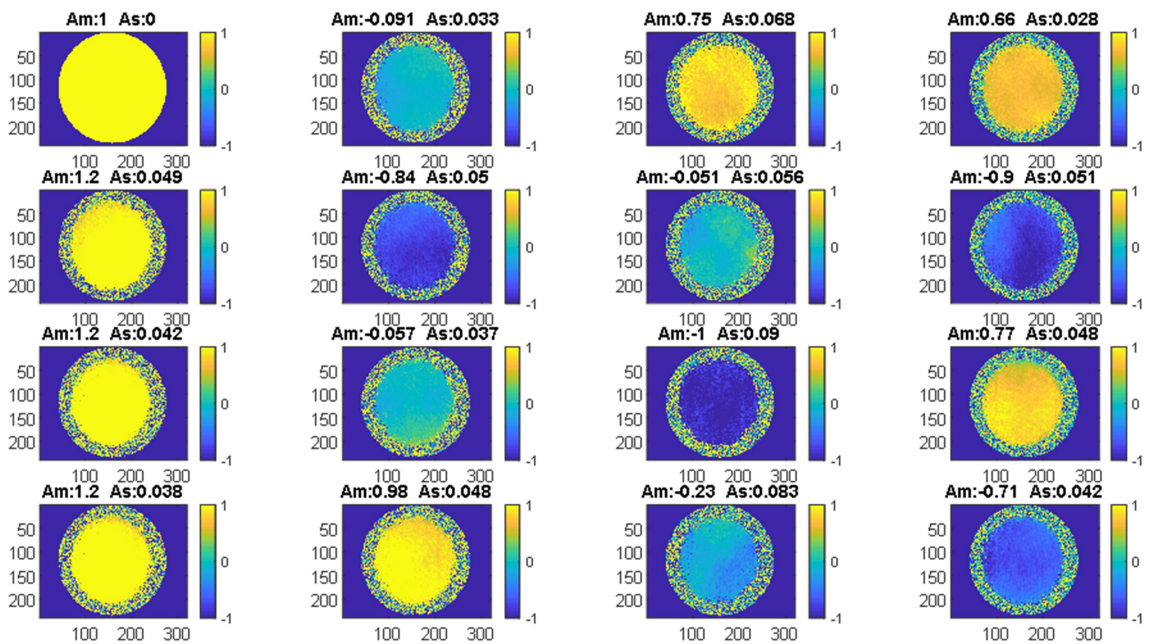


Figure III.21.b : Matrice d'étalonnage **A** filtrée. Les axes sur les images correspondent aux coordonnées des pixels.

Les deux figures III.22.a et III.22.b montrent le conditionnement des matrices **W** et **A** filtrées et non filtrées respectivement. On observe une amélioration considérable grâce au traitement des images (le filtrage) surtout en ce qui concerne les zones près des bords. L'amélioration s'explique parce que sur les pixels situés en périphérie loin du centre, la correction de bruit fixe effectué par l'électronique de la caméra est moins efficace que sur le centre de l'image. Le prétraitement de filtrage vient remédier à ce problème en éliminant efficacement l'influence de cette erreur systématique. Quantitativement, la valeur moyenne du conditionnement a quasiment doublé et devenue plus



homogène grâce au prétraitement : la valeur du conditionnement moyen de la matrice  $\mathbf{W}$  est passée de 0.24 avec un écart type de 0.13 à 0.42 avec un écart type de 0.05, alors que celle correspondant à la matrice  $\mathbf{A}$ , a doublé, sans prétraitement elle était égale à 0.27 avec un écart type de 0.14, et avec prétraitement elle est devenue 0.45 avec un écart type de seulement 0.04.

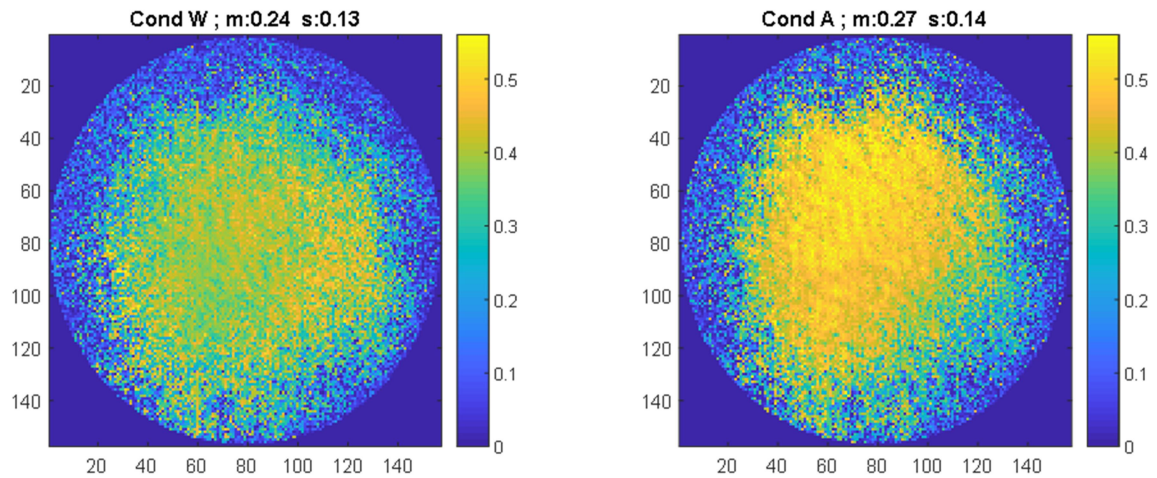


Figure III.22.a : Les conditionnements des matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  non-filtrées. Les axes sur les images correspondent aux coordonnées des pixels.

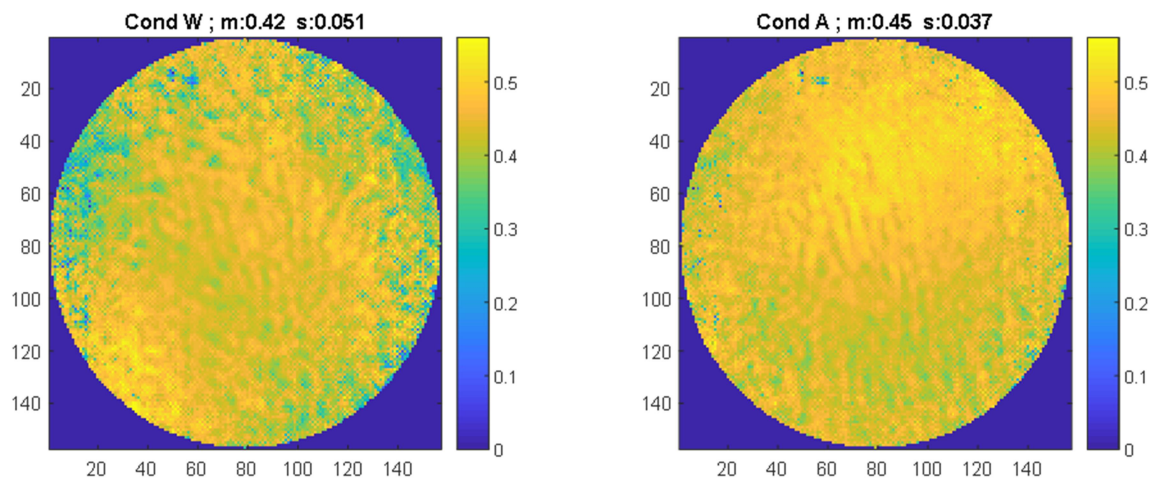


Figure III.22.b : Les conditionnements des matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$  filtrées. Les axes sur les images correspondent aux coordonnées des pixels.

### Etape de prétraitement des données : Filtrage du bruit

Le filtrage du bruit dans des images, ou plus généralement dans des données expérimentales, est une vaste aire de recherche et de développement d'applications. Puisque une étude systématique et rigoureuse qui permettrait d'identifier et d'implémenter une stratégie de traitement d'images optimale du point de vue formel dépasse largement le cadre de cette étude, une solution simple mais pratique a été appliquée. Après avoir essayé quelques alternatives, la méthode choisie est une combinaison d'un filtre interpolateur et d'un filtre linéaire par convolution d'un noyau (kernel). Les

trois sources de bruit ou d'erreurs qui peuvent affecter la qualité des images sont : i) la présence de pixels « chauds » ou inopérants dans le détecteur. ii) la présence d'un type de bruit appelé bruit à motif fixe (*fixed pattern noise*, FPN), et iii) le bruit aléatoire omniprésent dans toute image électronique. Le filtre par interpolation permet d'éliminer la présence de pixels chauds et dans une moindre mesure le FPN, tandis que le filtre par convolution atténue le FPN et le bruit aléatoire.

Pour appliquer le filtre interpolateur il faut tout d'abord identifier les pixels aberrants présents sur une image. La solution appliquée ici consiste à comparer pour une image donnée, la différence entre la valeur de chacun des pixels de cette image et la valeur médiane évaluée sur l'ensemble des pixels de l'image éclairés par le faisceau de lumière. Cette différence est ensuite rapportée à la valeur de l'écart type évaluée sur le même ensemble de pixels activement éclairés, et utilisé ici en guise de normalisation. La médiane a été préférée à la moyenne car la médiane d'une distribution statistique de points est en général moins sensible à la présence de valeurs aberrantes dans la distribution que la moyenne. Cette méthode d'identification, assez simple, s'est avérée très robuste car en général, des pixels aberrants « chauds » ou bien ceux dont le FPN n'a pas été bien corrigée par l'électronique embarquée de la caméra, affichent des valeurs très différents du reste. Ainsi, tous les pixels dont la valeur diffère significativement de la moyenne sont considérés comme aberrants et labélisés comme tels à l'aide d'un masque numérique. Le filtre interpolateur est un algorithme nommé « Inpaint nans » [10] qui considère des pixels invalides dans les images comme des trous (*nan, not a number*) et qu'il s'attache à remplir en utilisant pour cela la valeur des pixels valides environnants. L'application de cette stratégie fonctionne très bien pour des images qui ne contiennent pas de motifs, des objets ou d'autre structure spatiale, car ceci est une condition nécessaire pour une évaluation appropriée de la médiane et de l'écart type utilisés pour créer le masque qui labélise des pixels comme valides ou aberrants. A cause de cette contrainte, l'interpolation de pixels n'a pu être appliquée que pour traiter des images utilisées pour calibrer le polarimètre car celles-ci correspondaient à des éléments optiques de référence très homogènes, sans motifs ou d'autre structure particulière. Cette méthode de filtrage n'a pas pu être utilisée en revanche pour traiter des images contenant des objets ou des motifs très contrastés. Une étude approfondie devrait être menée afin de trouver une méthode plus élaborée que l'actuelle permettant par exemple de segmenter des images contenant des objets en plusieurs groupes et pour chacun d'eux, créer un masque permettant de catégoriser des pixels comme étant valides ou invalides.

Indépendamment du fait que les images aient été traitées avec le filtre interpolateur, un filtrage linéaire par convolution d'un noyau a été appliqué systématiquement à toutes les images. Cette méthode de filtrage consiste à évaluer le produit de convolution entre l'image à traiter et une petite matrice appelée noyau. La taille et la forme spécifique de la matrice noyau détermine le résultat final obtenu. Ainsi, il y a des noyaux «classiques» avec différentes fonctions, comme par exemple appliquer un lissage homogène ou gaussien, la mise en exergue de contours d'objets éventuellement présents sur des images, ou bien le calcul de gradients. Le noyau le plus simple pour effectuer un lissage homogène est une matrice contenant des uns. Si l'image à traiter contient des motifs ou une structure avec des frontières abruptes, l'application de ce filtre simple aura pour effet de réduire l'acuité de l'image en la rendant « floue ». La taille du noyau choisi joue un rôle essentiel dans la performance ou acceptabilité des résultats obtenus car deux effets en quelque sorte antagonistes en termes de la qualité des images, la diminution du bruit, et la réduction d'acuité, sont proportionnelles à cette taille. Nous avons modifié la forme du noyau classique afin d'améliorer les capacités de filtrage du bruit tout en préservant l'acuité des images. Après quelques essais, la forme prototype du noyau qui donnait les meilleurs résultats est celle illustrée dans la figure III.23. La forme de ce noyau est simple, tous ses éléments sont égaux à 1 sauf l'élément situé au centre, dont la

valeur est égale à la somme de l'ensemble des autres éléments. Le choix de la taille de ce nouveau type de noyau est aussi un compromis entre l'acuité des profils montrés sur les images et sa capacité à réduire le bruit. Des grands noyaux vont produire des images flues tandis que de petits noyaux vont préserver l'acuité des images. Dans le cadre de ce travail, différents tailles du nouveau noyau ont été utilisées, contenant 9, 25 ou 49 pixels respectivement. Le noyau carré de taille 7 (49 px) a été utilisé systématiquement sur des images utilisées pour la calibration car l'absence de motifs dans celles-ci permet de maximiser les performances de filtrage. En fait plus la dimension d'un noyau est grande plus le bruit va pouvoir être filtré. Ainsi dans nos études les autres images des échantillons non-homogènes ont été traités avec ces noyaux de taille de 5 (25 px) ou 3 (9 px) ont été utilisés en fonction des résultats obtenus.

$$\frac{1}{25} \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 12 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} \quad \frac{1}{49} \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 24 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

Figure III.23 : Noyaux de convolution de dimension 5 et 7 respectivement.

La figure III.24 présente un exemple non-formel illustrant l'efficacité de notre noyau dans la réduction du bruit d'une image simulée. Une image de référence montrant un patron régulier sans bruit est montrée en haut à gauche de la figure. La même image à laquelle un certain niveau de bruit homogène (blanc) a été ajouté est montrée en haut à droite de la figure. L'image filtrée avec un noyau de taille 5 est montrée en bas à droite de la figure. La différence entre l'image filtrée et l'image de référence est montrée en bas à gauche. La différence moyenne entre l'image bruitée et l'image de référence est d'environ 0.057 tandis que la différence moyenne entre l'image filtrée et l'image de référence est de 0.038. Le filtre a réduit de 40% le bruit présent sur l'image. L'absence de patron régulier sur l'image des résidus montre que ce noyau réduit très peu l'acuité de l'image.

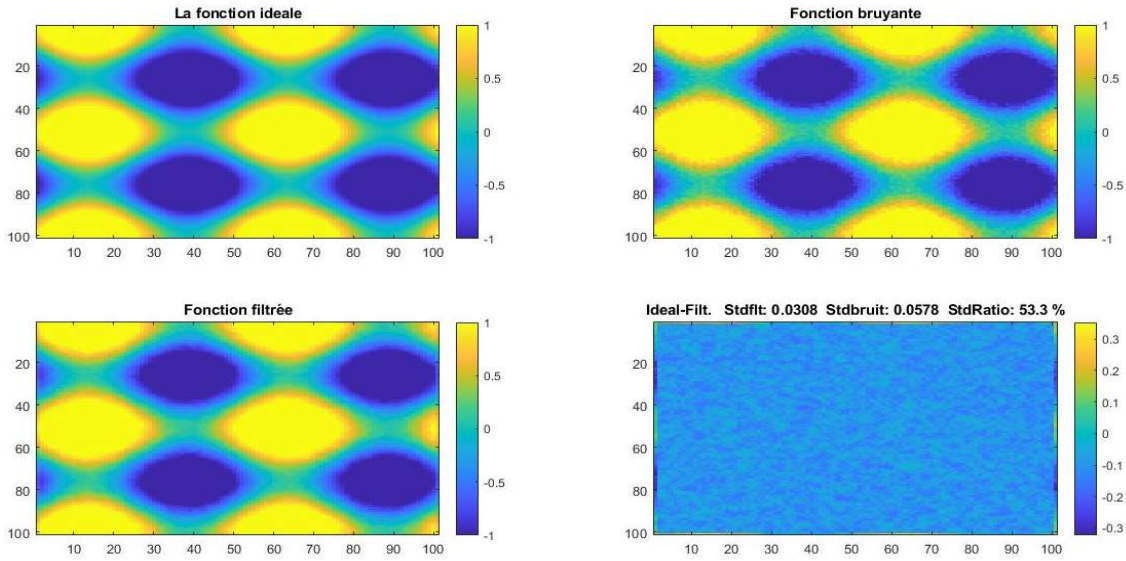


Figure III.24 : Illustration de l'action du filtre par convolution d'un noyau sur une image synthétique bruitée.

### III.4.3. Mesures d'Eléments Optiques de Référence dans les Domaines Visible et Infrarouge

#### *Domaine spectral visible*

La précision et l'exactitude des matrices de Mueller mesurées avec le microscope polarimétrique, a été testée en utilisant des échantillons de référence dont la réponse est connue. Les échantillons sont l'air (mesure à vide), un polariseur orienté à 0° et à 90° et un déphaseur dont le retard est de 115° orienté à un angle de -32° par rapport au repère de référence. Le tableau 1 montre les matrices de Mueller théoriques idéales d'échantillons en l'absence de bruit et de tout autre biais. La matrice de Mueller de l'air est la matrice d'identité avec les éléments diagonaux égaux à un et les éléments hors diagonaux égaux à zéro. Les matrices de Mueller du polariseur et du déphaseur sont déduites à partir des équations (1.23) et (1.17) du premier chapitre.

Air (neutre)	Polariseur linéaire idéale (azimut : 0°)	Polariseur linéaire idéale (azimut : 90°)	Retardateur linéaire idéal (retard : 115°, azimut : -32°)
$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -0.149 & -0.561 & 0.815 \\ 0 & 0.561 & 0.727 & 0.397 \\ 0 & -0.815 & -0.397 & -0.423 \end{bmatrix}$

Tableau 1 : Matrices de Mueller théoriques des échantillons de référence utilisés.

Les figures de III.25 à III.28 montrent les images et les histogrammes correspondant aux matrices de Mueller expérimentales de l'air, du polariseur et du retardateur rapportées sur le tableau 1. Toutes les matrices rapportées dans ces figures ont été mesurées avec le microscope polarimétrique dans le domaine visible avec une longueur d'onde de 530 nm. Afin de réduire le bruit aléatoire, les images incluses dans les matrices d'intensité **B** nécessaires pour calculer des matrices de Mueller sont le résultat de 16 acquisitions successives moyennées.

Les figures III.25.a et III.25.b montrent respectivement les images et les histogrammes correspondants aux éléments de la matrice de Mueller de l'air. La matrice expérimentale est très proche de la matrice identité. Quantitativement, les éléments hors diagonaux sont nuls avec un écart type moyen égal à 0.05. En outre, les éléments diagonaux sont égaux à 1 avec un écart type inférieur ou égal à 0.06. A l'instar de la figure III.25, les figures III.26.a et III.26.b montrent respectivement les images et les histogrammes des éléments de la matrice de Mueller du polariseur linéaire orienté à 0° par rapport l'axe vertical du laboratoire. La matrice de Mueller expérimentale est très proche de la matrice expérimentale montrée sur le tableau 1. Quantitativement, les éléments M11, M12, M21 et M22 sont égaux ou proches de l'unité, avec un écart type moyen égale à 0.06. Le reste des éléments sont nuls, avec un écart type moyen de 0.05. De la même manière, les images et les histogrammes montrés dans les figures III.27.a et III.27.b respectivement montrent que la matrice de Mueller présentant un polariseur linéaire orientée à 90° a été bien retrouvée expérimentalement. En ce qui concerne la matrice de Mueller du déphaseur orientée à -32°, les images et les histogrammes rapportés dans les figures III.28.a et III.28.b respectivement montrent également une matrice de Mueller très proche de la théorique.

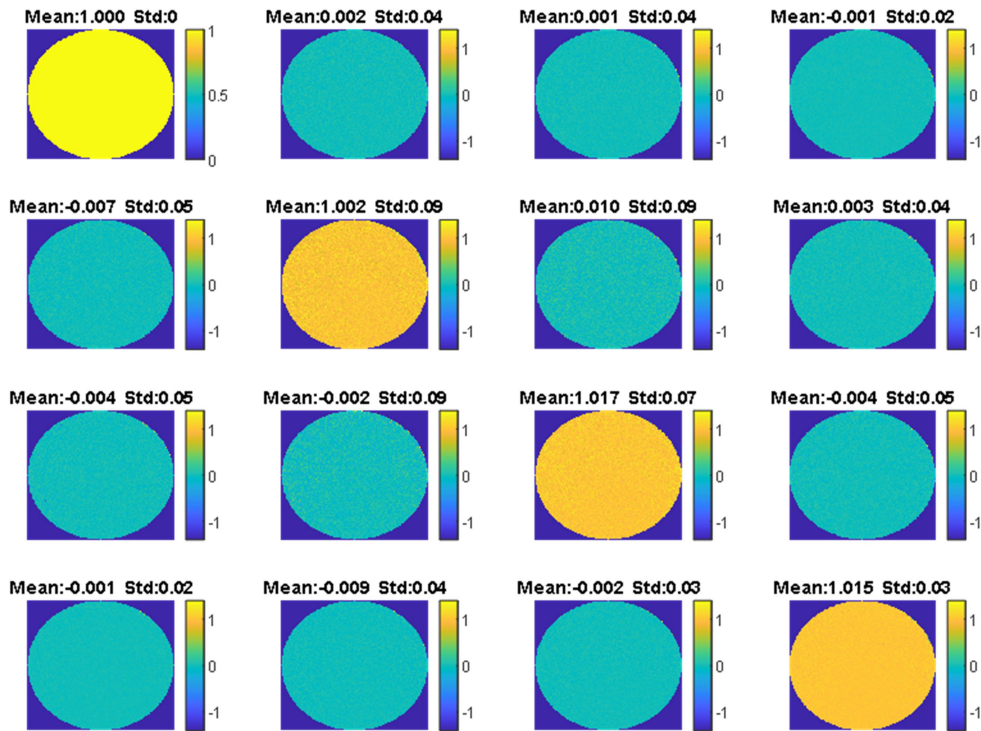


Figure III.25.a. Image des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale de l'air normalisée par rapport à l'élément de matrice M11.

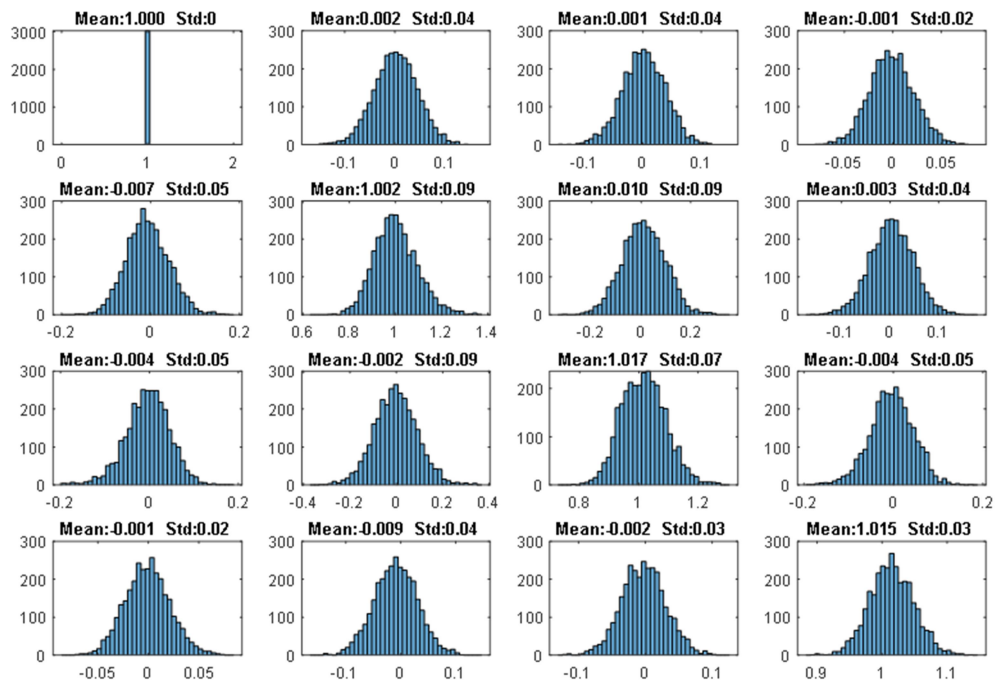


Figure III.25.b. Histogramme des valeurs de l'ensemble de pixels des images correspondant aux éléments de la Matrice de Mueller expérimentale de l'air.



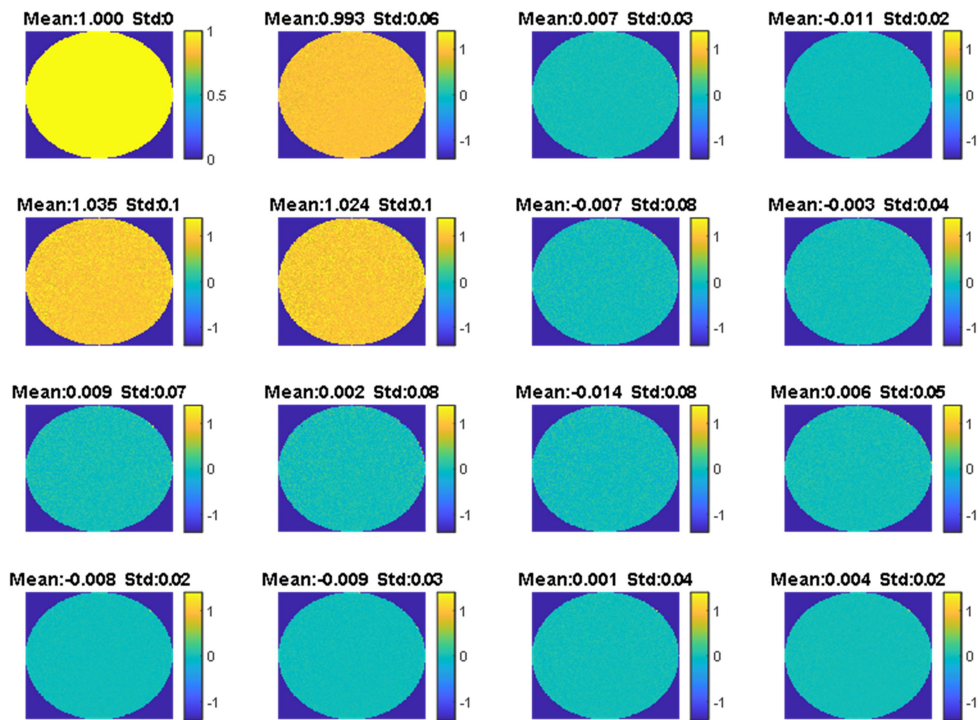


Figure III.26.a. Image des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée par rapport à l'élément de matrice  $M_{11}$  correspondant à un polariseur orienté à  $0^\circ$ .

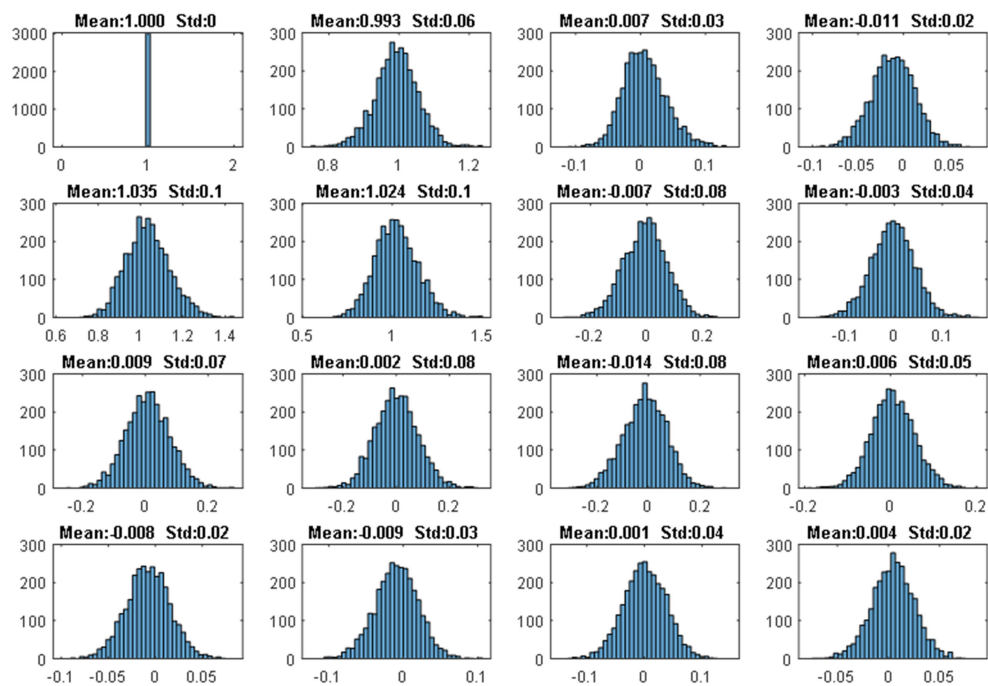


Figure III.26.b. Histogramme des valeurs de l'ensemble de pixels des images correspondant aux éléments de la Matrice de Mueller expérimentale du polariseur orienté à  $0^\circ$ .



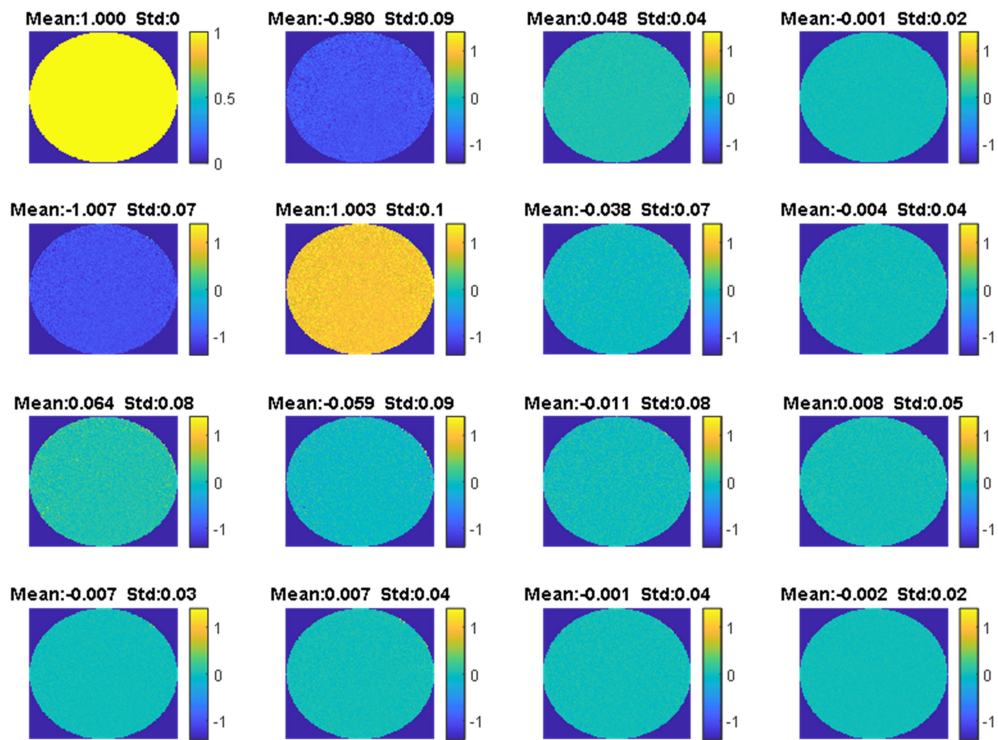


Figure III.27.a. Image des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée par rapport à l'élément de matrice  $M_{11}$  correspondant à un polariseur orienté à  $90^\circ$ .

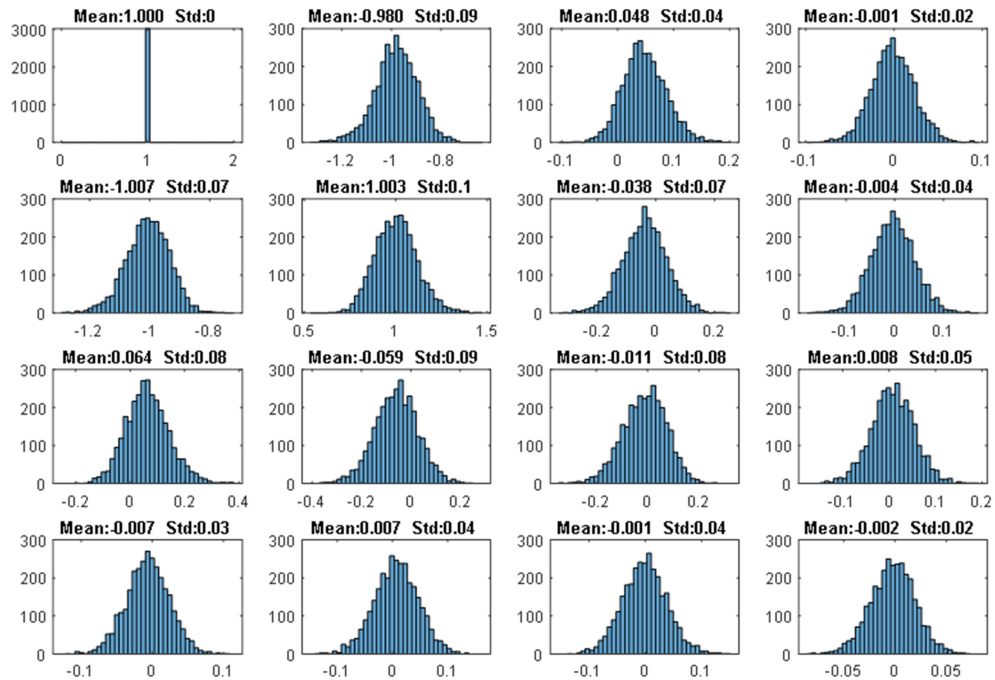


Figure III.27.b. Histogramme des valeurs de l'ensemble de pixels des images correspondant aux éléments de la Matrice de Mueller expérimentale du polariseur orienté à  $90^\circ$ .

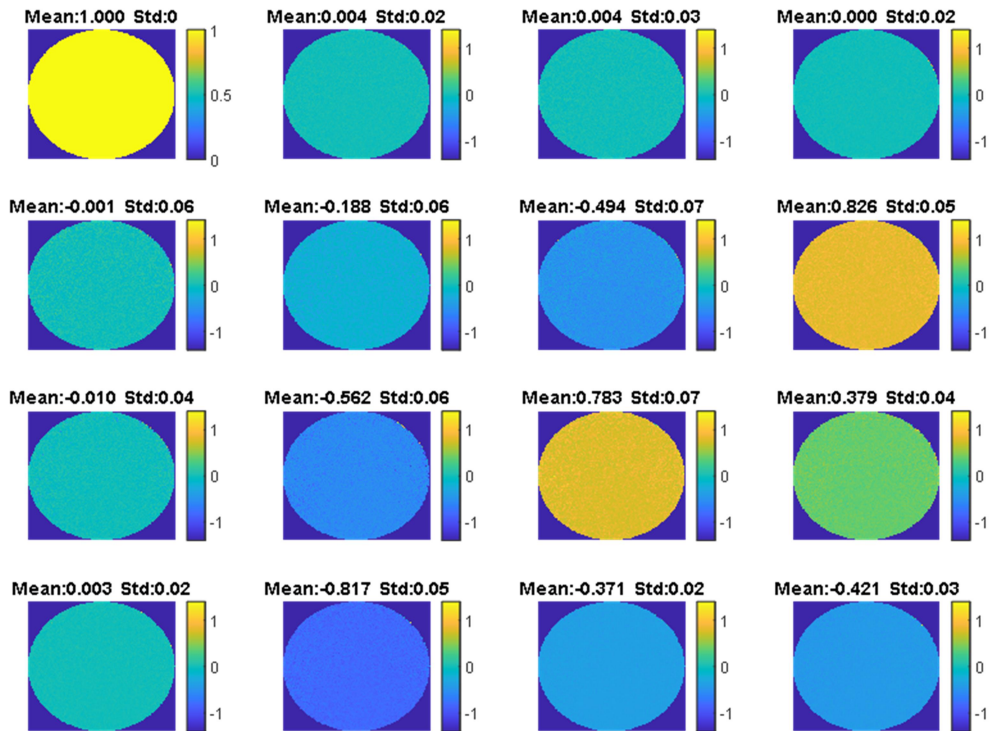


Figure III.28.a. Image des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée par rapport à l'élément de matrice  $M_{11}$  correspondant à un retardateur (retard :  $115^\circ$  ; azimut :  $-32^\circ$ ).

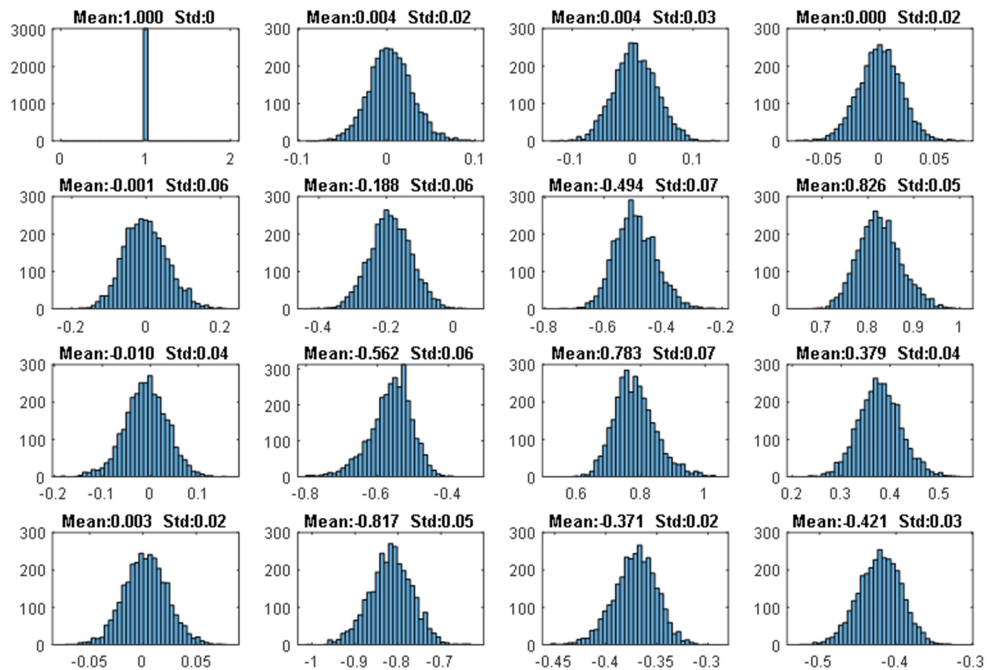


Figure III.28.b. Histogramme des valeurs de l'ensemble de pixels des images correspondant aux éléments de la Matrice de Mueller expérimentale du retardateur (retard :  $115^\circ$  ; azimut :  $-32^\circ$ ).

## Domaine Spectral Infrarouge

La précision et l'exactitude des mesures réalisées avec le microscope polarimétrique dans le domaine infrarouge, a été validée en mesurant des échantillons de référence après calibration de l'instrument. La comparaison des matrices de Mueller expérimentales avec celles attendues théoriquement a été adoptée comme une méthode d'évaluation des performances techniques de l'instrument. Par analogie à ce qui a été discuté pour la validation instrumentale dans le domaine visible, les échantillons choisis comme référence ont été l'air, un polariseur linéaire et un retardateur dont le retard était très proche de 90°.

Comme indiqué précédemment, le rapport signal sur bruit des images acquises par la caméra infrarouge est moins bon que le rapport signal sur bruit des images prises par la caméra visible. Ainsi, il a été nécessaire d'effectuer un prétraitement des matrices **B** d'intensité dans le domaine infrarouge pour réduire le bruit aléatoire et le bruit systématique avant de pouvoir les utiliser pour effectuer une calibration ou pour les convertir en matrices de Mueller. Les détails du protocole de filtrage seront discutés dans la section suivante. En règle générale, l'application du prétraitement des matrices **B** permet de réduire d'un facteur proche de 2 le bruit présent sur les matrices de Mueller. Lorsque le prétraitement des images est appliqué systématiquement, et en dépit d'un niveau de bruit plus important dans les mesures brutes dans le domaine infrarouge, il est possible de porter la précision et la exactitude des matrices de Mueller mesurées dans ce domaine spectral à un niveau comparable à celui atteint pour des matrices de Mueller mesurées dans le domaine visible.

Les figures III.29 à III.32 montrent les images et les histogrammes correspondant aux matrices de Mueller expérimentales de l'air d'un polariseur linéaire et d'un retardateur dont le retard est proche de 90°. La matrice de Mueller correspondant à l'air est présentée ici deux fois, d'abord sans et ensuite avec l'étape de prétraitement des matrices d'intensité **B**. Ce choix a été fait afin d'illustrer d'une manière quantitative le gain en justesse qui permet le filtrage des images brutes. Toutes les mesures ont été acquises à une longueur d'onde de 7.5µm (1330 cm<sup>-1</sup>). Toutes les images incluses dans les matrices d'intensité **B** ont été moyennées 16 fois afin de réduire d'au moins un facteur 4 le bruit aléatoire. Egalement, les matrices de Mueller présentées à continuation ont été normalisées par rapport à leur élément de matrice M11 correspondant.

Air (neutre)	Polariseur linéaire idéale (azimut : 0°)	Retardateur linéaire idéal (retard : 93.5°, azimut : -31°)
$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.173 & -0.44 & 0.881 \\ 0 & -0.44 & 0.766 & 0.469 \\ 0 & -0.881 & -0.469 & -0.061 \end{bmatrix}$

Tableau 2 : Matrices de Mueller théoriques des échantillons de référence utilisés.

Les figures III.29.a et III.29.b montrent respectivement les images et les histogrammes correspondants aux éléments de la matrice de Mueller de l'air. Pour cet exemple particulier, les matrices **B** brutes n'ont pas été prétraitées avant d'être transformées en matrice de Mueller. La matrice de Mueller expérimentale ainsi obtenue est qualitativement proche de la matrice unité correspondant à l'air car la dispersion des valeurs de ses éléments de matrice de l'ordre de 0.08 (equiv. 8%) est assez élevée et que quelques éléments de matrice s'écartent sensiblement de leurs valeurs moyennes attendues. Ceci est le cas par exemple des éléments de matrice M13, M22, M32,

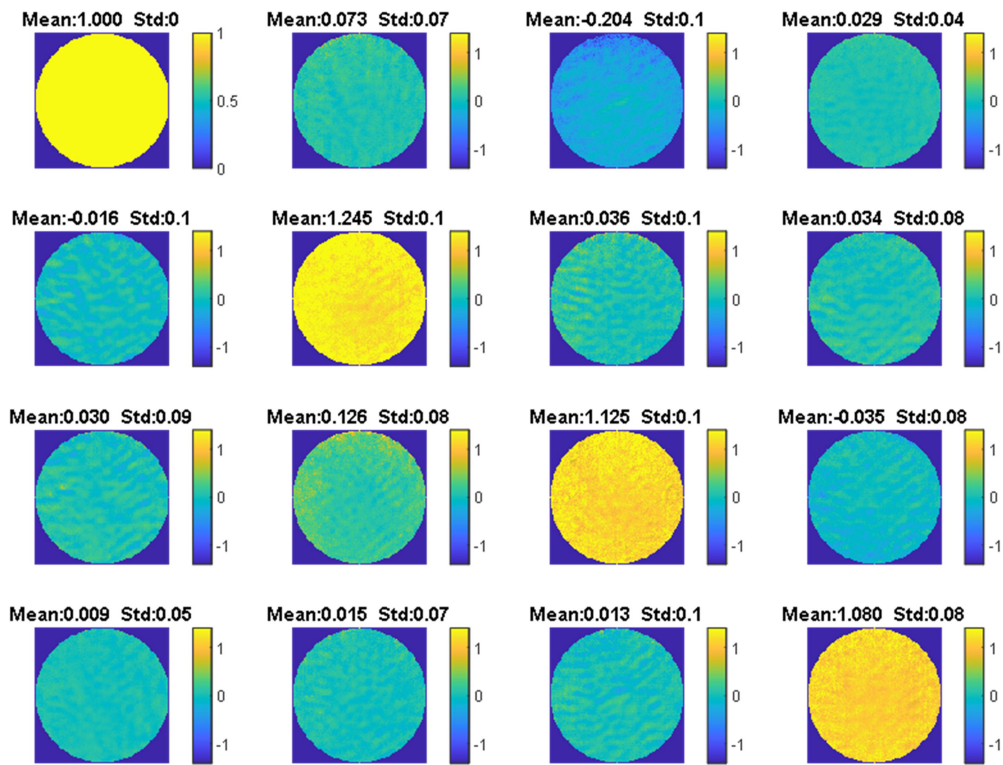


Figure III.29.a. Image des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale de l'air normalisée obtenue à partir de données brutes non-prétraitées.

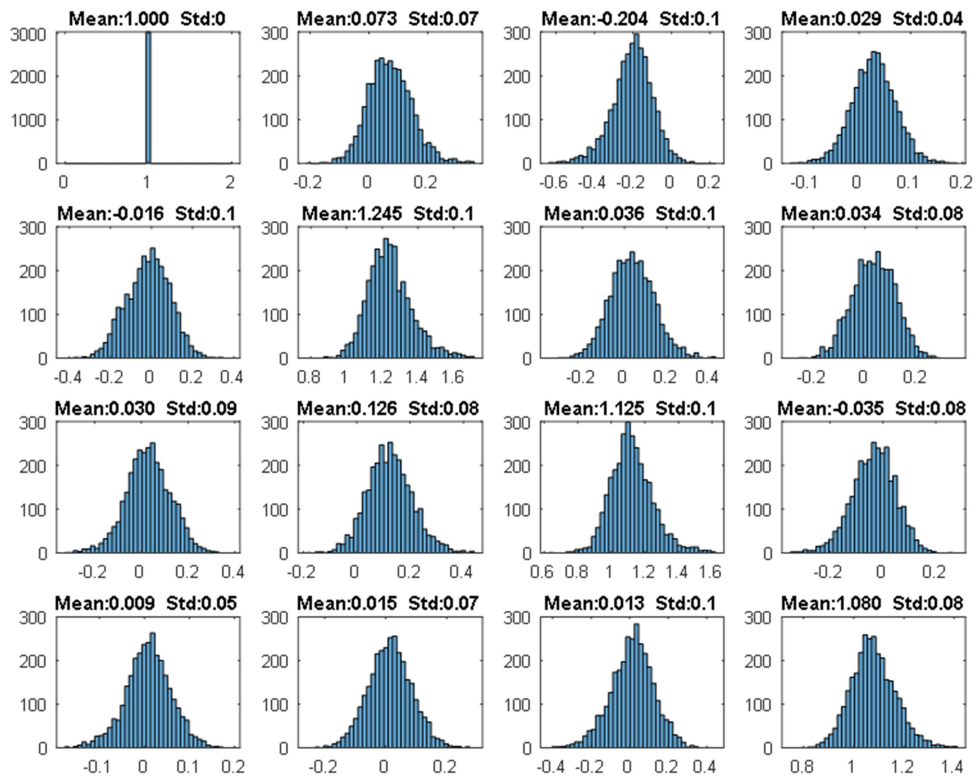


Figure III.29.b. Histogrammes des éléments de la matrice de Mueller expérimentale de l'air normalisée obtenue à partir de données brutes non-prétraitées.

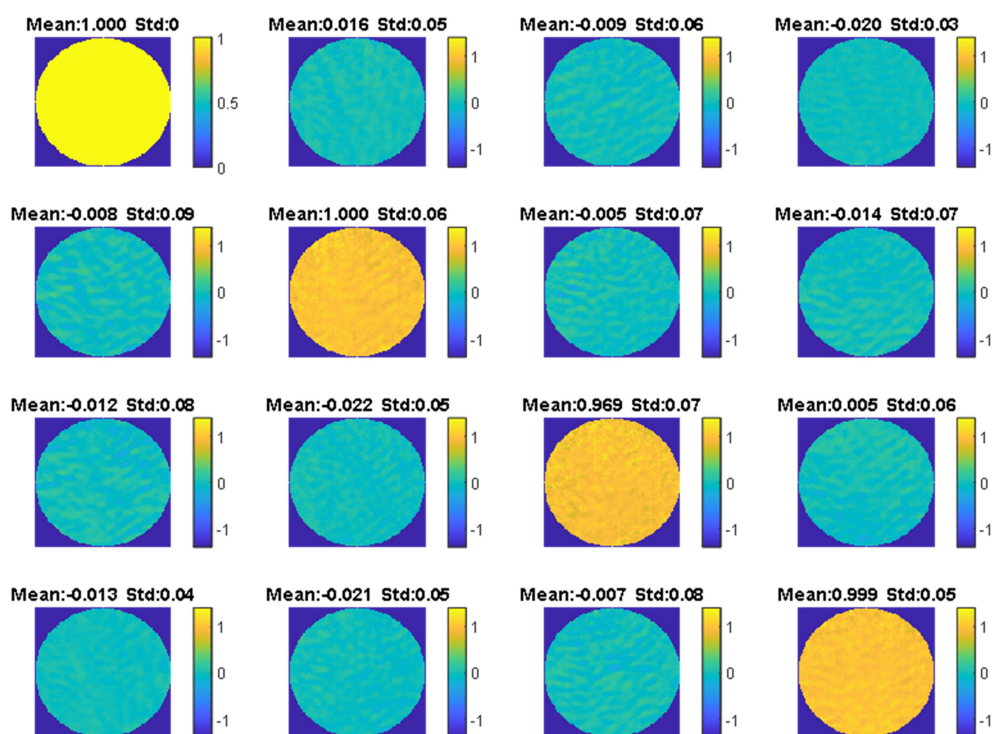


Figure III.30.a. Image des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale de l'air normalisée obtenue à partir de données brutes prétraitées.

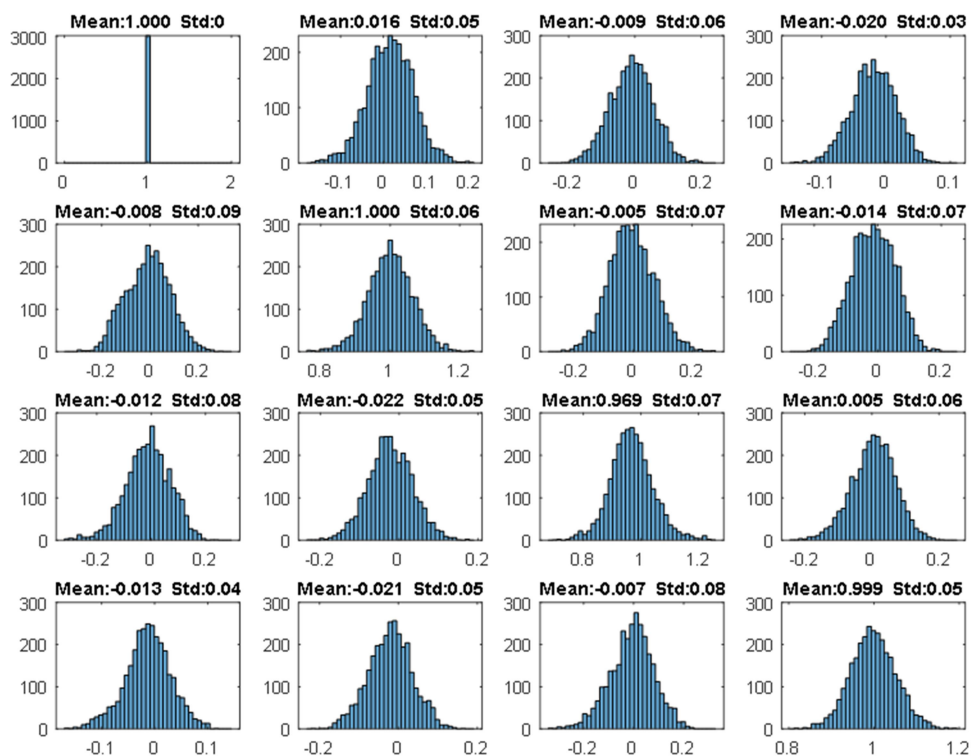


Figure III.30.b. Histogrammes des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale de l'air normalisée obtenue à partir de données brutes prétraitées.



M33 et M44. Globalement ces écarts font que l'exactitude de la mesure moyenne ne soit pas très satisfaisante, de l'ordre de 0.06 (6%).

A titre de comparaison, les figures III.30.a et III.30.b montrent respectivement les images et les histogrammes correspondant à la matrice de Mueller obtenue après avoir prétraitée la même matrice d'intensités **B** utilisée pour obtenir les résultats montrés dans les figures III.29a) et III.29b). Le gain qualitatif qui apporte le prétraitement des données est facilement perceptible même à simple vue. La dispersion moyenne des valeurs des éléments de la matrice de Mueller est de l'ordre de 0.06 (équiv. 6%) tandis que la différence moyenne entre les valeurs moyennes et les valeurs attendues, l'exactitude moyenne, est 0.01 (équiv. 1%). Le prétraitement permet donc un gain très conséquent en exactitude, passant de 6 % pour le cas non-traitée à seulement 1% pour le cas traitée. Le prétraitement permet aussi une amélioration de la précision, de 8% pour le cas non traitée à 6% pour le cas traité. Grâce au prétraitement l'accord entre les matrices expérimentale et théorique est satisfaisant quantitativement et qualitativement.

Afin de compléter la validation des mesures polarimétriques dans l'infrarouge deux exemples supplémentaires sont montrés ci-dessous. Le premier concerne un polariseur linéaire orienté à  $0^\circ$  par rapport à l'axe de référence du polarimètre. Les éléments de la matrice de Mueller idéale de cet élément optique, détaillée dans le tableau 2, et montrés sous forme d'images et d'histogrammes dans les figures III.30 a) et III 30 b) respectivement sont tous nuls à l'exception de M12, M21 et M22, qui sont égaux à 1. Les valeurs des éléments de la matrice de Mueller déterminée expérimentalement après filtrage de la matrice d'intensités **B** correspondante, sont très proches des valeurs théoriques. L'écart moyen de valeurs attendues est d'environ 0.01 (équiv. 1%) tandis que la dispersion moyenne autour de ces valeurs attendues est d'environ 0.04 (équiv. 4%).

Enfin, le dernier exemple concerne un retardateur ayant un retard estimée à  $93^\circ$ , proche d'une quart d'onde, et ayant été orienté pour cette illustration à un angle azimutal de  $-31,9^\circ$  par rapport à un repère de référence. Suivant le format des exemples précédents les figures III.31 a) et III.31 b) montrent les images et les histogrammes respectivement des éléments de la matrice de Mueller expérimentale correspondant au retardateur. La différence moyenne entre la matrice de Mueller expérimentale et la matrice de Mueller idéale attendue, détaillée dans le tableau 2, est de l'ordre de 0.03 (3%) tandis que la dispersion des valeurs autour de la valeur centrale est de l'ordre de 0.04 (équiv. 4%).

Ces deux derniers exemples corroborent le fait que grâce au prétraitement des images formant les éléments des matrices **B**, l'accord quantitatif et qualitatif entre les matrices de Mueller expérimentales et théoriques satisfont les objectifs fixés au moment de la conception du polarimètre, qui visaient une précision et une exactitude autour de 1% pour le domaine visible et le domaine infrarouge.

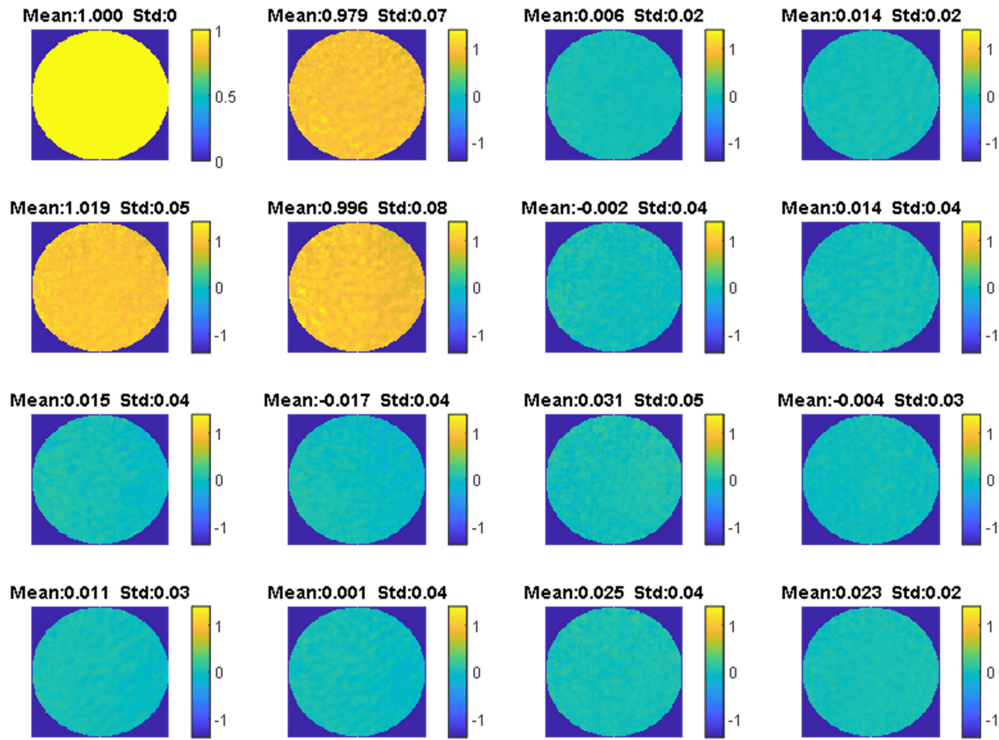


Figure III.31.a. Images des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée obtenue à partir de données brutes prétraitées et correspondant à un polariseur linéaire orienté à  $0^\circ$ .

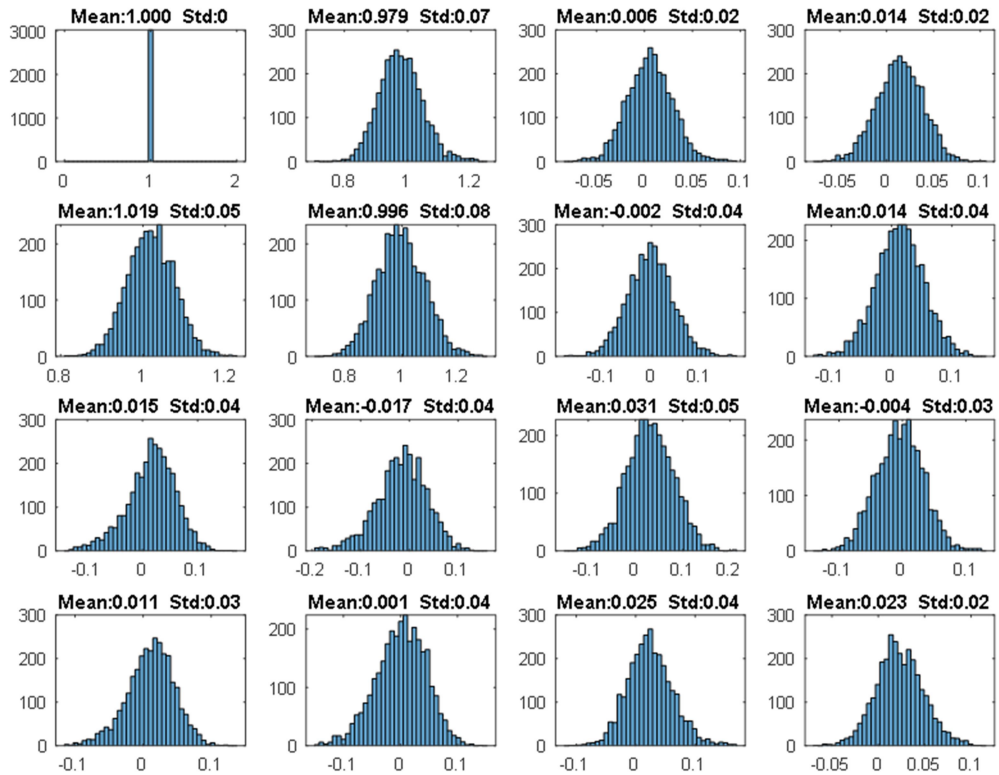


Figure III.31.b. Histogrammes des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée obtenue à partir de données brutes prétraitées et correspondant à un polariseur linéaire orienté à  $0^\circ$ .

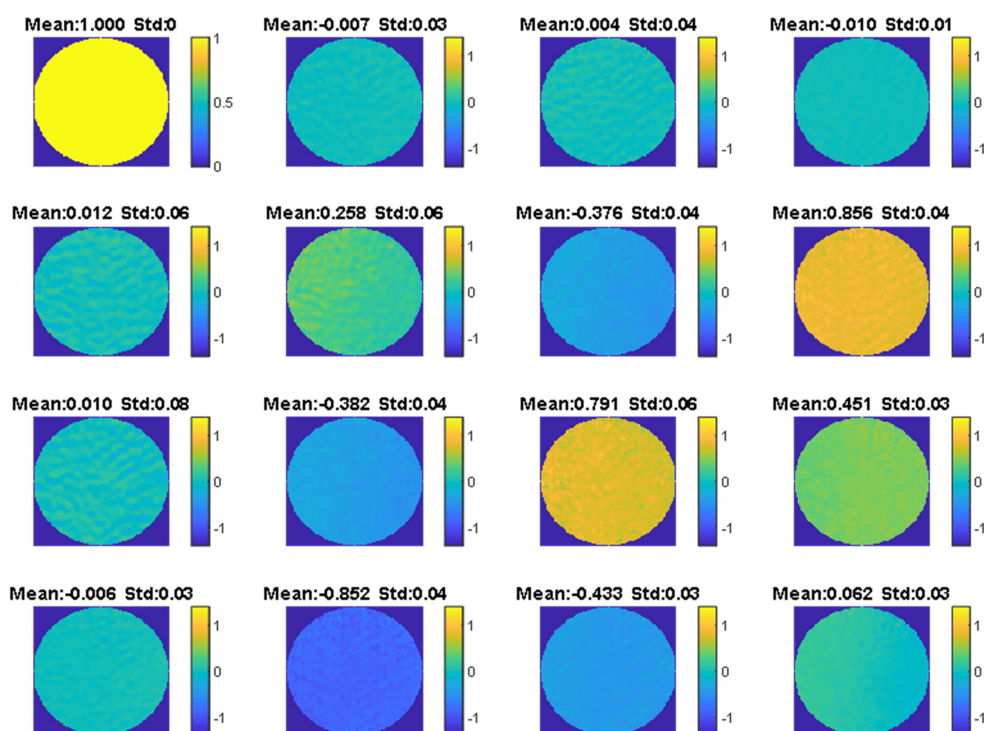


Figure III.32.a. Images des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée obtenue à partir de données brutes prétraitées et correspondant à un retardateur linéaire (retard  $93.5^\circ$  et azimut :  $-31^\circ$ ).

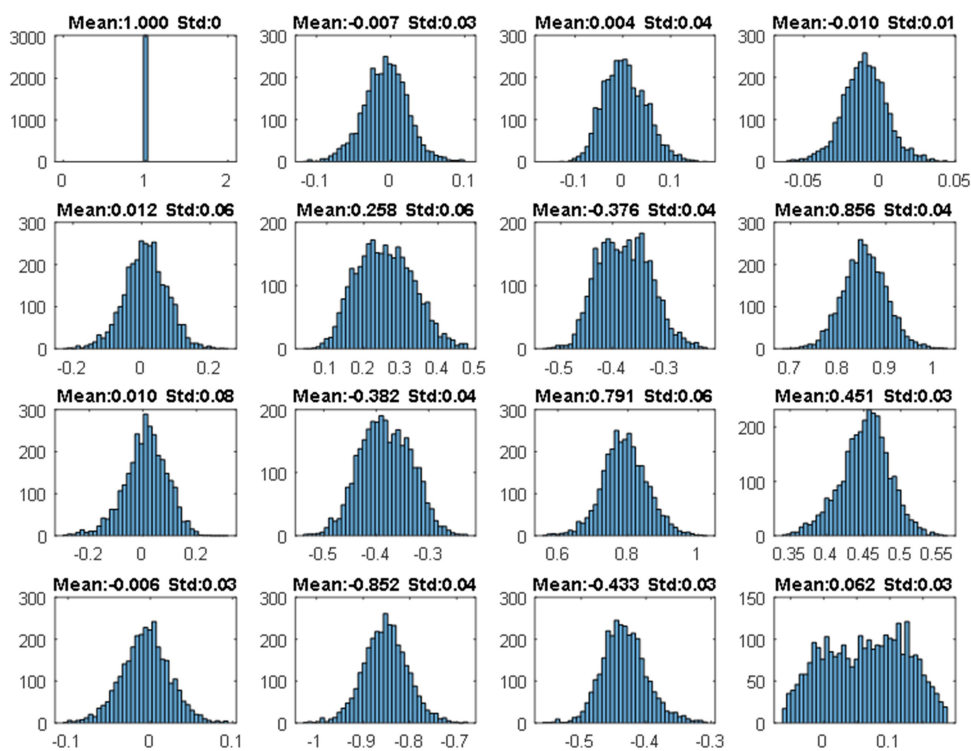


Figure III.32.b. Histogrammes des éléments de la Matrice de Mueller expérimentale normalisée obtenue à partir de données brutes prétraitées et correspondant à un retardateur linéaire (retard  $93.5^\circ$  et azimut :  $-31^\circ$ ).



## III.5. Répétabilité, Stabilité et Précision

Deux études de stabilité ont été réalisées pour étudier la précision des mesures et, particulier, pour déceler la présence d'erreurs non systématiques comme, par exemple, des dérives lentes au cours du temps. En premier lieu, on s'est intéressé à la mesure de la stabilité dans le temps des matrices de Mueller sans intervention de la part de l'utilisateur. J'ai pris l'air comme un échantillon de référence à mesurer. Après avoir complété une procédure d'étalonnage pour déterminer les deux matrices  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{A}$ , plusieurs mesures consécutives de l'air ont été réalisées tout au long d'une journée pour suivre l'évolution des valeurs moyennes des pixels sur chacune des images des 16 éléments de la matrice de Mueller de l'air. On s'attend en théorie à une matrice diagonale dont les éléments sur la diagonale sont toutes égales à 1 (tandis que tous les éléments hors diagonaux sont nuls) ; évidemment, toutes ces valeurs doivent rester constantes pour toutes les mesures consécutives si l'instrument est stable. La figure III.33 montre la variation de la matrice de Mueller de l'air au cours du temps. On observe une grande stabilité, démontrée par les valeurs des moyennes et des écarts types calculées. L'écart type le plus petit des valeurs d'un élément de matrice au cours du temps correspond à l'élément M41 avec une variation qui représente seulement 0.03 % et l'écart type le plus grand correspond à l'élément M33 avec 0.3 % de variation. La variation moyenne de tous éléments de matrice au cours du temps est un plus élevée et se situe autour de 0.1 % ce qui est un très bon résultat.

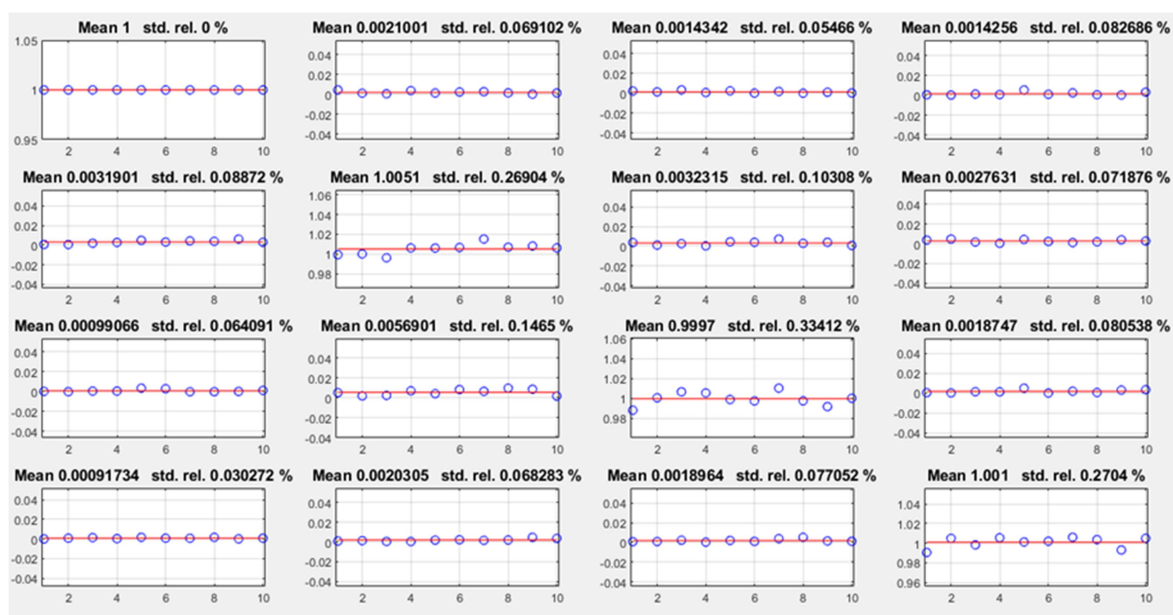


Figure III.33 : Les valeurs des 16 éléments de la matrice de Mueller de l'air mesurée au cours d'une journée pour 10 mesures consécutives sans intervention de l'utilisateur. Les valeurs de moyenne et écart type ont été calculées pour chaque élément de la matrice.

Le microscope polarimétrique sera installé au synchrotron Soleil et mis à disposition à des utilisateurs qui n'auront pas nécessairement de connaissances préalables en polarimétrie. C'est pourquoi je me suis intéressé, dans un deuxième temps, à l'effet que les utilisateurs peuvent avoir sur la mesure. Ainsi, je ne me suis contenté de répéter les mesures en utilisant pour elles un seul et unique étalonnage, mais j'ai décidé d'étalonner l'instrument avant de chaque mesure. De cette manière l'étude s'approche d'une situation d'utilisation réelle d'utilisation de l'instrument par des utilisateurs différents. Tout comme dans la première étude, on s'intéresse à l'évolution des moyennes des 16 coefficients de la matrice de Mueller de l'air. On constate sur la figure III.34 que le

réétalonnage peut engendrer de petites perturbations, observables sur les valeurs des écarts types. On remarque une augmentation de la valeur maximale à 0.5% pour l'élément de matrice M33 au lieu de 0.3% comme dans le cas précédent. En moyenne sur les 16 éléments de matrice, l'écart type se situe autour de 0.16 % ce qui reste cependant très raisonnable.

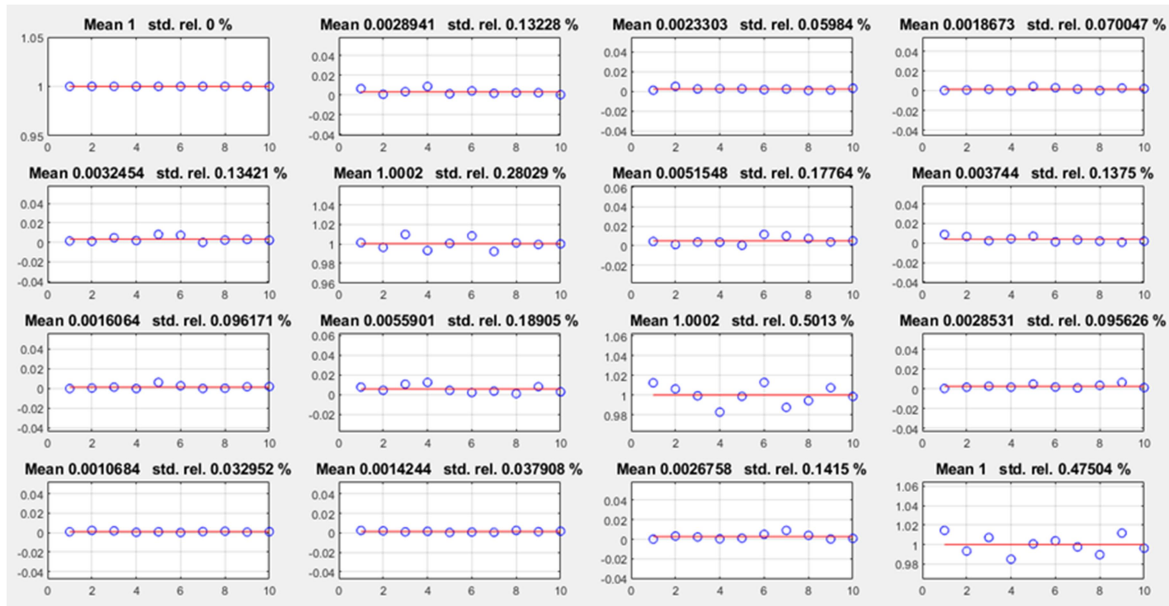


Figure III.34 : Les valeurs des 16 éléments de la matrice de Mueller de l'air mesurée au cours d'une journée pour 10 mesures consécutives avec changement d'utilisateur. Les valeurs de moyenne et écart type ont été calculées pour chaque élément de la matrice.

En troisième lieu, je me suis intéressé à évaluer l'influence du nombre d'acquisitions sur la précision des mesures. Mon objectif a été d'étudier l'effet de moyenne (à partir d'un nombre d'acquisitions donné) sur le bruit. Les questions que j'essaie de répondre sont les suivantes :

1. Est-ce que l'effet de moyenniser plusieurs acquisitions peut améliorer la précision de l'instrument en réduisant le niveau du bruit ?
2. Dans quelle mesure pouvons-nous améliorer le résultat ?
3. Quel est le nombre maximum d'acquisitions que nous pouvons leur faire tout en restant raisonnable en termes de temps de mesure et de précision ?

La figure III.32 montre les résultats de l'étude sur les 16 éléments de la matrice de Mueller de l'air. J'ai répété la mesure de l'air en étalonnant à nouveau et en augmentant le nombre d'acquisitions pour réduire le bruit (donné par l'écart type). On peut observer sur la figure III.35 qu'il y a une réduction du bruit très considérable qui est inversement proportionnelle au nombre d'acquisitions. En particulier en passant de 1 à 16 je réduis le bruit de 3/4 de sa valeur initiale, obtenue avec une seule acquisition. Ceci montre que le bruit dominant est gaussien et que, comme on peut le constater, on peut normalement arriver à de très bons niveaux de réduction à condition, bien entendu, d'être patient. En se basant sur ces résultats, nous avons choisi de travailler avec un nombre d'acquisitions compris entre 16 et 32. En effet, on voit clairement qu'aller au-delà n'est pas justifié.

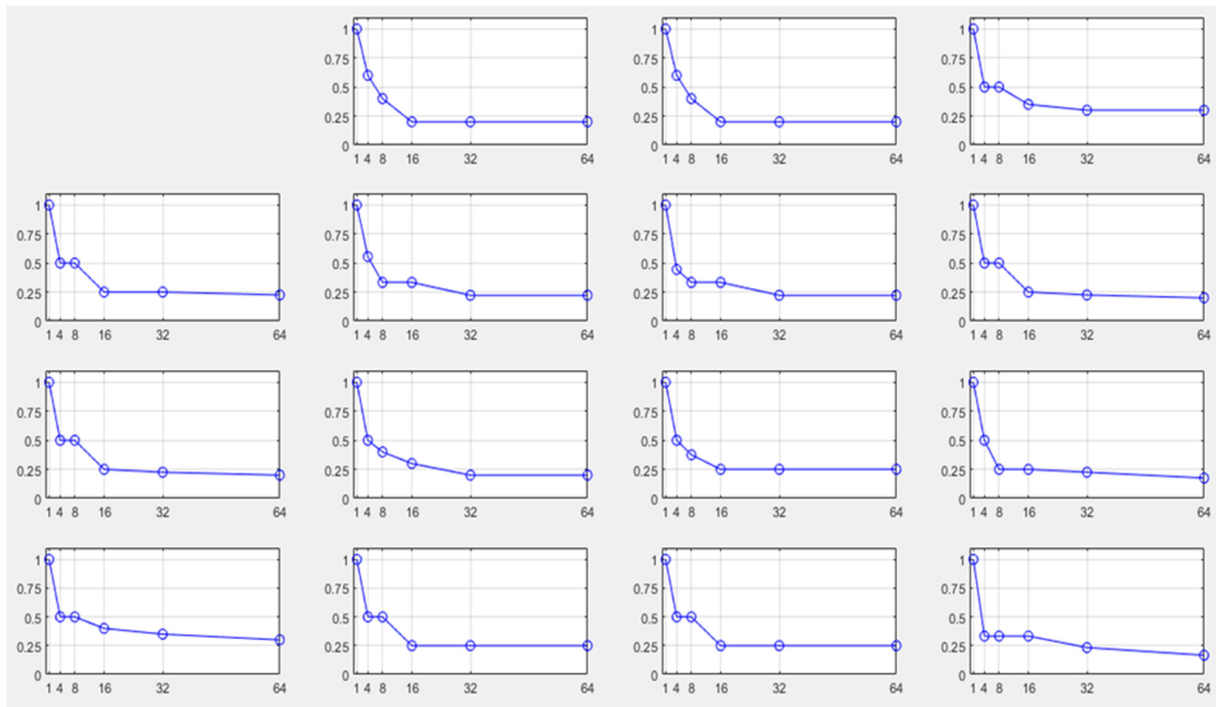


Figure III.35 : Ecarts types des 16 éléments de la matrice de Mueller de l'air en fonction du nombre d'intégrations.

Les résultats présentés dans cette sous-section, bien que peut-être non exhaustifs du point de vue instrumental ou métrologique, suffisent néanmoins à donner un aperçu de la qualité des mesures du microscope polarimétrique, de son répétabilité et son stabilité au cours du temps. Ces résultats permanent aussi connaître d'une manière générale l'impact de quelques paramètres liés au pilotage de l'instrument comme par exemple le nombre d'images moyennées peut avoir une influence sur la précision, et éventuellement l'exactitude des mesures obtenues avec lui.

Enfin, l'ensemble des éléments apportés dans ce chapitre me semble pouvoir conclure à la validation par l'expérimentale du fonctionnement du microscope polarimétrique et de pouvoir affirmer que celui-ci correspond au cahier de charges et techniques fixées au départ du projet.

## Bibliographie

- [1] E. Compain, Stéphane Poirier, and Bernard Drevillon, "General and self-consistent method for the calibration of polarization modulators, polarimeters, and Mueller-matrix ellipsometers," *Appl. Opt.* (1999) 38, 3490-3502.
- [2] A. De Martino, E. Garcia-Caurel, B. Laude, and B. Drévilion, "General methods for optimized design and calibration of Mueller 434 polarimeters," *Thin Solid Films* 455-456, 112-119 (2004).
- [3] C. Macías-Romero and P. Török, "Eigenvalue calibration methods for polarimetry," *J. Eur. Opt. Soc. Rapid Publ.* 7, 12004 (2012).
- [4] O. Rodríguez-Nuñez, J. M. López-Téllez, O. G. Rodríguez-Herrera, and N. C. Bruce, "Calibration and data extraction in nonoptimized Mueller matrix polarimeters," *Appl. Opt.* 56, 4398-4405 (2017).

- [5] P. S. Hauge, "Recent developments in instrumentation in ellipsometry," *Surf. Sci.* 96, 108–140 (1980).
- [6] E. Garcia-Caurel, R. Ossikovski, M. Foldyna, A. Pierangelo, A. De Martino, and B. Drévilion, "Advanced Mueller ellipsometry instrumentation and data analysis," in *Ellipsometry at the Nanoscale*, M. 448 Losurdo and K. Hingerl, eds. (Springer, 2013), pp. 31–143.
- [7] R. Ossikovski and O. Arteaga, "Completing an experimental nondepolarizing Mueller matrix whose column or row is missing," *J. Vac. Sci. Technol. B* 37, 052905 (2019).
- [8] Thorlabs, "Economy film polarizers with windows," [https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup\\_id=4984](https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=4984).
- [9] H. Hu, E. Garcia-Caurel, G. Anna, and F. Goudail, "Simplified calibration procedure for Mueller polarimeter in transmission configuration," *Opt. Lett.* 39, 418–421 (2014).
- [10] J. D'Errico, MATLAB Central File Exchange (2004) . [https://fr.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/4551-inpaint\\_nans](https://fr.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/4551-inpaint_nans)

# Chapitre IV. Caractérisation de Feuilles de Vigne, *Vitis vinifera*, par Microscopie Polarimétrique Visible et Infrarouge

## Introduction

Ce quatrième chapitre est consacré à l'utilisation de de la microscopie polarimétrique de Mueller pour la caractérisation des propriétés optiques et structurales de tissus végétaux notamment des feuilles de vigne, *Vitis vinifera*.

Un microscope de Mueller donne accès à la matrice de Mueller, et à une série d'observables directement liées aux propriétés polarimétriques fondamentales (biréfringence et dichroïsme) ainsi qu'à la dépolarisation liée aux échantillons étudiés.

Etant donné que les propriétés de biréfringence et de dichroïsme sont liées aux propriétés structurales des échantillons, comme par exemple leur composition chimique des tissus, la présence de polymères cristallins ordonnées ou de biominéraux, ces propriétés peuvent être utilisées comme des marqueurs non-chimiques pour mettre en évidence la présence de telle ou telle caractéristique du tissu. [1-4]. Ces propriétés polarimétriques peuvent aussi être utilisées comme des outils pour augmenter le contraste (donc la facilité d'accès à l'information qui peut être obtenue) des images obtenues par cette technique.

Dans ce cadre, l'objectif de ce chapitre a été celui de fournir quelques exemples concrets d'application pour illustrer l'utilisation de la microscopie polarimétrique visible et infrarouge pour la caractérisation de tissus végétaux. Pour cela j'ai choisi de travailler avec des tissus dont les propriétés sont documentées dans la littérature spécialisée en botanique afin de faciliter l'interprétation des images polarimétriques et leur relation avec les propriétés structurales de ces tissus. J'ai travaillé avec des feuilles de vigne, *Vitis vinifera*, que j'ai mesuré en transmission dans le visible et dans l'infrarouge. Comme il sera détaillé par la suite, j'ai utilisé soit des portions de feuilles vierges, sans préparation, ainsi que des coupes minces de celles-ci. Je me suis consacré à faire une étude approfondie afin d'identifier des structures présentes sur les feuilles qui sont visibles sur des images représentant des observables polarimétriques, mais invisibles sur des images représentant l'intensité de lumière et qu'on utilise avec un microscope standard. Après un travail d'enquête systématique qui m'a permis d'illustrer les possibilités de la technique polarimétrique en générale, j'ai réussi à identifier les structures que j'avais trouvées au début de mes observations comme étant des petits cristaux appelés raphides. J'ai complété les résultats obtenus par polarimétrie visible avec une étude des mêmes feuilles et des coupes minces par microscopie polarimétrie infrarouge. L'avantage de la polarimétrie infrarouge est que celle-ci est sensible au type et à la configuration des liaisons chimiques présentes sur les échantillons étudiés. Ainsi, j'ai pu déterminer que les raphides étaient

composés de weddelite, une forme minérale d'oxalate de calcium monohydrate. En réalisant des mesures à plusieurs longueurs d'onde dans l'infrarouge j'ai pu aussi illustrer l'utilisation des propriétés polarimétriques telles que le dichroïsme linéaire ou la biréfringence linéaire, et leur orientation respective pour aider à identifier les différents modes vibrationnels qui animent le mouvement des atomes dans les molécules de la matière étudiée ainsi que leur configuration dans l'espace d'une maille cristalline.

Ce chapitre est présenté selon la structure suivante. Premièrement je les dispositifs de travail, les échantillons étudiés ainsi que les méthodes pour préparer ceux-ci. En deuxième lieu je présente des résultats obtenus sur des feuilles sans préparation par microscopie polarimétrique visible. En troisième lieu je présenterai des résultats obtenus par microscopie polarimétrique visible et infrarouge sur des coupes fines. Ces résultats sont décrits et discutés afin d'en donner une interprétation physique, d'illustrer les spécificités de la microscopie polarimétrique infrarouge et sa complémentarité avec la microscopie polarimétrie visible. Le chapitre se ferme par un résumé des aspects les plus importants discutés dans celui-ci.

## IV.1. Dispositifs Expérimentaux

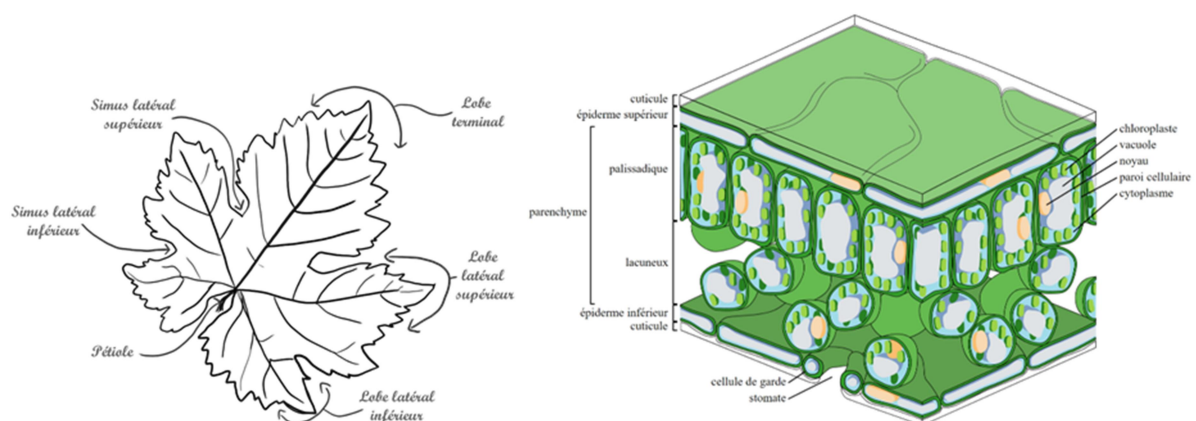
Afin de mener une étude à part entière, deux microscopes polarimétriques de Mueller à imagerie ont été utilisés. Le premier est un microscope polarimétrique basé sur des retardateurs à cristaux liquides, monté en configuration de transmission et permettant de faire des mesures en transmission dans le domaine spectral visible allant de 450 nm à 800 nm. En dépit de ces possibilités toutes les mesures faites pour ce travail ont été faites dans le vert, à 530 nm, car les feuilles de plantes sont transparentes à cette longueur d'onde et par conséquent le rapport signal à bruit est optimal. Plus de détails sur la configuration optique et le pilotage de cet instrument peuvent être trouvés dans la bibliographie [5, 6] Le choix de cet instrument se justifie car la collecte de feuilles de vigne et la réalisation des mesures correspondantes a été réalisée entre mars et mai de 2021, période pendant laquelle le microscope polarimétrique au synchrotron Soleil était en construction, et donc non opérationnel pour prendre de mesures précises.

Le deuxième système est le microscope polarimétrique infrarouge qui fait l'objet de mon travail de thèse. Les mesures faites avec le polarimètre infrarouge ont été faites à plusieurs longueurs d'onde dans le domaine spectral compris entre 7.5 et 7  $\mu\text{m}$  afin de pouvoir caractériser la nature chimique d'structures cristallines que nous avons trouvées à l'intérieur des feuilles de vigne. La largeur de ce domaine s'explique par la présence de bandes d'absorption caractéristiques et parce que l'intensité du signal mesurée était suffisante pour pouvoir réaliser des mesures polarimétriques de qualité. Les échantillons mesurés avec cet instrument sont des coupes minces des feuilles de vigne collectés en 2021. La plupart des mesures faites avec le microscope infrarouge polarimétrique ont pu être faites entre février et mai de 2022.

## IV.1.1. Description des Echantillons et Leur Mode de Préparation

La vigne est une espèce de plantes qui appartient à la famille des *Vitaceae* et porte le nom générique de *Vitis*. Il y a nombreux types de vignes sauvages mais c'est principalement *Vitis vinifera* qui a été domestiquée et diversifiée. *Vitis vinifera* est à l'origine de centaines de cultivars « appelés cépages et c'est à partir de cette vigne qu'est produite la quasi-totalité des vins partout dans le monde. Les caractéristiques morphologique d'une vigne dépend du cépage d'où elle provient, et dans le cas particulier que j'ai étudié il s'agit des feuilles provenant d'un cépage de Carignan N. Les feuilles adultes du Carignan N présentent 5 lobes, un sinus pétiolaire peu ouvert, des sinus latéraux pas très profonds et un limbe fortement gaufré. Les feuilles vigne utilisées pour ce travail ont été obtenues à partir de clones d'un spécimen planté dans un domaine privé. Cela garantit que les échantillons de feuilles proviennent des plantes bien identifiées, et représentatives de l'espèce *Vitis vinifera* pour la production de fruits, et que des échantillons de feuilles fraîches peuvent être récoltés librement pourvu que la saison de l'année le permet.

Des feuilles de tailles et d'âges (mesurées ici en semaines) différentes ont été récoltées afin de les examiner au microscope. Sur la base d'une série de résultats préliminaires, j'ai déterminé les sites sur les feuilles les plus intéressants à étudier et le protocole à suivre afin de garantir une bonne standardisation des résultats et une minimisation des possibles biais. Ainsi par exemple, lorsqu'il s'agissait d'étudier la morphologie des feuilles de vigne en fonction de leur âge, les feuilles ont été divisées en trois catégories. Dans chaque catégorie, cinq feuilles ont été choisies systématiquement. Ensuite, à l'heure de faire des mesures j'ai sélectionné toujours les mêmes zones sur les feuilles (par exemple près du sinus latéral inférieur ou bien près du lobe latéral supérieur) afin de rendre les mesures les plus répétables possible, (voir figure IV.1). Les mesures expérimentales étaient généralement réalisées toutes les semaines ou toutes les deux semaines. Les résultats des expériences ont été traités entre deux séances de mesure. Au total, près d'une trentaine de feuilles ont été traitées et près de deux centaines d'images polarimétriques ont été prises, les plus représentatives d'entre elles ont été sélectionnées pour une étude plus approfondie et rapportées dans ce chapitre.





Le schéma de gauche de la figure IV.1 montre une représentation schématique d'une feuille à cinq lobes de vigne où les principaux traits structuraux permettant de la caractériser y sont indiqués. Le schéma de droite de la figure IV.1 représente une coupe transversale d'une feuille de vigne et permet de voir que celle-ci est formée par plusieurs couches de tissus et de cellules bien différenciés entre eux. Pour simplifier, ces couches peuvent être réunies en trois groupes, l'épiderme supérieur, l'épiderme inférieur et le mésophyle. L'épiderme supérieur est généralement transparent (ces cellules n'ont pas de chloroplastes) et il est couvert par une cuticule faite de cires et de lipides pour limiter les pertes en eau. L'épiderme inférieur est recouvert de pores appelés stomates. Ceux-ci permettent à l'oxygène, le dioxyde de carbone et la vapeur d'eau de rentrer et sortir des feuilles. Des poils appelés trichomes recouvrent l'épiderme de nombreuses espèces de plantes, les caractéristiques morphologiques, et le nombre de ces trichomes dépend de chaque type de feuille ainsi que de son âge.

Le mésophyle occupe la plus grande partie de l'intérieur d'une feuille, il est composé de deux parties : vers la face supérieure, le parenchyme palissadique est constitué de cellules verticales, allongées et serrées, riches en chloroplastes pour assurer l'essentiel de la photosynthèse. Vers la face inférieure se trouve le parenchyme lacuneux (ou spongieux), aux cellules plus arrondies et moins serrées. Les lacunes entre ces cellules contiennent les gaz échangés entre la feuille et l'atmosphère.

Au cours de mes expériences j'ai observé des petites sections de feuilles de 2x2mm environ en imageant leurs deux faces, inférieure et supérieure. La profondeur de focus de l'objectif de microscope utilisé, 9 µm environ, m'a permis d'imager différentes couches des feuilles afin de les caractériser en détail. Ainsi j'ai pu observer clairement les épidermes supérieur et inférieur, et en particulier j'ai pu observer clairement la couche de cellules épithéliales, des stomates et des trichomes. J'ai pu également imaginer le mésophyle et y trouver une grande abondance de structures de forme ellipsoïdale à peine visibles sous un éclairage standard non-polarisé, mais très facilement détectables en lumière polarisée. Intriguée par la nature de ces structures j'ai décidé d'orienter mes efforts pour les caractériser afin d'élucider leur nature.

## IV.1.2. Préparation des Coupes Transverses Fines pour les Domaines Visible et Infrarouge

La préparation de coupes fines demande la réalisation d'une série d'étapes, comme la coupe, la manipulation, le montage et éventuellement la teinture des échantillons assez élaborée. Dans un premier temps nous avons été assistés par le Prof. Mercé Dufort de la Faculté de Biologie de l'Université de Barcelone, qui m'a montré les bases de cette technique et qui a aimablement réalisé pour nous une première série de préparations que nous avons mesuré avec le microscope polarimétrique dans le visible. Forts de cette expérience, nous avons réalisé grâce à l'aide du Dr. Christophe Sandt, une deuxième série de préparations dans le laboratoire de biologie du synchrotron Soleil pour être observés avec le microscope polarimétrique infrarouge.

La préparation des coupes fines pour être observées avec le microscope polarimétrique visible est représentée schématiquement dans la figure IV.2. Dans une première étape, une partie de la feuille de vigne est introduite dans un bain contenant de la paraffine liquide à plus de 40°C. Une fois refroidie, la paraffine devient solide rigidifiant avec elle la portion de feuille. La coupe se fait plusieurs étapes à l'aide d'un microtome, qui est un appareil équipé d'une lame de rasoir coupant, d'un porte-échantillon permettant de tenir l'échantillon et d'un système mécanique permettant de réaliser des coupes successives avec une épaisseur contrôlée dans une gamme comprise entre 5 et



500  $\mu\text{m}$  de épaisseur et avec une précision de 5  $\mu\text{m}$  environ. Lors du montage du bloc de paraffine dans le microtome on réalise d'abord quelques coupes grossières afin d'éliminer l'excès de paraffine et d'attendre la feuille de vigne. Ensuite on réalise une série de coupes en variant l'épaisseur afin de déterminer l'épaisseur la plus fine qui permet une consistance suffisante du tissu végétal pour permettre sa manipulation ultérieure sans l'endommager. Dans le cas de nos échantillons de vigne l'épaisseur optimale était entre 15 et 25  $\mu\text{m}$  environ.

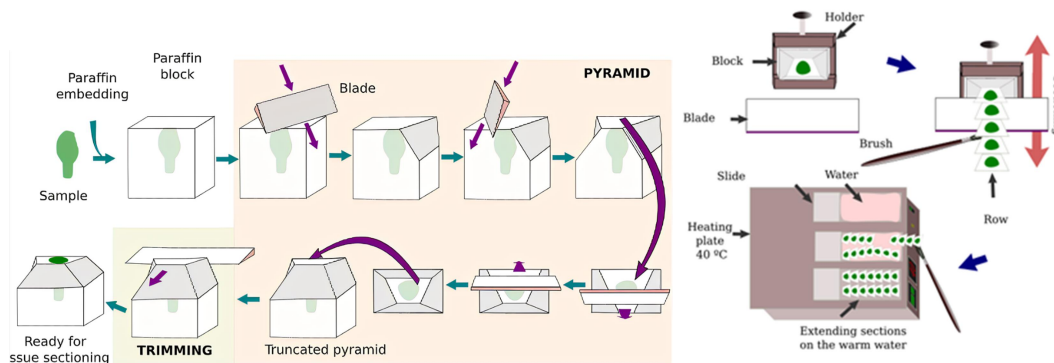


Figure IV.2. Représentation schématique montrant les différentes étapes à suivre afin de fixer un tissu biologique dans un bloc de paraffine, et de le préparer ensuite pour la coupe en microtome (gauche). Représentation schématique des étapes de coupe en microtome et de dépose des coupes fines résultantes dans un bain d'eau pur montage sur un porte-échantillons de microscope. Images courtoisie de M. Megias [7].

Les coupes fines ainsi obtenues sont ensuite déposées sur la surface d'une eau chauffée à 40°C et ensuite « pêchées » avec un porte-échantillon pour microscope. L'eau à 40°C permet d'éliminer partiellement la paraffine sans endommager les tissus végétaux. Une fois séchés, ces échantillons peuvent être teints avec un produit colorant ou bien laissés dans l'état. Dans notre cas, le choix a été fait de colorer la moitié des coupes avec un mélange d'éosine et d'hématoxyline et de préserver l'autre moitié de toute coloration artificielle. L'éosine est un colorant acide de couleur orange-rosé qui a une affinité sélective pour le cytoplasme cellulaire en se fixant sur des molécules à caractère basique. L'hématoxyline, d'une couleur sombre, est utilisée couramment pour colorer les noyaux cellulaires. Enfin, la dernière étape consiste à couvrir les coupes avec un porte-objet de microscope, de quelques centaines de microns d'épaisseur pour les protéger et les rendre plus durables.

Ce protocole de préparation constitue un standard en biologie pour l'obtention d'échantillons adéquats pour l'observation en microscopie polarimétrique visible, mais elles ne peuvent pas être utilisés pour la microscopie infrarouge, car le porte-échantillon et le couvre-objets standards sont faits en verre en silice, qui est un matériau opaque aux longueurs infrarouges supérieures à 4  $\mu\text{m}$  et notamment aux longueurs d'onde comprises entre 7.5 et 10  $\mu\text{m}$  utilisées par le microscope polarimétrique infrarouge. Un deuxième obstacle pour l'utilisation de ces échantillons pour l'observation en microscopie infrarouge est la présence résiduelle de paraffine, qui ayant ses propres pics d'absorption dans le domaine de longueurs d'onde entre 7.5 et 10  $\mu\text{m}$ , peut atténuer le signal mesuré, où bien interférer avec la réponse optique due aux pics d'absorption propres aux tissus biologiques à observer.

Afin de pouvoir réaliser des mesures de microscopie infrarouge il est nécessaire d'utiliser des substrats transparents comme le  $\text{CaF}_2$  ou le  $\text{ZnSe}$ , de ne pas utiliser des substances colorantes, et d'éviter la paraffine comme élément fixant. J'ai opté pour la technique de cryotomie pour rigidifier les échantillons par congélation pour ensuite les couper avec une lame de rasoir installée sur un

microtome. Dans un cryotome, l'ensemble du mécanisme de coupe et de collecte d'échantillons se trouvent à l'intérieur d'une enceinte maintenue à une température fixe à moins de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Avant d'être fixés, les échantillons sont imbibés dans une solution qui contient du sucre en grande concentration afin d'éviter la formation de cristaux d'eau qui pourraient endommager la microstructure du tissu à observer. L'ultra-congélation avec de l'azote liquide est une alternative à l'utilisation de la solution riche en sucre car en étant très rapide empêche la formation de cristaux de glace. Je ne l'ai pas appliqué car le cryotome que j'ai utilisé n'est pas compatible avec l'ultra-congélation.

Une fois coupés, les échantillons sont simplement déposés sur un substrat transparent à l'infrarouge et non-refroidi. Le contraste de température entre la surface du substrat pour microscope et le tissu fraîchement coupé crée une adhésion physique robuste qui permet le transport sans besoin de couvre-objet supplémentaire. La figure IV.3 montre d'une façon schématique simplifiée un cryotome monté dans son enceinte froide et les étapes à suivre pour préparer des coupes fines par cryotomie.

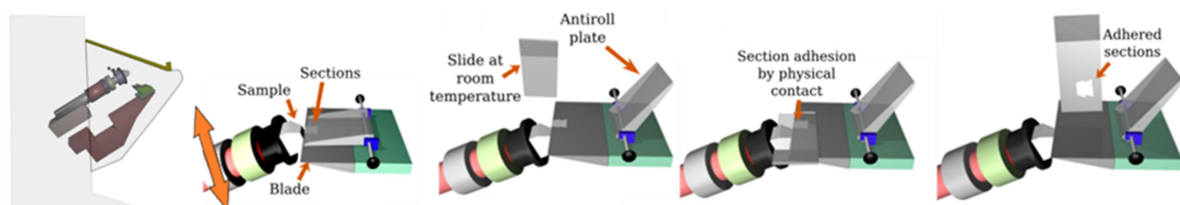


Figure IV.3. Représentation schématique de la partie mécanique d'un cryotome installée dans une enceinte froide (gauche) et des différentes étapes permettant la réalisation de la coupe, la récupération de l'échantillon sur un porte-échantillon, et le résultat final après le collage physique de la coupe fine sur le porte-échantillon. Images courtoisie de M. Megias [7].

## IV.2. Résultats

A continuation je présente les résultats obtenus pour des feuilles cueillies à différents stades de leur cycle de croissance naturel. Grâce à cette étude j'ai pu suivre l'évolution des différentes structures qui constituent la feuille, et de leurs propriétés. Je n'ai pas pu caractériser les feuilles tout au long un cycle biologique complet, car celui-ci s'étale entre la mi-avril et la mi-novembre. A cause de la durée limitée de l'époque de récolte, j'ai pu étudier des feuilles dont l'âge varie entre quelques jours et 5 semaines.

### IV.2.1. Caractérisation Polarimétrique de Feuilles Non-Préparées de *Vitis vinifera* dans le Domaine Visible

La figure IV.4 à gauche montre une image d'une feuille typique ayant entre 2 et 3 semaines d'âge. La feuille a une taille d'environ 10 cm et présente une couleur verte homogène lorsque elle est examinée à l'œil nu. La face supérieure de la feuille ne présente pas de trichomes (poils) et à une texture homogène.

L'image située au centre de la figure IV.4 montre une portion de la même feuille imagée en transmission avec une lumière monochromatique de couleur verte à 530 nm. Pour obtenir cette image, l'échantillon a été éclairé par la face inférieure et imagée par la face supérieure. Cette image a été obtenue en remplaçant les deux objectifs de microscope par deux lentilles de 50 mm de focale respectivement. Le champ de vue sur cette image est de 1.5x1.5 cm. On y distingue clairement trois veines (ou nervures) secondaires, en gris foncé, ainsi qu'un grand nombre de petites veines qui maillent la surface de la feuille et qui, sur cette image, apparaissent en gris clair. Entre les petites veines on observe des zones de tissu gris. Les différents niveaux de gris sur cette image sont proportionnels au flux de lumière diffusée par l'échantillon. Les veines secondaires contiennent le xylème et le phloème et sont donc riches en cellulose. La couche externe qui forme les veines a une texture plus dure et moins aqueuse que le reste de la feuille. A cause de ses caractéristiques mécaniques et physiques, les veines secondaires ont un indice de réfraction supérieur à celui du milieu aqueux qui les entoure, et diffusent la lumière plus efficacement que le reste de la feuille, raison pour laquelle elles apparaissent plus foncées que le milieu environnant. Les petites veines sont très fines, elles contiennent surtout une solution aqueuse. L'absence de grandes particules dans ce liquide, et la minceur des parois des petites veines, facilite le passage de la lumière à travers d'elles sans avoir beaucoup de diffusion. Les petites veines apparaissent donc en couleur gris clair. Finalement, le tissu qui se trouve entre les petites veines est constitué par la superposition des différentes couches de cellules qui constituent la feuille. Le niveau de diffusion de lumière est déterminé par la contribution de l'ensemble de corpuscules qui forment la microstructure de cette superposition ainsi que par l'ultrastructure formée par les constituants propres à chaque type de cellule. Cet empilement complexe crée une diffusion de la lumière assez efficace et homogène donnant comme résultat un niveau de transmission intermédiaire entre celui des veines secondaires et celui des petites veines.

Enfin l'image de droite sur la figure IV.4 correspond à la même feuille, mais cette fois-ci, imagée avec un objectif de microscope de 10x afin d'obtenir un champ de vue de 700  $\mu\text{m}$  environ. Cette image peut paraître un peu floue car la mise à point n'a pas été faite sur la surface de l'échantillon (épiderme), mais sur le mésophyle. Le fait que la lumière émise par les zones imagées doit passer à travers de l'épiderme supérieure flue un peu les bords de l'image. On distingue aisément un réseau très dense formé par des petites veines, visibles aussi sur l'image de gauche sur la même figure, et des veines encore plus fines appelées, des microveines. Le système de petites veines apparaît en couleur gris clair pour les raisons détaillées un peu plus haut. Entre les veines et les microveines on distingue clairement des zones plus foncées formées par les cellules de type palissade.

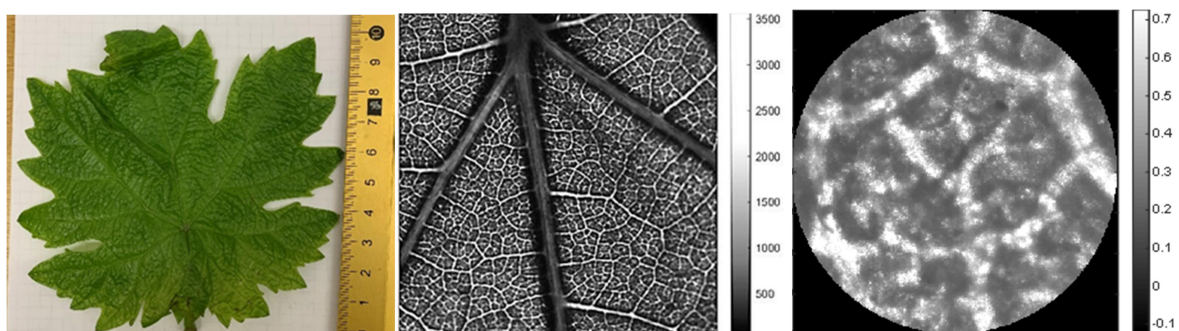


Figure IV.4. (Gauche) Photographie d'une feuille jeune âgée d'une à deux semaines. (Centre) Intensité de lumière non-polarisée transmise mesurée en configuration de transmission. Lumière monochromatique à 530 nm. Champ de vue 1.5x1.5 mm. (Droite) Intensité non polarisée transmise par la même feuille imagée avec le

microscope polarimétrique. Lumière monochromatique à 530 nm. Objectif 10x, Champ de vue 700  $\mu\text{m}$ .

La figure IV.5 présente une matrice de Mueller caractéristique des d'un tissu épithélial de *Vitis vinifera*. La valeur des éléments de matrice sur la diagonale principale est proche de l'unité, mais quelques structures se déchent du fond. En même temps, la valeur des autres éléments de matrice situés en dehors de la diagonale principale, à l'exception des éléments MM24, MM34, MM43 et MM42 sont très petits, presque nuls. On observe que sur ces éléments de matrice non-diagonaux non-nuls il y a des structures qui se détachent clairement du fond de la feuille et que sont différents de ceux qu'on peut observer sur les éléments diagonaux. Cela témoigne du fait que les propriétés de retard, de dichroïsme, et de dépolarisation sont sensibles à des structures particulières dans la feuille, et qu'il y a une diversité de structures dans la feuille.

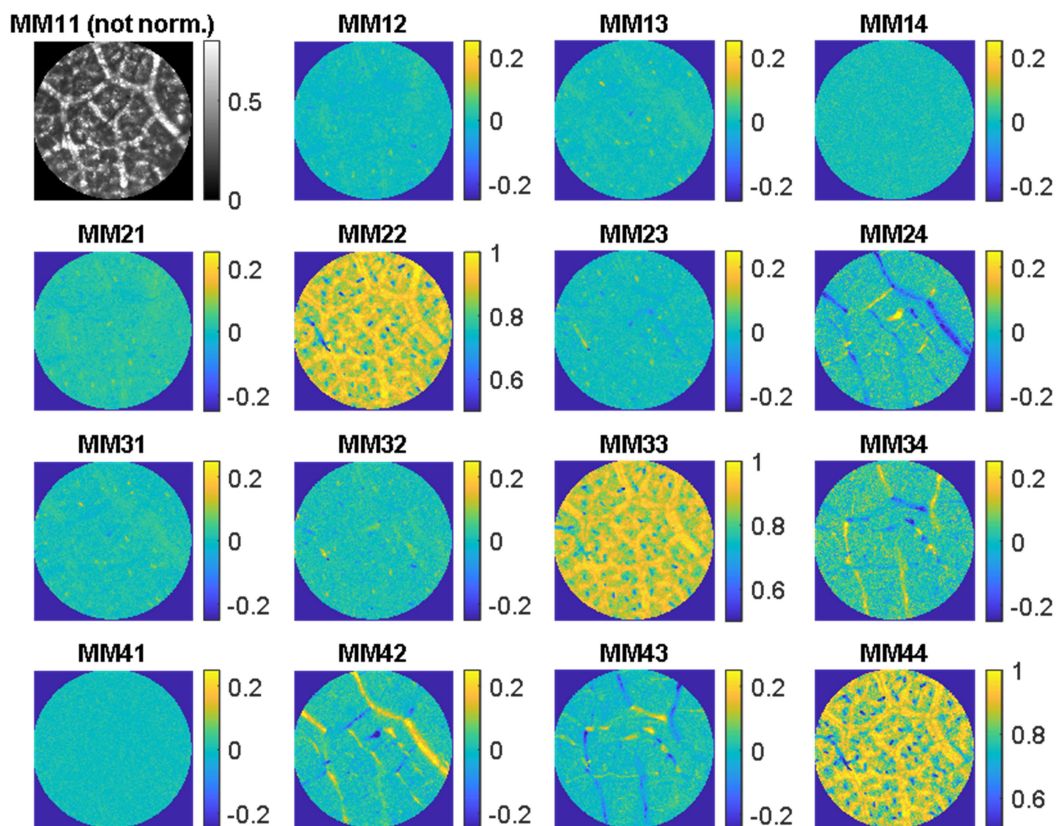


Figure IV.5. Matrice de Mueller correspondant à une feuille de deux semaines d'âge de *Vitis vinifera*. Obj. 10x, FoV. 700  $\mu\text{m}$ . Mise au point en dessous de la couche épithéliale supérieure.

La figure IV.6 présente le détail des propriétés polarimétriques et les observables liés à la dépolarisation déduites à partir de la décomposition logarithmique de la matrice de Mueller présentée dans la figure IV.5. Les observables liés au retard,  $LB$ ,  $LB'$  et  $|B|$  sont complémentaires et présentent des images où il est possible d'observer la présence de lignes qui sont facilement identifiables au système veineux fait des petites veines et des microveines visibles sur l'image d'intensité (MM11). Les couleurs, allant du jaune au bleu, des veines représentées sur les images des observables  $LB$  et  $LB'$  indiquent l'orientation de la biréfringence par rapport à un repère X-Y de référence (laboratoire). Autour des veines on observe des zones correspondant à l'empilement de tissus et cellules qui forment le mésophyle. Comparées aux veines, ces zones du mésophyle apparaissent en vert sur les images de  $LB$ ,  $LB'$  et  $|B|$ , car elles ne présentent pas une biréfringence



appréciable. L'origine de la biréfringence des tissus veineux est à chercher du côté de la cellulose et autres molécules qui les forment. *Je pense que le fait que les polymères de cellulose formant les parois puissent avoir de nombreux domaines microcristallins, (bien orientés) donne lieu à une biréfringence de forme.* Un argument en faveur de cette hypothèse est que l'orientation de la biréfringence, calculée comme :  $0.5 \tan^{-1}(LB'/LB)$ , est bien corrélée avec la direction des veines, visibles sur l'image d'intensité MM11. La valeur du retard créée par les veines dépend de leur diamètre. Elle est autour de 0.15 radians (8.5°) pour les microveines et de 0.21 radians (12°) pour les petites veines. Compte-tenu du fait que le retard est proportionnel à l'épaisseur du milieu traversé par la lumière, la mesure du retard peut être un bon indicateur pour évaluer la taille, en termes de diamètre de ces vaisseaux.

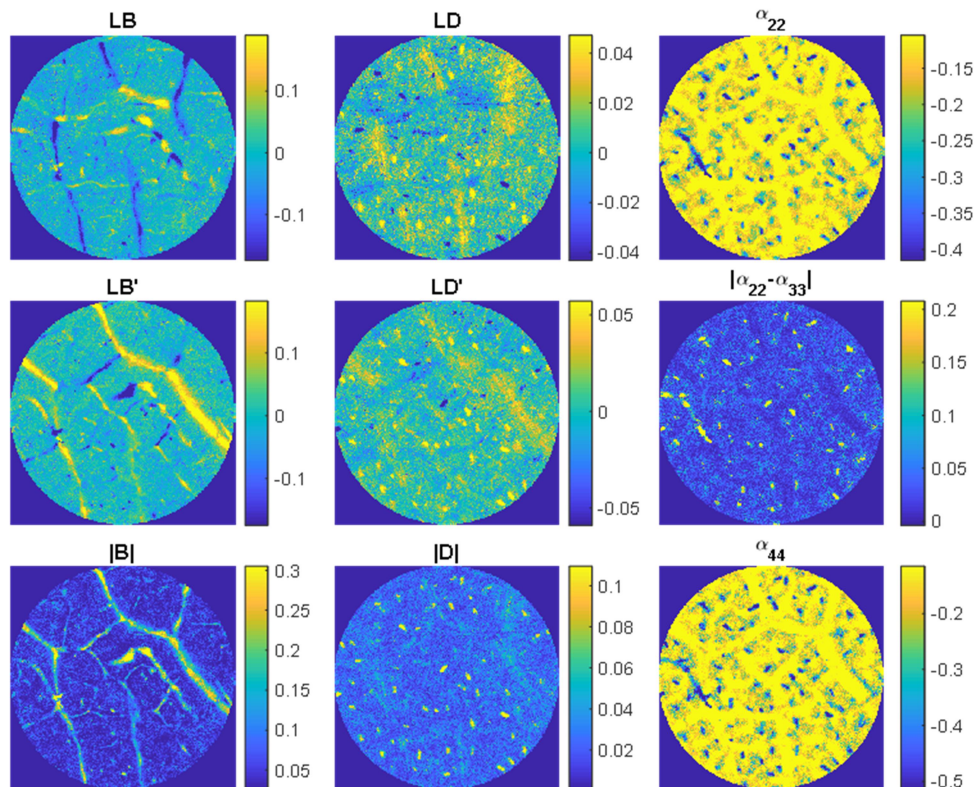


Figure IV.6. Observables obtenus à partir de la décomposition de la matrice de Mueller montrée dans la Fig. IV.5, correspondant à une feuille de *Vitis vinifera*. Obj. 10x, FoV 700  $\mu\text{m}$ .

Les observables liés à la dépolarisation  $\alpha_{22}$  et  $\alpha_{44}$  mettent en évidence au moins trois types de structures différentes présentes sur des feuilles de vigne. Des zones de tissu mésophyle et des veines apparaissent en bleu et vert respectivement. Les zones de tissu mésophyle présentent des valeurs du coefficient  $\alpha_{22}$  et du coefficient  $\alpha_{44}$  de l'ordre de -0.21 et de -0.23 respectivement, tandis que les zones des images correspondant aux tissus veineux présentent des valeurs du coefficient  $\alpha_{22}$  et du coefficient  $\alpha_{44}$  de -0.06 et de -0.03 respectivement. Comme discuté précédemment, le fait que l'épaisseur des veines remplit une partie considérable de l'épaisseur de la feuille, et qu'elles soient remplies d'un liquide contenant des particules petites donc peu diffusantes offre à la lumière une voie de passage assez directe avec peu de phénomènes de diffusion. Ceci explique que la dépolarisation de la lumière ayant traversé les veines soit très faible ou quasi-nulle, comme le témoignent les valeurs des coefficients alpha, très petits en valeur absolue et proches de zéro. D'une autre part, lorsqu'on considère les tissus et cellules du mésophyle, on observe une diminution

considérable des valeurs de  $\alpha_{22}$  et  $\alpha_{44}$ . Ceci indique que la dépolarisation de la lumière ayant traversé ces zones est assez importante. Ceci s'explique parce que des tissus cellulaires forment un ensemble assez dense et hétérogène. La densité de particules et d'organelles dans ces zones, bien plus importante que dans les veines, provoque une diffusion multiple de la lumière, ce qui explique la diminution de son degré de polarisation. En plus de ça, la grande hétérogénéité de structures que s'y trouvent dans cette zone, (fibres, cellules, organelles, espaces intercellulaires...) chacune avec une réponse optique propre, contribue à randomiser l'état de polarisation de la lumière qui les traverse, ce qui a comme conséquence de diminuer son degré de polarisation. Enfin, on peut voir sur les images des coefficients alpha, la présence d'une série de petites structures de forme plus ou moins ellipsoïdale, très visibles car elles ont des valeurs très différentes du fond qui les entoure, formé principalement par des veines et des tissus du mésophyle. Ces petites structures ont en moyenne une taille d'environ 60  $\mu\text{m}$  sur son axe long et de 20  $\mu\text{m}$  environ sur son axe petit, d'ailleurs, elles semblent être orientées de façon aléatoire puisqu'il semble qu'il ait une corrélation quelconque entre l'orientation de particules voisines ou l'orientation de vaisseaux veineux proches. En moyenne, les petites structures présentent des valeurs du coefficient  $\alpha_{22}$  et du coefficient  $\alpha_{44}$  de l'ordre de -0.55 et de -0.70 respectivement ce qui indique qu'elles dépolarisent la lumière très efficacement.

Les observables liés au dichroïsme,  $LD$ ,  $LD'$  et  $|D|$  sont très petits, avec des valeurs extrêmes d'environ 0.05 rad ( $3^\circ$ ) et des valeurs moyennes très proches de zéro, 0.005 radians ( $0.3^\circ$ ) environ. Ceci donne comme résultat des images dans lesquelles l'influence du bruit de mesure est plus visible que sur d'autres observables paramétriques discutés ci-dessus. En dépit de ces valeurs très petits, les images des observables  $LD$ ,  $LD'$  et  $|D|$  sont sensibles surtout à la présence des structures allongés, repérables sur les coefficients alpha, et aussi, mais dans une moindre mesure, aux petites veines qui quadrillent la feuille.

D'une manière analogue à la biréfringence, l'orientation d'axe de transmission des structures possédant du dichroïsme peut se calculer comme :  $0.5 \tan^{-1}(LD'/LD)$ . Ceci permet d'observer d'un côté que l'orientation de l'axe de dichroïsme des petites structures est bien aligné avec son axe long, et d'un autre côté, que les structures sont orientées de façon aléatoire sur la feuille. Par rapport au fond qui les entoure, les petites structures allongées montrent un dichroïsme très marqué, de l'ordre de 0.1 radians ( $11^\circ$ ) qui les font ressortir très clairement sur les images. Ces petites structures, bien qu'à peine visibles sur une image d'intensité non polarisée (voir élément MM11 sur la figure IV.5), elles sont très facilement repérables grâce aux images polarimétriques car elles dépolarisent très efficacement la lumière et en plus, elles possèdent un dichroïsme très marqué. *Fait étonnant, les petites structures ne possèdent pas une biréfringence détectable, du moins lorsque la feuille est imagée à faible grossissement et sans préparation.*

Lorsque j'ai observé par microscopie polarimétrique différentes feuilles ayant des caractéristiques similaires (âge, taille, couleur) à celle montrée sur la figure précédente, j'ai systématiquement trouvé des résultats comparables à ceux montrés ici. Dans tous les cas j'ai pu identifier sur les images des propriétés polarimétriques les structures visibles sur les images d'intensité non-polarisée, MM11, à l'exception des petites tâches dépolarisantes et dichroïques. J'ai donc décidé de les étudier en détail pour savoir plus sur elles et si possible arriver à les identifier avec des structures physiologiques de la feuille. Au départ, n'ayant pas d'information *a priori* sur la nature de ces tâches j'ai décidé d'explorer quatre hypothèses qui me semblaient plausibles :

- Les structures seraient des débris comme la poussière, déposés sur la surface des feuilles,
- Les structures seraient des parasites ou des larves installées sur les feuilles pour proliférer,
- Les structures seraient des trichomes,

- Les structures seraient des druses ou bien des raphides.

En ce qui suit je montre le résultat de différentes expériences que j'ai conduit pour connaître plus sur la nature des structures allongées.

#### IV.2.1.1. Hypothèse 1 : Une Contamination à l'Origine des Structures Elliptiques

La première hypothèse explorée consistait à élucider si les structures allongées seraient en réalité des particules de contaminants, comme par exemple la poussière, qui se seraient déposés sur les feuilles et qui seraient visibles lorsqu'on observe la feuille sous l'effet de la lumière polarisée. Cette hypothèse me paraissait plausible car contrairement à la pratique habituelle en botanique, nous n'avons effectué ici aucun type de préparation des échantillons. Pour rappel, les feuilles ont été observées dans son état naturel, fraîchement cueillies de la vigne mère et ramenées sur le champ au laboratoire pour observation. En moyenne, le temps écoulé entre le moment où les feuilles ont été récoltées et le moment où elles ont été observées était de deux heures environ. Pendant le transport, les feuilles ont été conservées dans un sac en plastique hermétique pour maintenir leur humidité. En plus de ces conditions d'observation particulières, il faut ajouter que lors des premières séances de caractérisation, je n'avais pas rincé les feuilles avant de les observer. Ainsi il m'a paru pertinent d'explorer l'hypothèse liée à la présence de polluants de surface. Pour étudier cette possibilité j'ai décidé de rincer systématiquement à l'eau pure les feuilles avant de les observer tout en prenant soin de sécher l'excès d'eau qui aurait pu se cumuler sur la surface sous forme de fines gouttelettes d'eau avec une compresse fait d'un matériel utilisé pour nettoyer des surfaces d'éléments optiques et qui a la propriété de ne pas laisser des traces ni de résidus.

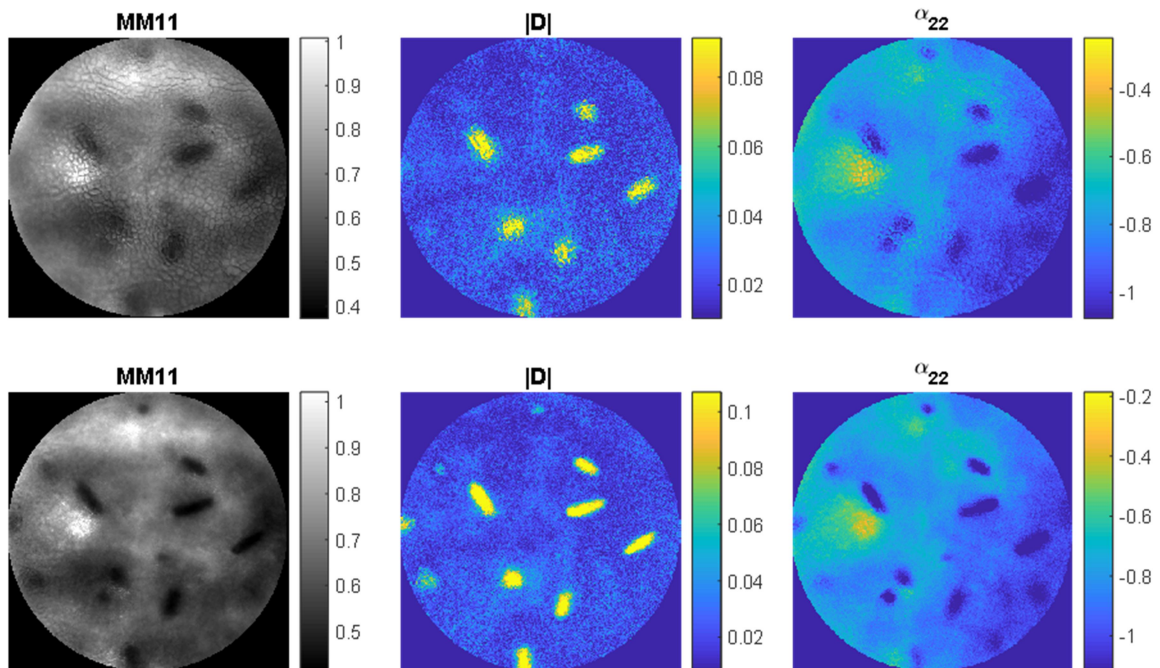


Figure IV.7 Images d'une feuille de vigne âgée de trois semaines. De gauche à droite, première et deuxième ligne, transmittance non-polarisée, MM11, dichroïsme total  $|D|$  et coefficient de dépolarisation,  $\alpha_{22}$ . Première ligne: mise au point sur la surface supérieure de la feuille. Deuxième ligne: mise au point sur un plan situé à 30  $\mu\text{m}$  sous la surface de la feuille. Long. d'onde: 530 nm, objective: 20x, champ de vue: 350  $\mu\text{m}$ .

En deuxième lieu j'ai décidé de prendre des images des échantillons en focalisant sur des plans à plusieurs profondeurs. De cette façon il y a toujours une chance de pouvoir repérer si les structures se trouvent directement sur la surface ou bien en dessous de celle-ci. Afin d'améliorer la résolution axiale des images, j'ai utilisé un objectif de microscope de 20x et une ouverture numérique de 0.4. La profondeur de champ des images acquises avec cet objectif est de 6  $\mu\text{m}$  environ. La figure IV.7 montre l'élément MM11 de la matrice de Mueller, le dichroïsme total  $|D|$ , et un des trois coefficients de dépolarisation obtenus à partir de matrices de Mueller mesurées en faisant la mise au point soit exactement sur la surface d'une feuille de vigne (trois images sur la première ligne), soit plusieurs dizaines de microns en dessous de celle-ci (trois images sur la deuxième ligne). Sur l'image de l'élément MM11 prise sur la surface de la feuille, les parois des cellules épithéliales sont clairement visibles. Ces cellules ne contiennent pas des chloroplastes et sont transparentes, ce qui explique pourquoi le mésophyle est aussi visible. Lorsqu'on utilise un grand grossissement, les structures elliptiques apparaissent floues car elles sont loin par rapport à profondeur de mise au point de l'objectif de microscope. En accord aux résultats montrés sur les figures IV.5 et IV.6, les structures elliptiques sur les images de  $|D|$  et  $\alpha_{22}$  sont très contrastées par rapport aux tissus qui les entourent. Les trois images situées sur la deuxième file de la figure IV.7 sont assez similaires aux trois images de la première file. Les différences entre elles sont surtout dues à la mise au point. En particulier, sur les images de la deuxième file, les cellules épithéliales ne sont plus visibles et les bords des structures ellipsoïdales sont plutôt bien définis. Ceci indique que les structures elliptiques se trouvent à l'intérieur de la feuille plutôt que sur la surface. Compte tenu du fait que la feuille avait été rincée avant d'être mesurée, il semble évident que les structures elliptiques ne sont pas dues à des particules (pollen, polluants, poussière...) déposées accidentellement sur leur surface, mais à des structures situées à l'intérieur de la feuille.

#### ***IV.2.1.2. Hypothèse 2 : Des Parasites à l'Origine des Structures Elliptiques***

La vigne peut pâtir d'un certain nombre de maladies qui peuvent être classées sur deux grands groupes, les maladies parasitaires, causées par des champignons, des bactéries et des virus, et les affectations dues aux ravageurs, tels que les acariens et les insectes.

La possibilité que les feuilles de la vigne utilisées pour mes expériences aient pu pâtir d'un type ou un autre maladie c'était ma deuxième piste de travail pour tenter d'élucider la nature des structures elliptiques repérées sur les images polarimétriques. Cette hypothèse me paraissait plausible puisque le pied de vigne considéré pour l'étude ne reçoit aucun type de traitement chimique phytosanitaire. Les principales maladies parasitaires de la vigne sont le mildiou et l'oïdium, et parmi les ravageurs on compte des petites larves d'acariens comme le phylloxera ou l'érinose (*colomerus vitis*). Les caractéristiques principales permettant de les distinguer sont les suivantes :

*Oïdium*. L'oïdium ou maladie du blanc reste peu visible au début de son installation : Les feuilles se parent de taches huileuses et de taches poussiéreuses. A un stade plus avancé la nervure de la face inférieure noircit suivi par l'apparition d'une poudre grisâtre sur la face supérieure. Enfin la feuille se crispe.

*Mildiou*. Le mildiou est un champignon parasite qui se développe surtout lorsque le printemps est pluvieux : Les feuilles montrent des taches jaunâtres qui ont un aspect de taches d'huile sur leur face



supérieure. Il apparaît ensuite un duvet blanc sur la face inférieure, puis des taches brunes desséchées.

*Phylloxera*. Lorsque les vignes sont atteintes par le phylloxera, des cloques apparaissent sur les feuilles. Des larves de couleur orange vif sont facilement visibles à l'œil si on ouvre les cloques. Pendant les beaux jours, les insectes s'installent sur la face inférieure des feuilles et des trous apparaissent sur la face supérieure.

*Erinose*. Lorsque les vignes sont atteintes par l'érinose on observe des cloques sur leur surface, comme dans le cas de la phylloxera, mais contrairement à celui-ci il n'est pas possible de repérer à l'œil nu les insectes car ils ont une taille microscopique. Ce qui est facile par contre, est de repérer la présence de tâches blanchâtres sur la face postérieure des cloques, dues à des petits poils blancs.

La figure IV.8 montre des images en couleur de la face avant et arrière respectivement d'une feuille presque adulte âgée de plus de quatre semaines prises avec un appareil photo commercial. J'ai sélectionné pour cette illustration, les feuilles les plus âgées auxquelles j'ai eu accès car, en cas de maladie, c'est sur les feuilles les plus mûres que celle-ci devrait se manifester le plus clairement. On observe sur la face avant des feuilles la présence de cloques ou boursoufflures.

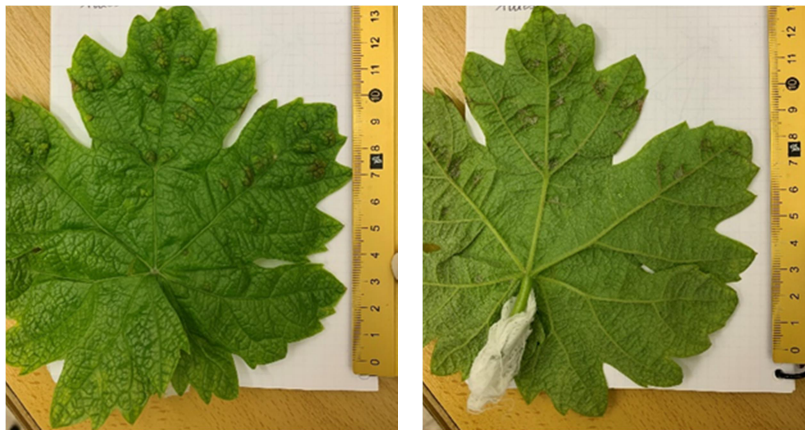


Figure IV.8 (Gaughe) Photographie de la face avant et (Droite) de la face arrière d'une feuille de vigne âgée de plus quatre semaines.

Lorsqu'on observe la face postérieure des feuilles on repère des taches légèrement blanches à l'endroit où se trouvent les boursoufflures visibles sur la face avant. L'absence d'insecte à l'intérieur des boursoufflures et la couleur un peu blanchâtre des taches sur la partie postérieure semblent indiquer que la feuille peut être atteinte de manière localisée par érinose. L'absence des symptômes typiques des maladies dues à l'oïdium et au mildiou me font penser que la vigne n'est pas atteinte de ces deux maladies parasitaires.

Afin d'avoir une plus grande certitude sur la nature de la maladie qui a causé les boursoufflures sur les feuilles âgées de plus de quatre semaines j'ai envoyé plusieurs feuilles à un laboratoire d'analyse biologique spécialisé à l'Université de Barcelone. L'étude biologique a révélé la présence d'un champignon filamenteux à l'intérieur des boursoufflures. La feuille de vigne semble avoir développé les boursoufflures comme une forme de défense afin d'entourer les champignons filamenteux et d'empêcher leur croissance. Je ne pense pas que les structures elliptiques soient dues à la présence de champignons ou de boursoufflures, car le nombre de structures elliptiques par unité de surface est bien trop supérieur à celui des boursoufflures. En outre, la taille caractéristiques des

champignons et des boursoufflures, de quelques millimètres environ, est trop grande par rapport à celle des structures elliptiques. Enfin, le fait que les mesures polarimétriques aient été faites sur des zones homogènes des feuilles, exclut de facto le fait que les structures elliptiques soient dues aux champignons filamenteux ou aux boursoufflures.

### *IV.2.1.3. Hypothèse 3 : Des Trichomes à l'Origine des Structures Elliptiques*

Jusqu'à ce point j'ai décrit des résultats d'observations faites sur des feuilles relativement jeunes de 2 à 3 semaines ou bien des feuilles plutôt mûres et bien développées ayant plus de quatre semaines de vie. A part de ces feuilles j'ai aussi étudié des feuilles plus jeunes, âgées entre 1 et 2 semaines. L'étude de ces très jeunes feuilles sans préparation particulière comme les feuilles présentées précédemment, est difficile par la présence abondante de trichomes sur la surface de leurs épithéliums supérieur et inférieur. En accord avec la littérature, [8] j'ai pu en identifier deux types : des trichomes simples et des trichomes en ruban.

Les trichomes en ruban ressemblent un peu à des spaghettis, ils sont longs et fins (plusieurs centaines de micron en longueur et quelques dizaines de micron en diamètre), et ils sont souvent enroulés les uns sur les autres. Les trichomes en ruban sont particulièrement abondants sur la face arrière des feuilles jusqu'au point de leur donner un aspect blanchâtre lorsqu'on les observe à l'œil nu. A cause de leur grande taille et abondance, les trichomes diffusent très efficacement la lumière, ils agissent comme une barrière optique qui rend très difficile, l'observation des structures qui se trouvent au-dessous. Heureusement il est relativement facile de débarrasser la jeune feuille de la couche de trichomes en ruban si on passe avec douceur une compresse un peu humidifiée sur la surface de la feuille. Lorsque la feuille devient plus âgée, entre 3 et 4 semaines, elle perd une grande quantité de ces trichomes en ruban. La forme très caractéristique des trichomes en ruban rend leur identification facile et dans le cas qui nous occupe, il n'est pas possible de les confondre avec les structures elliptiques, car les trichomes sont bien plus longs. Toutes ces différences de taille et morphologiques me confortent sur l'idée que les structures elliptiques ne sont pas de trichomes en ruban.

Les trichomes simples sont unicellulaires, ils croissent alignés sur les veines secondaires et sont plus petits que les trichomes en ruban (30 à 50  $\mu\text{m}$  environ). Le diamètre des trichomes est similaire à sa longueur, ce ils ressemblent à des petites pointes acérées. Au cours de mes observations j'ai trouvé des trichomes simples sur les veines situées sur la partie supérieure de la feuille. A cause du fait que la taille des trichomes simples soit comparable à celle des structures elliptiques pourrait faire penser que ces structures sont des trichomes, c'est donc pour cette raison que je les ai étudiées en détail.

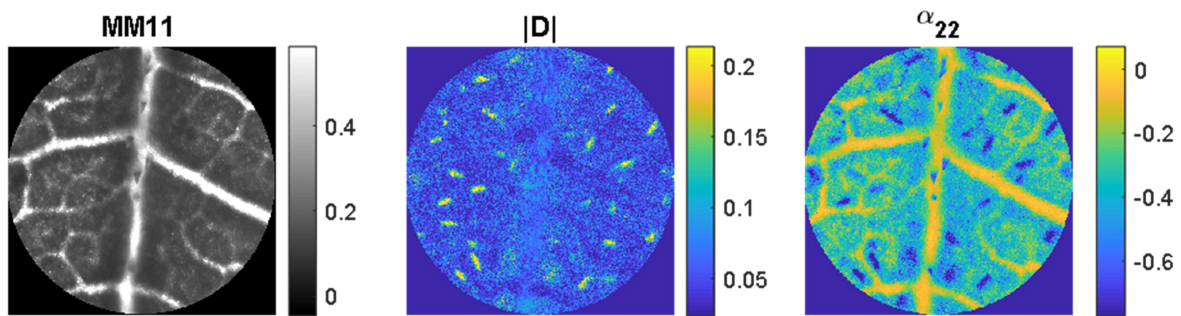


Figure IV.9 Images d'observables polarimétriques d'une feuille âgée de quatre semaines. (Gauche) Intensité non polarisée, MM11. (Centre) Dichroïsme total  $|D|$  et (droite) coefficient de dépolarisation  $\alpha_{22}$  obtenus à partir de la décomposition de la matrice de Mueller. Mise au point sur l'épithélium supérieur. Lumière monochromatique à 530 nm. Objectif 20x, champ de vue 350  $\mu\text{m}$ .

La partie gauche de la figure IV.9, en noir sur blanc, montre l'image d'intensité non-polarisée transmise par l'échantillon. La mise au point a été faite sur l'épithélium supérieur de la feuille, on voit une longue veine secondaire qui divise l'image en deux moitiés, on aperçoit aussi plusieurs veines tertiaires partant de la veine secondaire parcourant la feuille horizontalement. Sur cette image d'intensité on aperçoit aussi au moins cinq trichomes simples situés juste sur la veine secondaire. Les trichomes ont une taille d'environ 70  $\mu\text{m}$  et ils ont une forme pointue assez caractéristique. Loin des veines, on n'aperçoit pas d'autres trichomes. Les structures elliptiques ne sont pas visibles sur cette image d'intensité transmise non polarisée (MM11).

La présence du système veineux est bien visible sur les observables liés au retard. La veine secondaire peut atteindre des valeurs de retard de 0.6 radians ( $34^\circ$ ) tandis que les veines tertiaires sont caractérisées par des valeurs autour de 0.2 radians ( $11^\circ$ ). Cette différence s'explique par les différences de taille entre les veines tertiaires et la veine secondaire. En outre les observables liés au retard permettent aussi de voir la présence des trichomes. Le fait que les trichomes se trouvent situés sur la veine secondaire, et que les deux structures montrent un retard non nul sur l'image de l'observable  $LB$  rend l'observation des trichomes difficile car leur présence est masquée par la veine secondaire. Cet effet d'écran est moins important sur l'image correspondant à l'observable  $LB'$ , ce qui rend l'observation des trichomes plus facile. Par chance, il y a un trichome qui se situe à l'intersection de la veine secondaire et une veine tertiaire qui part vers la gauche. Comme ce trichome est un peu décalé par rapport aux deux veines il est particulièrement visible sur les trois images des observables  $LB$ ,  $LB'$  et  $|B|$  respectivement. La valeur du retard pour ce trichome est très élevée, 0.80 radians ( $45^\circ$ ) ce qui indique que ce type d'objet a une biréfringence naturelle très élevée. Comme pour les autres images discutées précédemment, il n'a pas été possible de voir les structures elliptiques sur les observables liés à la biréfringence, ce qui est un élément discriminant très important.

Le système veineux est aussi visible sur les observables liés au dichroïsme mais dans une moindre mesure que sur les observables liés au retard, car la valeur du dichroïsme associé aux veines est très petite et proches du niveau du bruit. Ce qui est bien visible par contre sur ces observables liés au dichroïsme, ce sont les structures elliptiques, dont les valeurs caractéristiques se situent autour de 0.17 radians ( $9.7^\circ$ ). Contrairement aux structures elliptiques il n'est pas aisé (voir possible) de voir les trichomes sur les images des observables liés au dichroïsme. Par conséquent, un deuxième facteur permettant de discriminer entre les structures elliptiques et les trichomes est le fait que les trichomes n'apparaissent pas sur les observables liés au dichroïsme.

Les images des coefficients de dépolarisation fournissent également un critère intéressant pour différencier entre trichomes et structures elliptiques. Si bien les deux types de structures apparaissent clairement sur les images correspondant aux observables  $\alpha_{22}$  et  $\alpha_{44}$ , il n'est pas de même sur l'image correspondant au module de la différence entre les coefficients  $\alpha_{22}$  et  $\alpha_{33}$ . Sur ce dernier observable, seulement les structures ellipsoïdales apparaissent clairement, car les trichomes ne produisent aucun signal visible. Rappelons brièvement ici, que ce dernier observable,  $|\alpha_{22}-\alpha_{33}|$ , permet de visualiser la dépolarisation créé par des particules ou des éléments diffusants non-sphériques. Cet observable fournit un troisième élément très important qui permet d'établir une différence entre les trichomes et les structures ellipsoïdales, non seulement sur la base d'un critère absence-présence sur l'image, mais aussi sur la base de la forme des constituants de l'ultrastructure des deux éléments que nous souhaitons différencier. Ainsi, selon l'observable  $|\alpha_{22}-\alpha_{33}|$  les trichomes seraient faits de constituants biréfringents mais de toute petite taille, assimilables à des sphères, tandis que les structures elliptiques seraient faits par des particules allongées.

En conclusion, les images polarimétriques correspondant aux des trichomes et aux structures ellipsoïdales montrent un trop grand nombre de différences entre elles comme pour permettre de valider l'hypothèse selon laquelle les structures elliptiques seraient en réalité des trichomes. L'information apporté par l'observable  $|\alpha_{22}-\alpha_{33}|$ , est très importante car indique qu'il existe bien une différence fondamentale entre la ultrastructure des trichomes et des structures elliptiques.

Le fait que ces structures elliptiques semblent être constitués par les éléments allongées m'a inspiré la quatrième et dernière hypothèse, c.à.d., les structures seraient en réalité faites de tout petits cristaux ou précipitants, ayant une forme allongée donnant lieu aux propriétés observées. L'exploration des trois hypothèses de travail discutées dans les sous-sections précédentes fournissent un faisceau d'indications qui suggèrent que les structures elliptiques seraient des raphides.

#### ***IV.2.1.4. Hypothèse 4: Des Raphides à l'Origine des Structures Elliptiques***

La figure IV.10 montre des images polarimétriques d'une feuille mature de pothos, *Epipremnum Aureum*, obtenues avec le microscope polarimétrique dans les mêmes conditions d'éclairage et d'absence de préparation spéciale de ce spécimen observé que pour les feuilles de vigne. J'ai choisi cet exemple comme référence ici, car la présence de raphides est bien connue et documentée sur le pothos, et parce que récemment une étude dans laquelle des images polarimétriques de feuilles de cette plante ont été utilisées pour illustrer les propriétés polarimétriques des raphides [9]. La figure IV.10 montre l'image de transmittance non-polarisée, MM11, de la feuille ainsi que les images correspondant aux observables polarimétriques correspondant au dichroïsme,  $|D|$  total et un des coefficients de dépolarisation,  $\alpha_{22}$ .

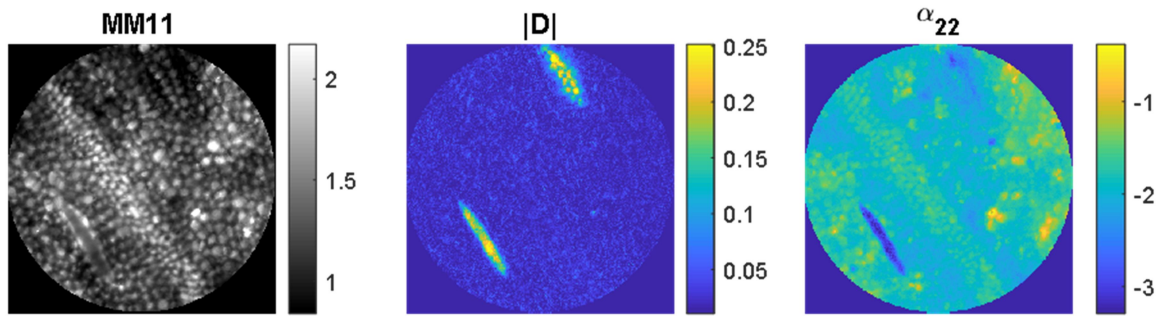


Figure IV.10 Images des observables polarimétriques d'une feuille de pothos. (Gauche) Intensité non polarisée, MM11. (Centre) Dichroïsme total  $|D|$  et (droite) coefficient de dépolarisation  $\alpha_{22}$  obtenus à partir de la décomposition de la matrice de Mueller. Mise au point sur la surface supérieure. Lumière monochromatique à 530 nm. Objectif 20x, champ de vue 300  $\mu\text{m}$ .

Sur l'image de transmittance non-polarisée on aperçoit (en bas à droite), un petit raphide de 150  $\mu\text{m}$  de longueur et 20  $\mu\text{m}$  de largeur. On distingue également les parois cellulaires de l'épithélium supérieur qui maillent la surface de la feuille et une aussi un trait clair qui correspond à une veine située hors du plan de mise au point. Les parois cellulaires de l'épithélium et la veine subjacente présentent une biréfringence caractéristique qui est bien représentée dans les images des observables  $LB$ ,  $LB'$  et  $|B|$ . Le raphide ne possède qu'une toute petite biréfringence qui fait qu'il soit à peine distinguable du fond qui l'entoure en arrière-plan. Cette toute petite biréfringence est une caractéristique que les raphides de la feuille de pothos ont en commun avec les propriétés des structures elliptiques trouvées sur la feuille de vigne.

Les raphides de pothos possèdent un dichroïsme très marqué par rapport à d'autres structures présentes sur la feuille, ainsi, ils se détachent très clairement du fond qui les entoure et sont bien visibles sur les images des observables  $LD$ ,  $LD'$  et  $|D|$ . Cette caractéristique est commune à celle des structures elliptiques vues sur la feuille de vigne, qui montrent aussi un dichroïsme élevé. La valeur moyenne du dichroïsme des raphides de pothos mesurée sur l'image de l'observable  $|D|$  est de 0.15 radians (8.5°), ce qui est étonnamment très similaire à celle montrée par les structures elliptiques des feuilles de vigne dont la valeur était de 0.17 radians (9.7°).

Finalement, en ce qui concerne la dépolarisation, il est évident à partir des images de la figure IV.10 que les raphides du pothos, comme les structures elliptiques sur la vigne, ont une grande capacité pour dépolariser la lumière. Ceci s'explique sûrement par leur haut dichroïsme et par une certaine inhomogénéité au niveau de leurs propriétés polarimétriques (amplitude et orientation du dichroïsme) à leur intérieur. En ce qui concerne l'observable  $|\alpha_{22}-\alpha_{33}|$ , les raphides du pothos, montrent des valeurs clairement non-nuls. Dans le cas des raphides du pothos, il est connu [8] qu'ils sont formés par des amas de petits cristaux d'oxalate de calcium en forme de pointe très allongés. Il ne semble pas improbable que chaque pointe cristalline soit faite par une suite de micro-nano cristallites eux aussi de forme allongée.

La comparaison entre la réponse polarimétrique des raphides des feuilles de pothos et les structures elliptiques sur les feuilles de vigne indique que les deux ont les mêmes caractéristiques polarimétriques. D'ailleurs, on constate que la valeur du dichroïsme total est presque la même pour les deux plantes. Ceci est d'autant plus remarquable que la vigne et le pothos n'appartiennent pas à la même espèce de plantes. Ces similitudes constituent une preuve partielle et indirecte en faveur de l'hypothèse selon laquelle les structures elliptiques seraient des raphides.



Jusqu'à ici j'ai exploré diverses hypothèses sur la nature des structures elliptiques en utilisant des images polarimétriques prises sur de fragments de feuilles de vigne sans préparer. Malgré la richesse d'informations fournie par les images de ces échantillons, l'identification des structures elliptiques comme étant des raphides n'est basé que sur des preuves indirectes. Afin d'éliminer toute doute raisonnable sur l'origine des structures elliptiques, il a été nécessaire de sectionner les feuilles en coupes fines et de les monter sur des substrats de microscopie suivant un protocole standard en biologie. Les sections fines permettent d'observer directement et clairement les structures qui se trouvent à l'intérieur des feuilles et d'apportent ainsi des évidences irréfutables pour compléter la discussion réalisée jusqu'à ce point. La description des résultats obtenus sur des coupes fines fait l'objet des sections suivantes.

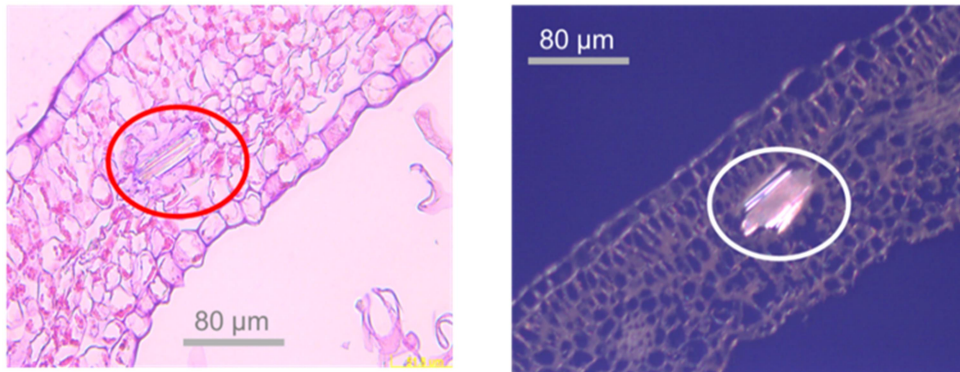
## **IV.2.2. Caractérisation de Coupes Mince de Feuille de Vigne par Microscopie Polarimétrique Visible**

Dans cette section je discute les résultats de la caractérisation des lames contenant des coupes minces des feuilles de vigne. Afin de faciliter la comparaison entre les résultats polarimétriques et les observations couramment faites en biologie, j'ai utilisé pour cette section des échantillons préparés par microtomie. Les mesures polarimétriques ont été faites sur des échantillons non-teints afin d'éviter toute interférence des colorants utilisés sur la réponse polarimétrique des coupes fines.

L'observation au microscope non polarisé des coupes transversales de feuille de vigne montre la structure en couches superposés des cellules que la composent. La figure IV.11 (à gauche) montre une image représentative d'une coupe fine teinte à l'éosine-hématoxyline. L'image a été prise en utilisant une illumination incohérente blanche créée par une lampe halogène. On distingue clairement aux bords supérieur et inférieur de la feuille, des cellules épithéliales de forme régulière et bien collées les unes aux autres formant une sorte de pavé compact. A l'intérieur de la feuille, sur la partie supérieure gauche, on distingue également des cellules de palissade, de forme plutôt allongée et en contact avec les cellules épithéliales. Des cellules de forme irrégulière forment le parenchyme remplissent partiellement le volume interne de la feuille. Parmi les cellules qui forment le parenchyme on distingue la présence d'un raphide de forme allongée. La taille de raphide est aussi représentative de l'ensemble des observations faites sur d'autres échantillons, il mesure à peu près 100  $\mu\text{m}$  sur l'axe long et environ 20  $\mu\text{m}$  sur les axes courts. Grâce à la magnification du microscope, x50, il est possible aussi d'apercevoir le fait que ce raphide est en fait constitué par l'assemblage de différents cristaux en forme d'aiguille. D'ailleurs, on distingue facilement grâce à la coloration, des lignes droites à l'intérieur du raphide qui sont en fait les bords des différents cristaux qui le forment. La coloration permet également de bien visualiser les parois cellulaires et les noyaux de celles-ci.

Afin de mettre en exergue le raphide nous avons observé les coupes fines non teintées, en ajoutant deux polariseurs linéaires croisés dans le trajet optique du microscope commercial (Olympus CX41) . Le premier polariseur a été placé juste en dessous du condenseur, et le deuxième polariseur a été placé entre l'objectif de microscope et la lentille de tube dans un compartiment initialement prévu pour des filtres interférentiels. Les mesures ont été faites en lumière incohérente visible blanche créée par une lampe halogène. L'image sur la figure FIG IV.11 (à droite) montre une image représentative. Observées entre polariseurs croisés, il est possible de distinguer sans difficulté les parois cellulaires de la feuille de vigne, et les raphides grâce à sa biréfringence, et aussi, mais dans une moindre mesure, à sa capacité à dépolariiser la lumière. Sur les images, les raphides apparaissent toujours

beaucoup plus brillants que les parois cellulaires. Bien que cette méthode d'observation ne permette pas d'en déduire toutes les propriétés polarimétriques fondamentales des objets étudiés, il est possible néanmoins d'avoir des indications sur celles-ci. Ainsi au vu de l'éclat, très important du raphide, par rapport à celui des parois cellulaires, il est possible de affirmer que les raphides à cause de leur épaisseur, leur biréfringence ou les deux en même temps, créent beaucoup plus de retard que les parois cellulaires.



*Figure IV.11. Images d'une coupe mince d'une feuille de vigne (15  $\mu\text{m}$  épaisseur) partiellement déparaffinée et teinte avec une solution d'hématoxyline éosine. (Gauhe) Coupe fine imagée avec un microscope standard non-polarisé. (Droite) Même coupe observée entre polariseurs croisés. Les cirches signalent la présence d'un raphide. Magnification 50x, Lumière blanche.*

En résumé, les observations au microscope Olympus CX41 en utilisant des coupes préparées selon une méthode standard en biologie ont permis de visualiser la structure et l'organisation cellulaire des feuilles de vigne, il a été possible de visualiser et d'identifier la présence de raphides dont la taille est compatible avec celle des tâches elliptiques vues en microscopie polarimétrique sur des feuilles non préparées. D'ailleurs, les images de ces mêmes échantillons prises entre polariseurs croisés, montrent que les raphides, grâce à leurs propriétés se détachent facilement du fond sombre ou noir et sont facilement observables. La présence de propriétés polarimétriques marquées est compatible avec les observations faites en microscopie polarimétrique sur des feuilles non préparées et constitue une preuve directe pour valider l'identification des tâches elliptiques avec comme étant des raphides.

La deuxième étape de cette étude a consisté à l'observation des mêmes coupes minces non-teintées avec le microscope polarimétrique visible utilisé précédemment pour caractériser les feuilles intègres. L'objectif était de mesurer les propriétés polarimétriques des raphides pour quantifier les informations, déjà très intéressantes, révélées grâce à l'observation des échantillons entre polariseurs croisés.

La figure IV.12 montre une matrice de Mueller normalisée par rapport à l'élément MM11, représentative de l'ensemble des coupes de feuilles de vigne. La figure montre l'élément MM11, (transmissivité non polarisée de l'échantillon). Sur cette image de transmission on peut observer en gris foncé les parois des cellules épithéliales ( de forme circulaire formant une sorte de chaîne en bas de l'image), les parois des cellules du parenchyme qui remplissent l'ensemble de la feuille, les parois des cellules de forme très allongée formant la partie interne (couche intime) d'une veine, et enfin, deux raphides situés vers le milieu de l'image à gauche et à droite respectivement. Comme précédemment, l'échelle de couleur de tous les éléments de matrice (à l'exception de MM11) ont été fixés entre -1 et 1, afin de donner au lecteur un aperçu de la magnitude des propriétés polarimétriques de l'échantillon. La valeur des éléments de la matrice de Mueller sur la diagonale



principale est très proche de 1, indiquant ainsi une très petite dépolariation ; et la valeur des autres éléments de la matrice de Mueller est proche de zéro, ce qui veut dire que les propriétés polarimétriques de retard et de diattenuation sont très petites. Ces deux observations s'expliquent facilement par la faible épaisseur de l'échantillon étudié. D'un côté, pour un échantillon mince, la probabilité d'occurrence d'évènements de diffusion multiple de lumière, qui est l'une des principales causes de dépolariation, est très faible. D'un autre côté, comme le retard est proportionnel à l'épaisseur de l'échantillon, il est évident que celui-ci sera d'autant plus petit que l'échantillon est mince. En plus de ces observations, sur la plupart des éléments de la matrice de Mueller il est aussi possible d'observer deux ou parfois trois petites zones dont les valeurs se détachent clairement du fond, ce sont les petits raphides mentionnés plus haut.

La figure IV.13 montre quelques observables polarimétriques obtenus à partir de la décomposition logarithmique de la matrice de Mueller représentée sur la figure précédente. La présence des raphides est clairement visible sur l'ensemble des observables, car ils montrent un retard, un dichroïsme et une dépolariation bien plus importants que les autres constituants de la feuille. Ces observations sont en parfait avec les résultats obtenus sur les feuilles intactes discutés précédemment et montrent que la préparation des échantillons en couche mince n'a pas altéré les raphides.

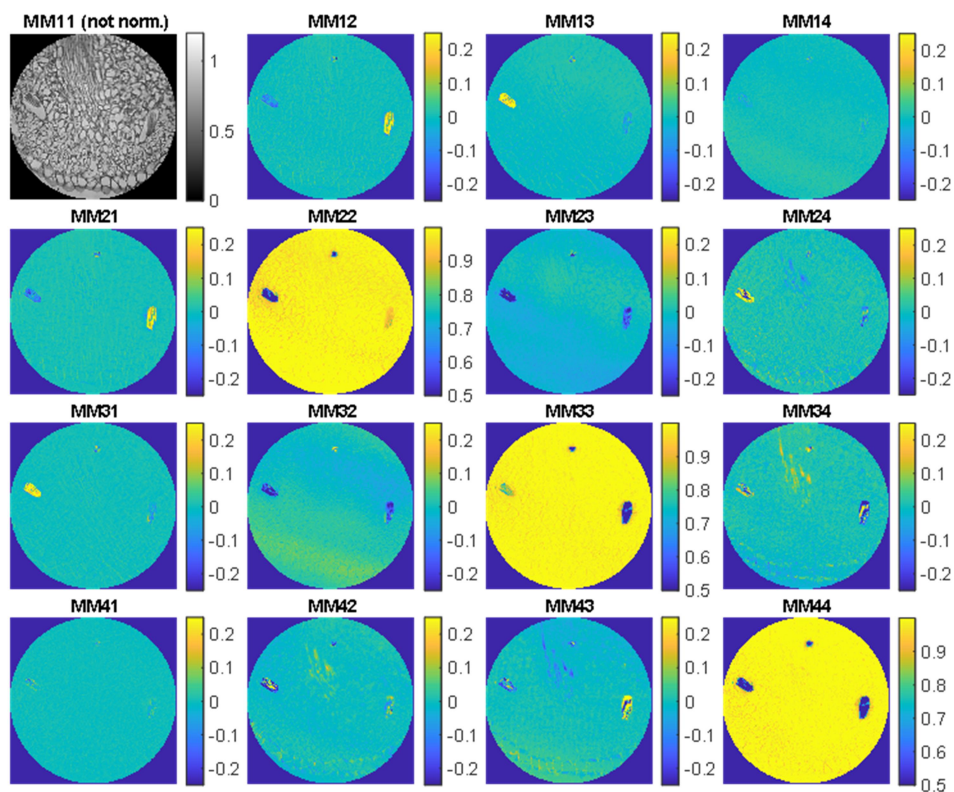


Figure IV.12 Matrice de Mueller d'une coupe transversale d'une feuille de vigne. Obj. 20x, FoV 450  $\mu\text{m}$ .

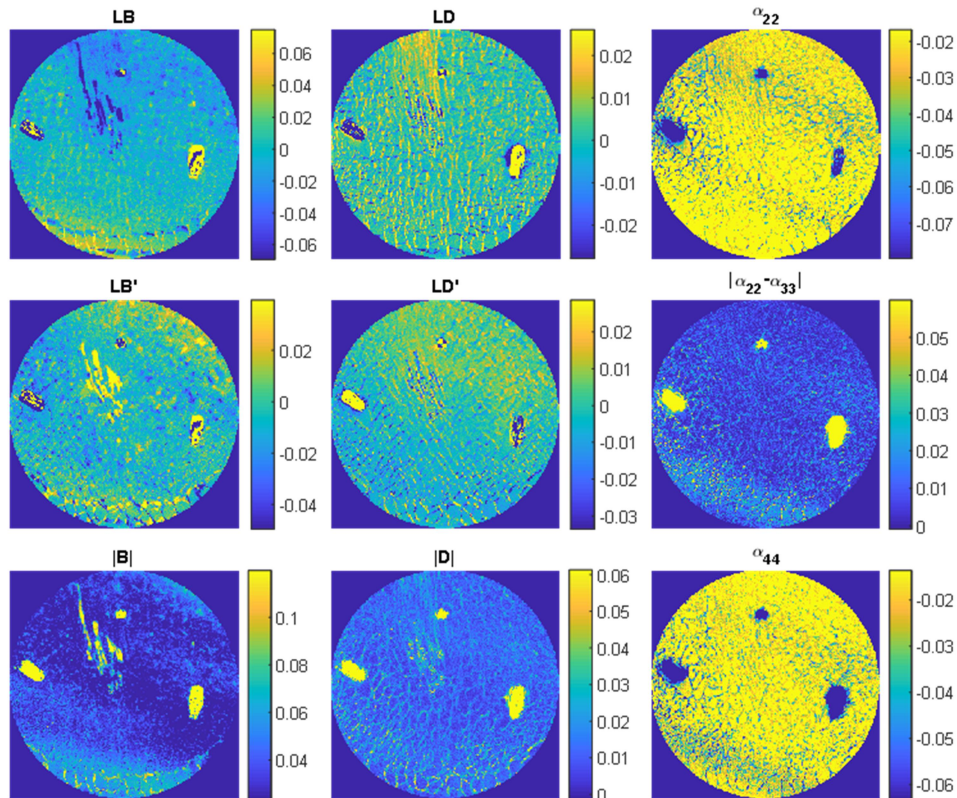


Figure IV.13 Observables obtenus à partir de la décomposition de la matrice de Mueller montrée dans la Fig. IV.12, d'une coupe fine de *Vitis vinifera*. Long. ond. à 530 nm. Objectif 20x, champ de vue 450  $\mu\text{m}$ .

Avant d'examiner avec plus de détail les propriétés polarimétriques des raphides, il est utile de mentionner l'intérêt des observables polarimétriques pour mettre en exergue certains des composants de la feuille de vigne. Sur les images des observables  $LD$  et  $|D|$  par exemple, on voit apparaître très clairement les cellules de forme allongée qui forment l'enveloppe externe des vaisseaux de sève qu'irriguent les feuilles. On peut d'ailleurs voir en comparant les images des observables  $LD'$  et  $LD$  que l'orientation du dichroïsme est plutôt parallèle à l'axe de la veine. Bien que l'objet de notre étude soit tout autre, cette observation donne des pistes pour un travail de recherche sur l'orientation des polymères de cellule, dans les vaisseaux des feuilles.

Afin de mieux étudier les propriétés polarimétriques des raphides ceux-ci ont été imagés avec le plus gros grossissement atteignable par le microscope polarimétrique. Ceci a été réalisé en attachant un objectif zoom sur la caméra qui sert de détecteur à focal variable. En sélectionnant la focale la plus longue sur ce zoom (75mm), il a été possible de multiplier par 2.5 le grossissement normalement obtenu par l'objectif de x20, portant ainsi le grossissement global de l'instrument à x50. Les images ainsi obtenues montrent les détails de la morphologie des raphides avec une grande qualité et précision détails.

A titre d'exemple, les images montrées sur la figure IV.14 montrent un des deux plus gros raphides visibles sur les images des figures IV.12 et IV.13, qui se situe vers le milieu de l'image à gauche. Les images de la figure IV.14 montrent que le raphide n'est pas un monocristal, mais bientôt le résultat de l'assemblage de quelques dizaines de cristaux individuels. Ces cristaux individuels sont très élongés et leur forme peut être comparée à celle d'une aiguille. L'axe long des cristaux individuels mesure environ 80 $\mu\text{m}$  tandis que les axes courts ne mesurent que quelques centaines de nanomètres. Ces dimensions concordent avec celles rapportées dans la littérature [10], et

notamment ceux portant sur l'étude des différents types de dépôts cristallins pouvant avoir lieu sur les plantes appartenant au genre *Vitaceae*, dont font partie les vignes [11,12]. Les images des différents observables polarimétriques montrent que les valeurs de tous eux, que ce soit les paramètres de la dépolarisation, ou bien les propriétés polarimétriques, sont très élevées.

En ce qui concerne la biréfringence, le cas de la biréfringence totale  $|B|$  est assez illustratif, car la valeur de cet observable à certains endroits du raphide (partie inférieure par exemple) peut dépasser les  $\pi$  radians, ou  $180^\circ$ . Des valeurs aussi élevées du retard sont à l'origine du haut niveau de contraste observé sur les images de  $LB$  ou de  $LB'$  entre différentes parties du raphide. En particulier, le fait que le retard de la partie inférieure du raphide soit supérieure à  $\pi$  radians explique la couleur bleue (valeurs négatives) sur les images de  $LB$  et  $LB'$ , ce qui contraste avec les couleurs verte et jaune (valeurs positives) de la partie supérieure. La valeur du retard observé ici sur  $LB$ ,  $LB'$  ou  $|LB|$  est le résultat de la superposition des contributions de chaque cristal individuel qui forme le raphide. La forme du raphide suggère que les cristaux individuels sont tous bien ordonnés selon la même direction, ce qui permet de supposer sans trop prendre de risques, que les retard de chaque cristal individuel s'additionne de façon constructive, pour créer le retard total mesuré sur les différents observables. Malheureusement il n'a pas été possible d'observer des cristaux individuels isolés. Si ceci avait été le cas, il aurait été possible d'en déduire la biréfringence (différence entre les indexes optiques ordinaire et extraordinaire) effective, à partir des mesures de retard et une estimation de l'épaisseur desdits cristaux.

Le dichroïsme linéaire se comporte d'une façon analogue au retard. Il est très prononcé sur l'ensemble du raphide avec des valeurs pouvant atteindre 0.2 radians en moyenne pour l'observable  $|D|$  et des valeurs extrêmes pouvant atteindre les 0.4 radians, tandis qu'il a des valeurs proches de zéro pour le reste d'éléments constitutifs de la feuille de vigne. En absence d'absorption de lumière dans le spectre visible, l'origine du dichroïsme semble être la diffraction et la diffusion de lumière par le relief très acéré du raphide. Ainsi, la présence d'interfaces abruptes, comme par exemple les frontières entre les faces de deux cristaux individuels concomitants, vont donner lieu à une augmentation ponctuelle de la valeur du dichroïsme. En effet c'est sur les images des observables liés au dichroïsme,  $LD$ ,  $LD'$  ou  $|D|$  qu'il est possible de distinguer de la façon la plus nette la forme, la position et les caractéristiques morphologiques des différents cristaux individuels qui forment le raphide. A titre de comparaison il est très intéressant de noter que la valeur moyenne de l'observable  $|D|$  correspond à celle obtenue pour les feuilles entières mesurées sans aucune préparation (voir par exemple figures IV.6 ou IV.7).

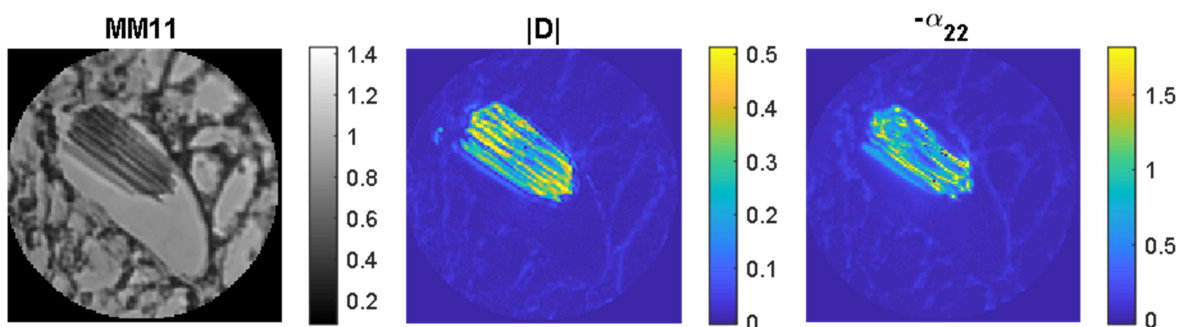


Figure IV.14 Grossissement d'une zone de l'échantillon montrée sur les figures IV.12 et IV.13 centrée sur un des raphides. (Gauche) Intensité non polarisée transmise et (Droite) observables polarimétriques correspondants obtenus à partir de la décomposition de la matrice de Mueller. Lumière à 530 nm. Objectif 50x, champ de vue  $70 \mu\text{m}$ .

Cette coïncidence est un argument qui appuie la cohérence de l'identification faite entre les structures elliptiques visibles par exemple sur la figure IV.5 discutées dans la section précédente, et les raphides trouvés sur les sections transverses des feuilles de vigne.

Concernant la dépolarisation, il est aussi clair à partir des valeurs des coefficients de dépolarisation  $\alpha_{22}$  ou  $\alpha_{44}$ , que le raphide dépolarise beaucoup la lumière. Sur les images à haute magnification de la figure IV.14 il est possible d'observer que la dépolarisation n'est pas répartie de façon homogène sur le raphide, sinon qu'elle fluctue en fonction de la structure et de l'empilement des cristaux individuels qui le forment. Bien que la valeur moyenne des coefficients soit de -0.71 et de -0.62 pour les coefficients  $\alpha_{22}$  ou  $\alpha_{44}$  respectivement, des valeurs extrêmes de -2.1 et -1.98 respectivement on peut être observés sur deux coefficients.

Ces valeurs, moyennes ou extrêmes, sont parfaitement compatibles à celles mesurées sur les feuilles de vigne entières sans préparation, voir par ex. figure IV.7, ce qui confirme le bienfondé de l'identification des tâches elliptiques observées sur les feuilles entières et les raphides trouvés sur les coupes transverses.

### IV.2.3. Caractérisation de Coupes Fines Transverses de Feuilles de Vigne par Microscopie Infrarouge Non-polarisée Multispectrale

Cette section est consacrée à discuter les résultats de la caractérisation de feuilles de vigne préparées en coupes fines par polarimétrie infrarouge. Dans le domaine d'onde visible, le fait que les feuilles soient transparentes entre 500 et 600 nm, a facilité beaucoup la réalisation de mesures, cependant, dans le domaine infrarouge, les feuilles de plantes, y compris les feuilles de vigne, présentent des bandes d'absorption très intenses qui empêchent la transmission de la lumière. Ainsi la nécessité de préparer ou non des coupes minces pour observation est dictée par le niveau d'absorption des échantillons dans le domaine de longueurs d'onde à utiliser.

La figure IV.15 montre un exemple de mesure en imagerie multispectrale infrarouge réalisée sur une feuille de vigne âgée de 2 semaines. Les images rapportées sur la figure ont été prises avec un microscope infrarouge multispectrale commercial (Agilent Cary 600 FPA FTIR microscope) non-polarimétrique. La feuille a été mesurée en configuration de transmission, et placée, comme dans le microscope polarimétrique visible, entre le condensateur et l'objectif d'imagerie (Cassegrain inversé de 20x). Le champ de vue ainsi obtenu était de 500x500  $\mu\text{m}$ . Le microscope multispectral permet l'obtention d'une collection d'images prises, chaque une à une longueur d'onde donnée, dans un domaine spectral défini par l'utilisateur. Dans le cas rapporté ici, les images ont été prises entre 3700  $\text{cm}^{-1}$  et 900  $\text{cm}^{-1}$  (2.7 et 11  $\mu\text{m}$ ) avec une résolution de 8  $\text{cm}^{-1}$ . Afin de faciliter l'identification des zones mesurées dans le spectre infrarouge, une image visible à 550 nm a été prise dans les mêmes conditions de prise de vue que les images infrarouges.

Sur les images en transmission on peut voir une zone claire correspondant à l'intersection de trois veines sur un fond un peu plus sombre. La graphique située en bas de la figure montre la dépendance spectrale de la transmissivité de la feuille mesurée sur deux zones différentes des images. La première zone, signalée par un petit cercle sur les images, se situe sur le croisement de trois veines. La deuxième zone, signalée par un petit carré sur les images, se situe sur une zone homogène sans veines. Les mesures spectrales montrent que la feuille de vigne est transparente à



l'infrarouge sur deux bandes spectrales bornées entre  $1700\text{ cm}^{-1}$  et  $2500\text{ cm}^{-1}$  pour la première, et entre  $3620\text{ cm}^{-1}$  et  $4000\text{ cm}^{-1}$  pour la deuxième. Le nombre d'ondes de deux des images infrarouges montrées sur la figure IV.15 est  $1859\text{ cm}^{-1}$  et  $3700\text{ cm}^{-1}$ , ce qui correspond au maximum de transmittance des deux bandes spectrales de transparence infrarouge. La troisième image, prise à  $1330\text{ cm}^{-1}$  correspond au nombre d'ondes pour lequel le microscope polarimétrique infrarouge produit typiquement le plus grand signal. Les images à  $1859\text{ cm}^{-1}$  et  $3700\text{ cm}^{-1}$  sont très similaires à l'image prise dans le visible, mais malheureusement, l'image à  $1330\text{ cm}^{-1}$  ne montre que du bruit car toute la puissance infrarouge émise par la source de lumière à cette fréquence, est absorbée par l'échantillon. Compte tenu du fait que la plage spectrale de travail du microscope polarimétrique infrarouge s'étend entre  $900\text{ cm}^{-1}$  et  $1400\text{ cm}^{-1}$ , les résultats de la figure précédente indiquent qu'il n'est pas possible de mesurer des feuilles de vigne entières avec notre appareil, à l'instar de ce qui a été fait dans le visible, car l'absorption dans cette zone spectrale empêche les photons infrarouges d'arriver sur le détecteur. En conséquence, les mesures de matériaux végétaux réalisées avec le microscope polarimétrique infrarouge doivent être faites sur des coupes très fines, de quelques dizaines de micron d'épaisseur seulement, afin de pouvoir mesurer un signal suffisamment intense pour être exploitable et converti en données polarimétriques.

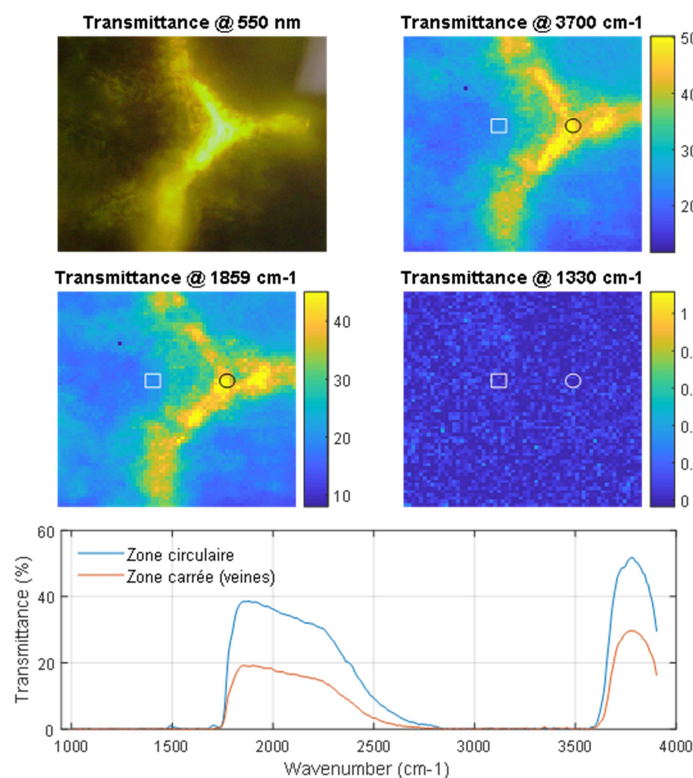


Figure IV.15 Image multispectrale d'un fragment de feuille de vigne fraîche sans préparation mesurée en transmission au microscope infrarouge non-polarimétrique. Une image prise dans le visible à 550 nm, et trois images infrarouges aux nombres d'ondes indiqués sont présentées. Dépendance spectrale de la transmittance infrarouge mesurée sur deux petites zones (carrés ou cercles) est aussi présentée.

La figure IV.16 montre à titre d'exemple des images non-polarimétriques prises à différentes longueurs d'onde correspondant à une coupe mince d'une feuille de vigne âgée de trois semaines, déparaffinée et non-teinte. L'échantillon examiné avait été monté sur un substrat en verre, raison pour laquelle les mesures ont été faites en configuration de réflexion. Pour ce faire, le rayonnement infrarouge était focalisé et imagé via le même objectif, un Cassegrain inversé de magnification x20.

Le champ de vue était de 500 x 500  $\mu\text{m}$ . En complément des images, la figure montre aussi la réponse spectrale de la réflectivité dans le domaine compris entre 950  $\text{cm}^{-1}$  et 3800  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à deux zones différentes sélectionnées sur l'échantillon.

La première zone, signalée sur les images avec un petit carré, correspond à un des raphides, tandis que la deuxième zone, signalée par un cercle, correspond à un fragment contenant des tissus végétaux. La réflectivité de la zone correspondant au raphide a une réponse très singulière et différente de celle du tissu végétal qui l'entoure. Dans cette zone, il est possible de distinguer notamment quatre pics très intenses et fins à 1623, 1319, 1207 et 1038  $\text{cm}^{-1}$ , accompagnés d'une série de pics secondaires, moins intenses, à 1539, 1466 et 1311  $\text{cm}^{-1}$ . La réflectivité de la zone contenant des cellules et du tissu végétal, présente une bande assez intense et large comprise entre 1196 et qui s'étend au-delà de 956  $\text{cm}^{-1}$ . Tant le raphide comme le tissu végétal présentent une bande d'intensité moyenne et assez large situé entre 3500 et au-delà de 3900  $\text{cm}^{-1}$ .

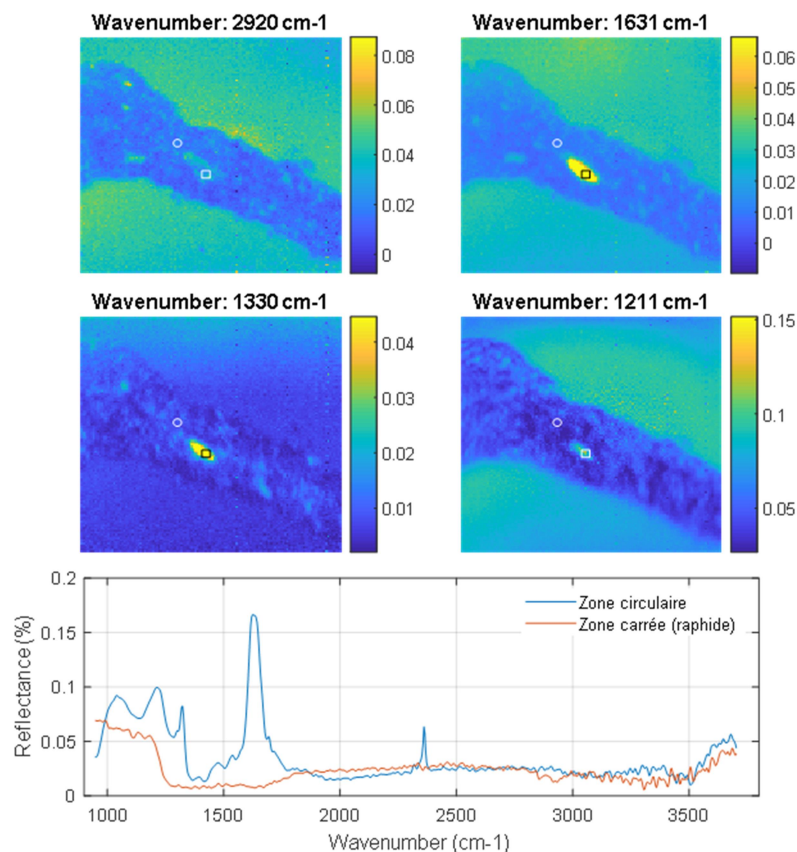


Figure IV.16. Images d'une coupe fine d'une feuille de vigne sans préparation mesurée en réflexion au microscope infrarouge non-polarimétrique prises à quatre longueurs d'onde différentes. Dépendance spectrale de la réflectance infrarouge mesurée sur deux petites zones (carrés ou cercles) sur les images.

Selon la bibliographie, la plupart de raphides trouvés dans des végétaux sont en oxalate de calcium, lequel peut cristalliser en trois formes minérales, la whewellite correspondant à l'oxalate monohydrate ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), la weddelite correspondant à l'oxalate dihydrate ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), et la caoxite, correspondant à l'oxalate trihydrate ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) [10-12]. Parmi les trois formes, la whewellite serait la plus stable, et serait aussi plus abondante parmi les raphides et les druses.

La figure IV.17 a été reproduite à partir de [13] et représente l'absorbance infrarouge des trois formes d'oxalate : monohydrate, dihydrate et trihydrate, mesurés en transmission. Cette figure sert de référence ici afin d'identifier l'espèce présente dans nos raphides. Le spectre de réflexion du raphide représenté dans la figure IV.16 présente deux pics très intenses et caractéristiques situés à 1623 et à 1319  $\text{cm}^{-1}$  respectivement. Ces positions correspondent très précisément à celles de l'oxalate monohydrate rapportés dans la figure IV.17. D'ailleurs, le pic principal de l'spectre en réflexion du raphide montre un léger épaulement à 1642  $\text{cm}^{-1}$ , très proche de l'épaulement à 1645  $\text{cm}^{-1}$  rapporté en [13] pour l'oxalate monohydrate ce qui confirme la similitude entre la signature spectrale du raphide et de l'oxalate monohydrate. La position d'absorption du pic le plus intense pour l'oxalate mono et trihydrate, situé à 1623 et 1624  $\text{cm}^{-1}$  respectivement, pourrait donner des indications ambiguës, cependant, la position du deuxième pic à 1319  $\text{cm}^{-1}$  pour l'oxalate monohydrate et à 1327  $\text{cm}^{-1}$  pour l'oxalate trihydrate, permet l'identification certaine de la forme présente dans les raphides comme étant de l'oxalate monohydrate. Les positions du pic le plus intense et du pic secondaire ; 1640 et 1325  $\text{cm}^{-1}$  respectivement, de l'oxalate dihydrate, sont suffisamment différentes de celles mesurées pour le raphide pour pouvoir affirmer que cette forme particulière n'y est pas présente d'une façon significative.

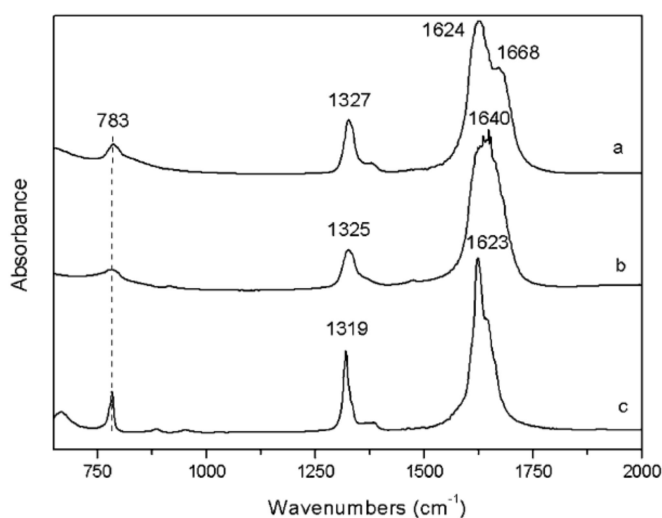


Figure IV.17. Absorbance d'oxalate trihydrate, (a), d'oxalate dihydrate (b) et d'oxalate monohydrate (c) mesurés en transmission. Figure reproduite de [13] avec l'autorisation de l'éditeur.

En conclusion, la comparaison de la dépendance spectrale de la réflectance du raphide avec les données de la littérature indiquent de façon non équivoque qu'il est formé majoritairement d'oxalate de calcium monohydrate (whewellite), qui est d'ailleurs la phase la plus stable et plus fréquemment trouvé dans des tissus végétaux.

#### IV.2.4. Caractérisation de Coupes Minces Transverses de Feuille de Vigne par Microscopie Polarimétrique Infrarouge

Cette section présente les résultats les plus intéressants et représentatifs correspondant à la caractérisation de raphides par microscopie polarimétrique infrarouge en transmission. Afin d'éviter des difficultés liées à l'absorption du verre silicaté et à la présence de paraffine, les échantillons utilisés pour cet étude ont été préparés par la technique de cryotomie sans utiliser de la paraffine



comme élément fixant pour réaliser les coupes minces. Les coupes obtenues ont été déposés sur des substrats en BaF<sub>2</sub> de 0.3 mm d'épaisseur, qui est un matériau transparent dans le domaine spectral entre 150 nm et 12 µm.

Suite au processus de coupe à froid, des raphides de tailles diverses, plus ou moins fracturés, ont été retrouvés dans environ dix substrats sur un total de trente préparations réalisées. Parmi les échantillons contenant des raphides il y a été possible d'en trouver cinq pour lesquels le processus mécanique de coupe avait permis de séparer physiquement les raphides du tissu végétal environnant. Ceci présente un clair intérêt pour la caractérisation, car le fait de disposer de raphides isolés a permis d'éviter l'effet de l'absorption ou de la dissipation de lumière infrarouge créée par le tissu végétal, ce qui aurait eu comme conséquence la réduction du signal mesuré et la dégradation de la qualité des mesures.

La figure IV.18 montre à titre d'exemple deux cas correspondant à un raphide qui est resté enveloppé par le tissu végétal et un raphide isolée. Les images rapportées dans cette figure ont été mesurées avec un microscope standard (Olympus CX41) en lumière blanche et entre polariseurs croisés. La biréfringence et la diffusion des raphides à des longueurs d'onde visibles fait qu'ils apparaissent très brillants et facilement différenciables du tissu végétal, en vert foncé, et du substrat environnant, en violet. Le raphide isolé montré dans la figure IV.18 c) présente une forme en chevron, il a été probablement fracturé pendant le processus de coupe. Sur l'image de droite IV.18 d) prise avec une grande magnification (objectif de 20x), on observe que le raphide a été brisé en trois fragments. Le fragment situé plus à gauche est le mieux préservé. On distingue notamment un ensemble de petits cristaux en forme d'aiguille groupés dans la même direction, comme dans les raphides intacts, voir fig. IV.14 par exemple. Sur le fragment du centre, les cristaux ont été disloqués, on observe trois sous-groupes orientés différemment. Enfin, on voit un troisième fragment, à droite, plus petit que les autres deux fragments, assez bien préservé et dont la direction des petits cristaux qui le forment est à peu la même que celle des cristaux du fragment à gauche. Ce petit fragment est partiellement entouré de tissu végétal. Malgré la présence de défauts structuraux évidents liés à la préparation, le raphide montré dans la figure IV.18 est le plus grand et le mieux isolé du tissu végétal environnant parmi l'ensemble des raphides préparés pour cette étude. Il a donc été choisi pour illustrer les résultats de la caractérisation par microscopie polarimétrique infrarouge.

La figure IV.19 montre la matrice de Mueller correspondant au raphide en chevron représenté sur la figure IV.18 mesuré 1335 cm<sup>-1</sup>, ce qui correspond à 7.5 µm. Cette longueur d'onde, qui ne correspond à aucun pic d'absorption de l'oxalate de calcium a été choisie car elle correspond au maximum du signal mesuré par le microscope polarimétrique. Comme pour les autres matrices de Mueller discutées dans ce chapitre, tous les éléments de la matrice ont été normalisés par rapport à l'élément de matrice MM11, le seul à être montré non normalisé (en blanc sur noir) pour le différencier des autres. Comme pour les matrices de Mueller présentées précédemment, (figure IV.5 par exemple), les limites de l'échelle de couleur correspondant aux éléments de la diagonale principale de la matrice de Mueller sont différentes de celles des échelles de couleur des autres éléments de matrice afin de faciliter la visualisation. Dans tous les cas, le domaine de variation des échelles de couleur, est et égal à 0.5 afin de ne pas introduire des biais liés à la perception visuelle des images. L'image polarimétrique a été prise avec un objectif réflectif de type Cassegrain inversé avec une magnification de 20x. La taille du champ de vue est d'environ 150 µm et comparable à celle de l'image représentée sur la figure IV.18d). L'image infrarouge permet de visualiser la présence du raphide en forme de chevron, une partie du tissu végétal avoisinant, et le substrat vierge sur lequel l'échantillon a été déposé. L'absorption et ou la diffusion du tissu végétal fait que sa transmittance soit très proche de zéro, tandis que celle du raphide, transparent mais diffusant, est plus élevée. La

transmittance du substrat en  $\text{BaF}_2$ , étant transparent et parfaitement poli, est proche de l'unité car les pertes par réflexion sont faibles. L'indice de réfraction du  $\text{BaF}_2$ ,  $n \sim 1.42$  @  $8 \mu\text{m}$ , est plutôt bas.

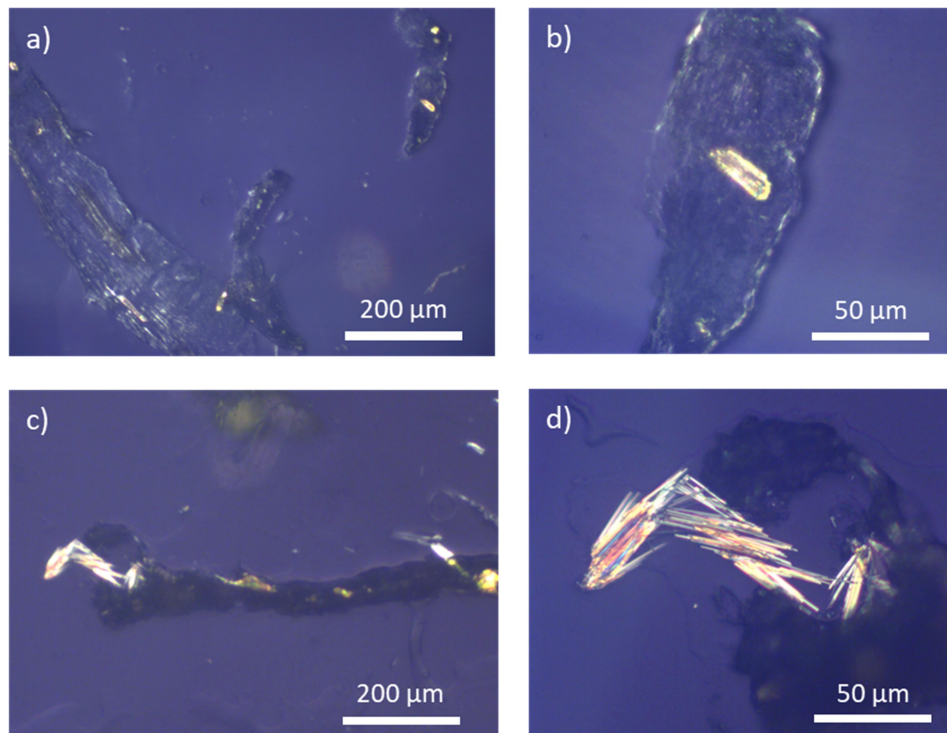


Figure IV.18. Images de coupes déparaffinées et non-colorées de feuilles de vigne prises entre polariseurs croisés et lumière blanche (visible). Images a) et b) : raphides entourés de tissu végétal (objectif de 5x et 20x resp). Images c) et d) : raphide fragmenté, en forme de chevron, et isolé du tissu végétal (objectif de 5x et 20x).

La caractéristique la plus saillante et visible sur toutes les éléments de la matrice de Mueller, est le contour qui sépare le tissu végétal du substrat et du raphide. Bien qu'à ce jour il n'y a pas d'explication pleinement satisfaisante pour justifier ou interpréter cet effet, il est probable qu'il soit dû soit à un artefact de mesure à cause d'un petit déplacement de l'image due à la rotation des retardateurs, soit à un vrai effet physique lié à la diffraction et à la diffusion de la lumière infrarouge par les bords du tissu végétal. Dans le premier cas, l'artefact dû au déplacement des images prises pendant la mesure, serait plus visible pour cet échantillon que pour d'autres à cause notamment de la grande différence du niveau de signal (donc de la transmittance) mesurée qui existe entre le tissu végétal et le substrat.

Les deux bras du raphide en chevron, constitués par les deux fragments les plus grands (figure IV.18d)) sont également bien visibles sur les paires d'éléments de matrice MM12, MM13, et MM21, MM31, liés au dichroïsme linéaire et à la polarizance linéaire respectivement. Ces deux bras sont un peu moins visibles sur les quatre éléments de matrice MM24, M34, MM42 et MM43 liés au retard linéaire. Le substrat, quant à lui, présente les valeurs typiques d'une matrice diagonale unité caractéristique d'un matériau transparent isotrope et dépourvu de propriétés polarimétriques.

La figure IV.20 montre l'ensemble de propriétés polarimétriques  $LB$ ,  $LB'$ ,  $CB$ ,  $LD$ ,  $LD'$ , et  $CD$  ainsi que les coefficients de dépolarisation  $\alpha_{22}$ ,  $\alpha_{33}$ ,  $\alpha_{44}$  obtenus directement par la décomposition différentielle de la matrice de Mueller montrée sur la figure IV.19. La figure IV.20 montre également les observables  $|D|$ ,  $|B|$  et  $|\alpha_{22} - \alpha_{33}|$  dérivés. Les valeurs affichées sur l'échelle de couleur pour les propriétés polarimétriques de la figure sont toutes exprimés en radians tandis que les coefficients de dépolarisation sont, quant à eux, sans unités. Comme discuté dans le paragraphe précédent, le raphide présente surtout du dichroïsme et du retard linéaire, tandis que le dichroïsme et le retard

circulaires sont à peine différenciables du fond, raison pour laquelle elles ne seront pas traitées par la suite.

Bien que les mesures aient été faites pour une longueur d'onde qui ne correspond pas au maximum d'un pic d'absorption, le dichroïsme associé à la résonance la plus proche spectralement reste important et en fait l'observable le plus important pour cet échantillon. Mis à part le bord du tissu végétal dont l'origine n'est pas élucidé, le dichroïsme sur l'image provient surtout du raphide, et grâce à lui il est possible de visualiser les deux fragments les plus gros qui forment les bras du chevron. L'observable  $|D|$  donne une valeur du dichroïsme d'environ  $1 \pm 0.3$  rad ( $60^\circ \pm 20^\circ$ ). Les observables  $LD$  et  $LD'$  apportent une information complémentaire, liée à l'orientation des petits cristaux qui se trouvent sur les fragments du raphide. Ceci est particulièrement bien visible sur l'image de l'observable  $LD'$ . Sur cette image le bras gauche (en jaune) du chevron a des valeurs positives car il se trouve orienté à  $45^\circ$  par rapport à un repère X-Y (horizontal-vertical), tandis que le bras droit du chevron (en bleu foncé) a des valeurs négatives car il est orienté à environ  $-45^\circ$  par rapport au même repère.

Malgré le fait que le retard linéaire est moins important que le dichroïsme, l'image de l'observable  $|B|$  permet également de visualiser le raphide et de distinguer clairement la position et l'orientation des différents fragments. A partir de l'observable  $|B|$  il est possible de déterminer une valeur de  $0.35 \pm 0.1$  rad ( $19^\circ \pm 6^\circ$ ). Cette valeur est à comparer avec les 3.14 radians de retard typiquement mesurés à des longueurs d'onde dans le visible (530 nm). Compte tenu du fait que la longueur d'onde utilisée pour les mesures infrarouges est 14 ( $7.4\mu\text{m}/0.53\mu\text{m}$ ) fois plus grande que celle utilisée pour des mesures dans le visible, et aussi du fait que le retard est inversement proportionnel à la longueur d'onde, il n'est pas étonnant d'observer pour un même objet un retard 10 plus petit dans l'infrarouge que dans le visible.

Dans le même sens, les trois observables liés à la dépolarisation indiquent que celle-ci est plus petite que celle mesurée dans le visible. En tout cas, et par rapport à ce qui a été discuté concernant les mesures du raphide dans la visible (figures IV.13 et IV.14), on constate ici un moins net contraste entre le raphide et le fond environnant. Ceci peut s'expliquer en examinant de plus près les deux origines possibles de la dépolarisation pour cet échantillon : la lumière diffusée, et, le manque d'uniformité au niveau de la distribution des propriétés polarimétriques.

En ce qui concerne la lumière diffusée, le rapport de taille entre les longueurs d'onde du rayonnement infrarouge et visible fait que les phénomènes de diffusion soient moins importants dans l'infrarouge que dans le visible ce qui favorise une diminution de la dépolarisation due à la diffusion de la lumière dans l'infrarouge. En ce qui concerne le manque d'homogénéité au niveau des propriétés polarimétriques, il a été montré récemment grâce à un modèle dit du retardateur fluctuant [13], que lorsque on est en présence d'un milieu anisotrope biréfringent plus ou moins ordonné, comme l'ensemble des petits cristaux qui forment le raphide, la valeur de la dépolarisation dépend du niveau de désordre, mais aussi de la valeur moyenne de la biréfringence du milieu. Schématiquement parlant, d'après le modèle du retardateur fluctuant suggère que lorsque un considère un milieu anisotrope avec un niveau de désordre donnée, la dépolarisation augmente avec le retard moyen du milieu et vice-versa. Par exemple, un milieu ayant très peu de retard, donc avec un comportement polarimétrique presque neutre, montrera une toute petite dépolarisation, même s'il est pratiquement désordonné. Dans le cas du raphide, le désordre (ou le manque d'homogénéité) est déterminé par la disposition des petits cristaux qui le forment, et logiquement ce désordre est indépendant de la longueur d'onde de la lumière utilisée pour le mesurer.

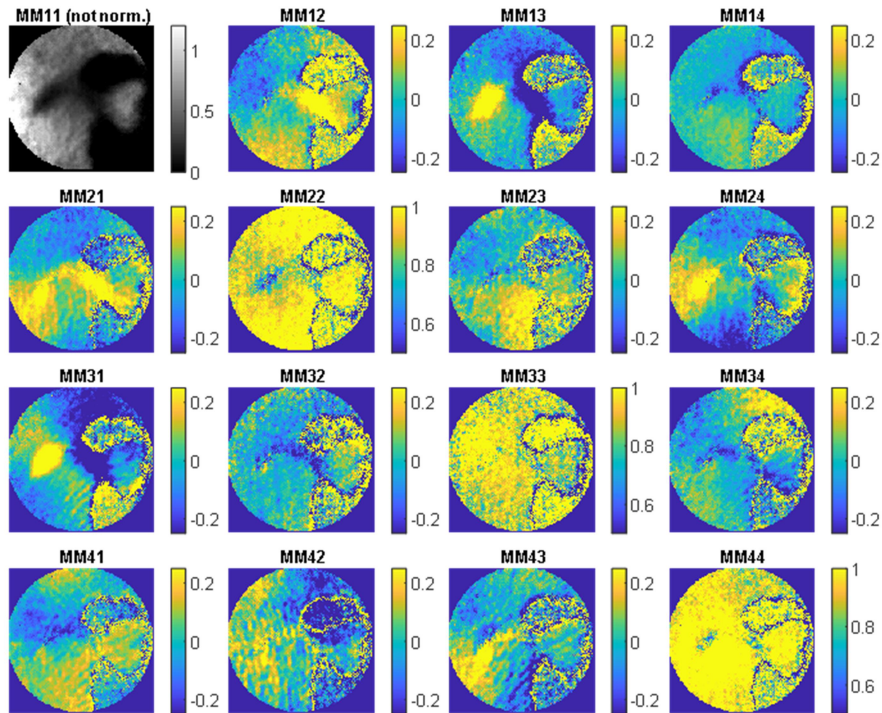


Figure IV.19. Matrice de Mueller correspondant à un raphide isolé préparé à partir d'une coupe mince d'une feuille de *Vitis vinifera* âgée de deux semaines. Obj. 20x, FoV 150  $\mu\text{m}$ . Long. d'ond. 8.85  $\mu\text{m}$  ( $1335\text{ cm}^{-1}$ )

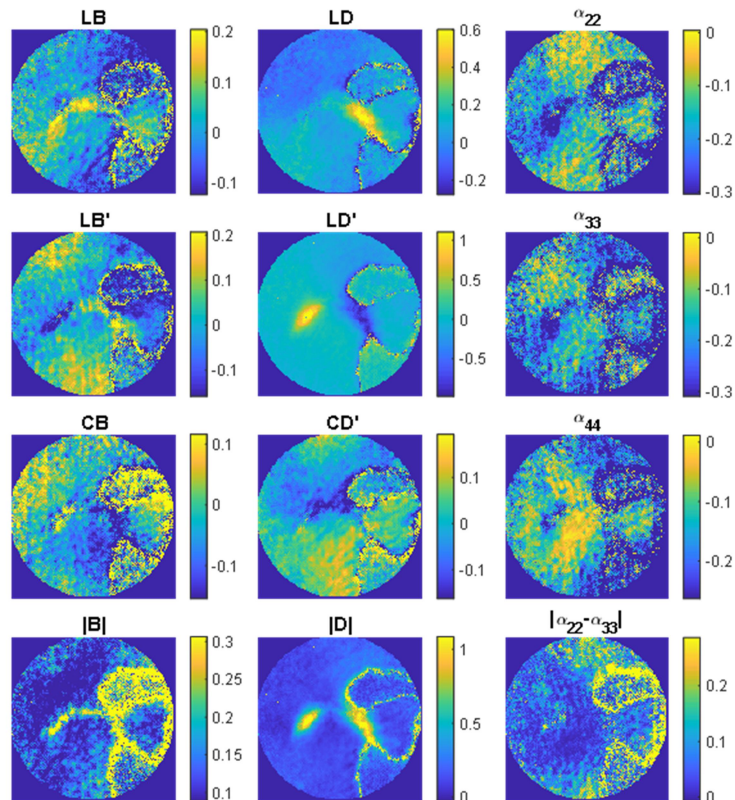


Figure IV.20. Observables polarimétriques (fig. IV.19) correspondant. Observables liés à la biréfringence (colonne à gauche) au dichroïsme (colonne centrale) et à la dépolarisation (colonne à droite). Nombre d'ondes Ondes :  $1335\text{ cm}^{-1}$  ( $7.49\text{ }\mu\text{m}$ ), Obj. 20x, FoV 150  $\mu\text{m}$ .

Les propriétés polarimétriques du raphide, comme le retard, dépendent quant à elles de la longueur d'onde. On a vu que le retard est bien plus grand dans le visible que dans l'infrarouge. Ainsi, en accord avec le modèle du retardateur fluctuant la dépolarisation produite par une distribution non-homogène de cristaux ayant un grand retard (visible) serait plus grande que la dépolarisation produite par la même distribution de petits retards (infrarouge), ce qui correspond aux observations expérimentales.

Afin d'explorer la dépendance spectrale des propriétés polarimétriques des raphides, des matrices de Mueller ont été mesurées à plusieurs longueurs d'onde entre  $1300\text{ cm}^{-1}$  ( $7.6\ \mu\text{m}$ ) et  $1390\text{ cm}^{-1}$  ( $7.19\ \mu\text{m}$ ). Les propriétés polarimétriques représentés par chacune de ces matrices de Mueller ont été obtenues par application de la méthode de la décomposition différentielle. Les figures IV.21 et IV.22 montrent respectivement des images des observables  $|D|$  et  $|B|$  correspondant à l'ensemble des longueurs d'onde utilisées. En accompagnement des images des observables, chacune des figures, IV.21 et IV.22, comprennent un graphique montrant la valeur de l'observable  $|D|$  et  $|B|$  du fragment de droite (le plus grand et régulier) du raphide en fonction du nombre d'ondes. La valeur rapportée de  $|D|$  et  $|B|$  sur les graphiques a été obtenue comme la médiane d'un ensemble de pixels situés à l'intérieur du fragment de raphide considéré. La position exacte des pixels utilisés pour l'évaluation est indiquée sur les images des observables  $|D|$  et  $|B|$  par des petites lignes (en noir ou violet selon la couleur du fond correspondant). Les barres d'erreur sur les graphiques ont été évaluées à partir de la déviation standard de valeurs utilisées pour l'évaluation des valeurs médianes. La médiane a été préférée à la moyenne comme figure pour éviter des éventuels biais dus à la présence de valeurs extrêmes indésirables dus à d'éventuels artefacts de mesure.

La dépendance spectrale du dichroïsme et du retard, figures IV+21 et IV+22, montre la présence de deux résonances situées à  $1315$  et à  $1345\text{ cm}^{-1}$ , qui se manifestent sous la forme de pics et d'inflexions pour les observables  $|D|$  et  $|B|$  respectivement. Ce comportement est en plein accord avec la dépendance spectrale typique du coefficient d'absorption et de l'indice de réfraction dans l'infrarouge, souvent caractérisée par la présence de résonances dues aux vibrations des atomes et molécules dans la matière. Les observables  $|D|$  et  $|B|$  trouvent leur origine en la différence entre les coefficients d'absorption ordinaire et extraordinaire, et de la différence entre les indices de réfraction ordinaire et extraordinaire de l'échantillon respectivement, et donc il est tout à fait normal qu'ils montrent la même dispersion que les grandeurs fondamentales dont ils dépendent.

La résonance à  $1315\text{ cm}^{-1}$  [13, 16, 17] est attribuée par la plupart d'auteurs et sans ambiguïté à un mode d'élongation symétrique de du groupe ( $\text{CO}_2$ ) faisant partie de l'ion oxalate. D'après une image mécaniciste classique, ce mode de vibration peut être imaginé comme un mouvement d'oscillation harmonique pendant lequel les deux atomes d'oxygène du groupe  $\text{CO}_2$  s'écartent et s'approchent en opposition de phase (l'un s'approche quand l'autre s'écarte) de l'atome de carbone auquel ils sont liés. D'ailleurs, ce mode est à l'origine d'un des pics d'absorption les plus importants et caractéristiques de la whewellite discutés dans une sous-section précédente (voir p.e. figs. IV.16 et IV.17).

L'attribution de la résonance à  $1345\text{ cm}^{-1}$  est moins certaine, par exemple [17] semble l'assigner à une combinaison de deux modes de torsion 'rocking', symétrique et assymétrique, se manifestant autour de  $516\text{ cm}^{-1}$  en dehors du domaine accessible au microscope polarimétrique infrarouge. Dans la même étude, [17] suggère une assignation alternative selon laquelle la résonance serait due à une combinaison d'un mode d'élongation de la liaison C-C entre les deux atomes carbone de l'ion oxalate situé à  $862\text{ cm}^{-1}$ , et un mode de déformation 'rocking' symétrique du groupe  $\text{CO}_2$  de l'ion oxalate inactif dans l'infrarouge mais actif en Raman à  $517\text{ cm}^{-1}$ . Bien que Shippey mentionne les deux



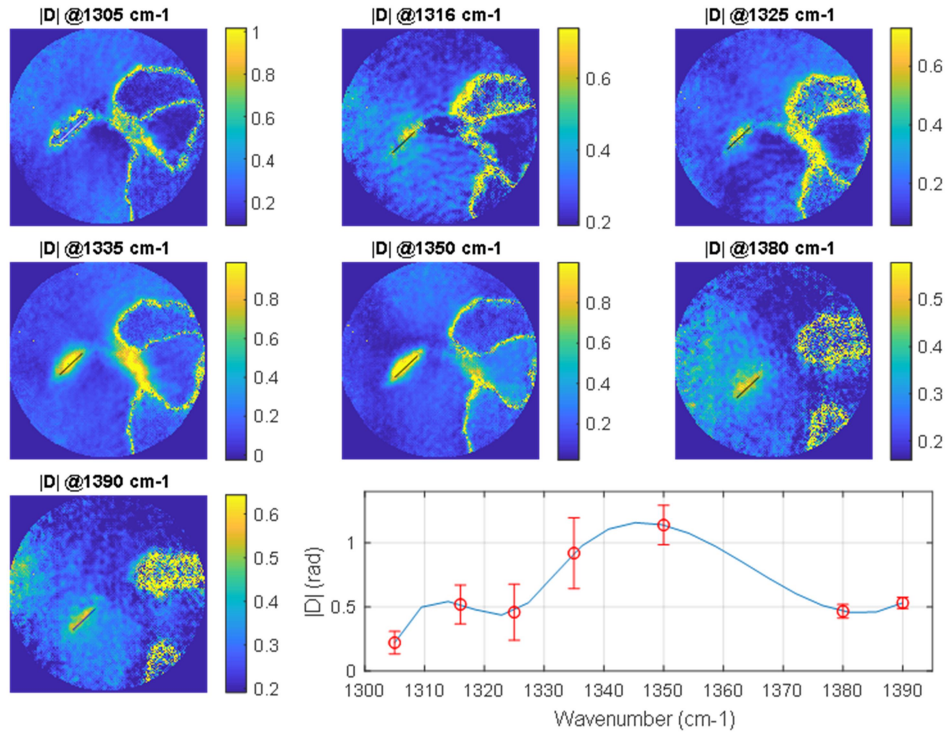


Figure IV.21. Images de l'observable  $|D|$  obtenues à plusieurs longueurs d'ondes correspondant au raphide montré sur les figures IV.18 à IV+20. La figure en bas de la figure montre la valeur spectrale médiane de  $|D|$  mesurée sur le fragment de droite du raphide (lignes droites).

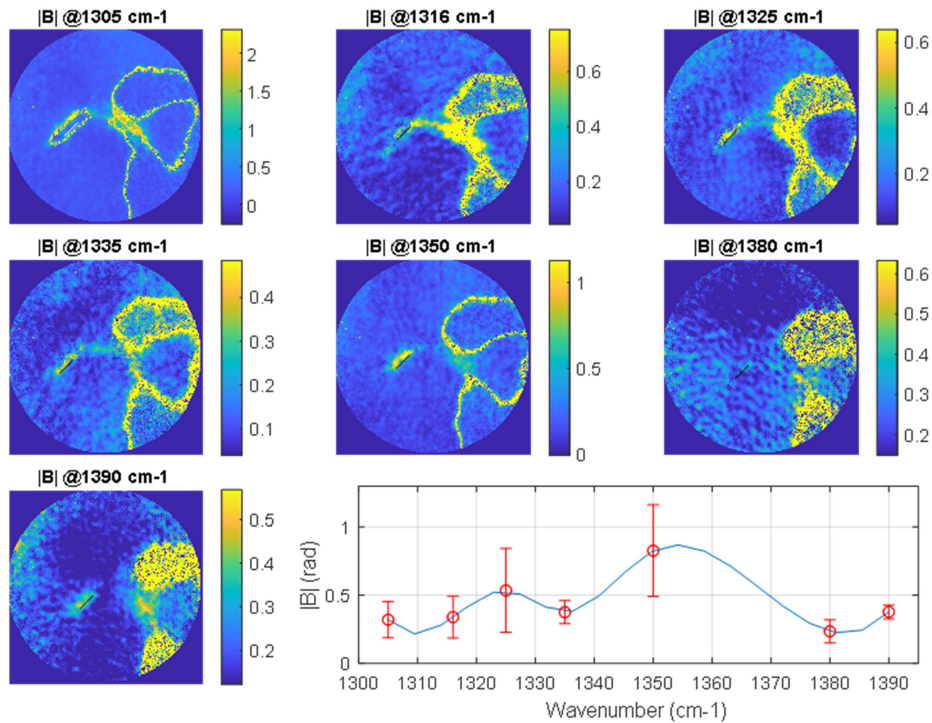


Figure IV.22. Images de l'observable  $|B|$  obtenues à plusieurs longueurs d'ondes correspondant au raphide montré sur les figures IV.18 à IV+20. La figure en bas de la figure montre la valeur spectrale médiane de  $|B|$  mesurée sur le fragment de droite du raphide (lignes droites).

possibilités dans son travail publié en 1980 il semble cependant privilégier la première d'entre elles. L'attribution n'est plus certaine dans le travail de Petrov et al. [14] puisqu'il est question soit d'un mode d'élongation asymétrique du groupe  $\text{CO}_2$ , différent du mode donnant lieu à la résonance située à  $1315 \text{ cm}^{-1}$ , ou bien d'une combinaison de bandes sans détailler. Cette résonance, étant faible, n'est pas considérée dans [13].

L'étude de l'orientation du dichroïsme et de la biréfringence peut donner une clé pour l'assignation de la résonance à  $1345 \text{ cm}^{-1}$ . Les graphes a) et c) représentées dans la figure IV.23 représentent des valeurs des couples d'observables  $LD$ ,  $LD'$  et  $LB$ ,  $LB'$  respectivement. Ces valeurs ont été calculées à suivant la même méthode et à partir des mêmes pixels que les valeurs des observables  $|D|$  et  $|B|$  représentées sur les figures IV.21 et IV.22 respectivement. L'orientation de la biréfringence et du dichroïsme évaluée à partir des couples d'observables correspondants est représentée sur les graphes b) et d) respectivement. Bien que l'orientation de  $LD$  et l'orientation de  $LB$  aient été obtenues à partir de couples de données indépendantes, elles sont concordantes. Dans l'absolu, l'orientation tant de  $LD$  comme de  $LB$  est mesurée en prenant comme référence un repère fixe (celui du laboratoire) par rapport auquel l'échantillon est placé. Puisque l'orientation de celui-ci peut être en principe arbitraire, ce qui compte ici c'est l'angle relatif entre les résonances à  $1315 \text{ cm}^{-1}$  et à  $1345 \text{ cm}^{-1}$ , qui d'après les données expérimentales est d'environ  $70 \pm 20^\circ$ .

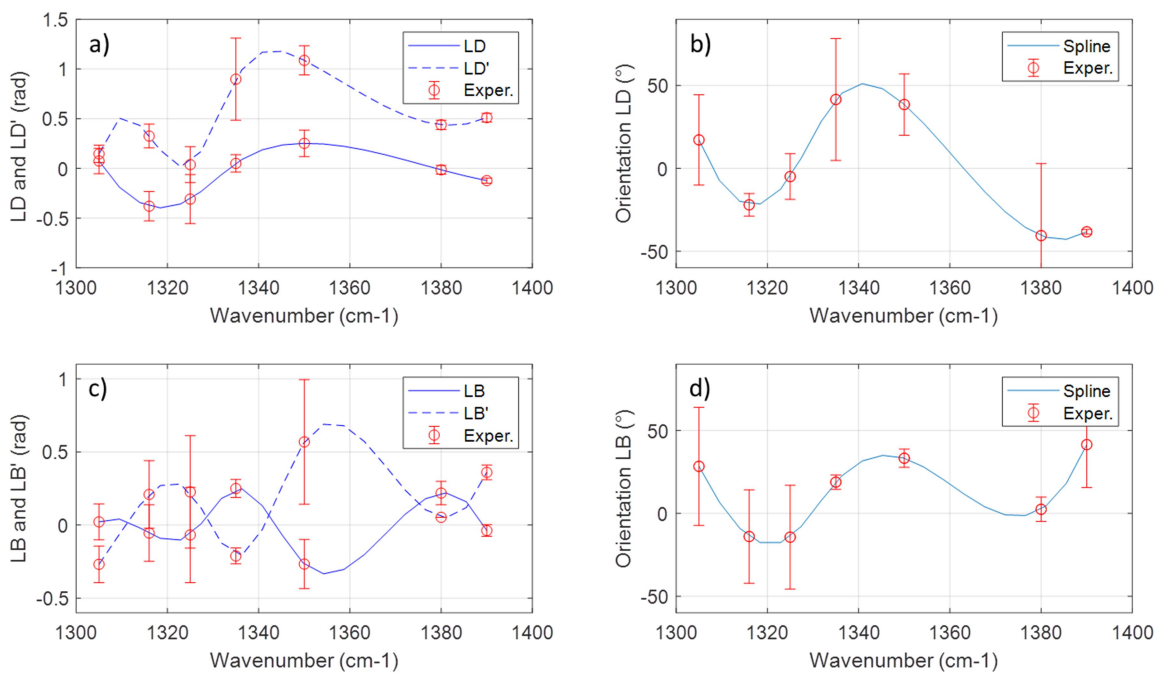


Figure IV.23. a) Dépendance spectrale des observables  $LD$  et  $LD'$  mesurés sur le fragment de droite du raphide (lignes droites) comme dans les données représentées sur les figures IV.21 et IV.22. c) Idem pour les observables  $LB$  et  $LB'$ . b) Orientation de l'axe rapide de la biréfringence à partir des données représentées en a) et d) Orientation de l'axe de transmission du dichroïsme à partir des données représentées en c).

Bien que l'élaboration détaillée d'un modèle théorique permettant d'estimer l'orientation du dichroïsme, (et de la biréfringence par simple correspondance) est au-delà des prétentions du présent travail, je donne ici quelques indications d'une façon de procéder. Si les ions d'oxalate présents sur réseau cristallin de whewellite peuvent être considérés comme étant indépendants les uns par rapport aux autres, on pourrait procéder en deux étapes et considérer d'abord des ions d'oxalate individuellement et ensuite prendre en compte la contribution globale de tous les ions



présents sur une cellule élémentaire du réseau cristallin. Ainsi, tout d'abord il faudrait calculer par des méthodes de chimie moléculaire par exemple, l'orientation de la variation du moment dipolaire induit par l'excitation des modes de vibrations suspectés d'entrer en jeu à  $1315\text{ cm}^{-1}$  et à  $1345\text{ cm}^{-1}$ . Dans le cas du mode à  $1315\text{ cm}^{-1}$ , la symétrie de la molécule d'oxalate semble suggérer que celui-ci induit une variation du moment dipolaire dans la direction de la liaison C-C, cependant, un calcul détaillé serait nécessaire pour le cas de l'excitation du mode à  $1345\text{ cm}^{-1}$  à cause de la complexité des couplages modaux suspectés d'être à son origine. Comme résultat de ce calcul il serait possible de déterminer la direction de la variation du moment dipolaire de chaque mode considéré par rapport à un repère arbitraire fixé sur un ion d'oxalate. Ensuite pour chacun de ces modes, il faudrait prendre en compte la position et orientation de chaque ion d'oxalate dans une maille cristalline fondamentale, leur assigner le vecteur désignant la variation du moment dipolaire correspondant et réaliser une somme vectorielle pour calculer la résultante sur une maille cristalline fondamentale. Finalement il faudra comparer les mesures expérimentales et l'angle calculé théoriquement entre le vecteur résultant de la variation du moment dipolaire à  $1315\text{ cm}^{-1}$  et à  $1345\text{ cm}^{-1}$  respectivement. L'assignation la plus plausible pour le mode à  $1345\text{ cm}^{-1}$  sera celle pour laquelle la différence d'orientation entre les variations du moment dipolaire à  $1315$  et à  $1345\text{ cm}^{-1}$  sera la plus proche de la valeur expérimentale.

## Bibliographie

- [1] A. Soukup, Selected Simple Methods of Plant Cell Wall Histochemistry and Staining for Light Microscopy, Plant Cell Morphogenesis in: V. Žárský, F. Cvrčková, (Eds), Plant Cell Morphogenesis. Methods in Molecular Biology, Humana Press, Totowa, 2013, p. 1080.
- [2] F. W. D. Rost, Fluorescence Microscopy, Cambridge University Press, 1995.
- [3] L. Donaldson, Autofluorescence in Plants, Molecules, **25**, (2020) 2393-2412. DOI: 10.3390/molecules25102393.
- [4] Yano, A. & Fujiwara, K. Plant lighting system with five wavelength-band light-emitting diodes providing photon flux density and mixing ratio control. Plant Methods **8**, (2012).
- [5] S. H. Yoo, R. Ossikovski, E. Garcia-Caurel, Experimental study of thickness dependence of polarization and depolarization properties of anisotropic turbid media using Mueller matrix polarimetry and differential decomposition, Appl. Surf. Sci. 421 (2017) 870-877. DOI: 10.1016/j.apsusc.2017.01.099.
- [6] E. Garcia-Caurel, A. De Martino, B. Drévilon, Spectroscopic Mueller polarimeter based on liquid crystal devices, Thin Solid Films 455 (2004) 120-123. DOI: 10.1016/j.tsf.2003.12.056.
- [7] <http://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/6-tecnicas/4-mparafina.php>
- [8] Z.Y. Ma, J. Wen, S.M. Ickert-Bond, L-Q. Chen, X-Q Liu Morphology, Structure, and Ontogeny of Trichomes of the Grape Genus (Vitis, Vitaceae), Front. Plant Sci. 7 (2016) 704 – 718. DOI:10.3389/fpls.2016.00704:
- [9] A. Van Eeckhout, E. Garcia-Caurel, T. Garnatje, J. Carlos Escalera, M. Durfort, J. Vidal, J.J. Gil, J. Campos, A. Lizana, Polarimetric imaging microscopy for advanced inspection of vegetal tissues, Sci. Rep. 11 (2021) 3913-3924. DOI: 10.1038/s41598-021-83421-8.
- [10] A. Fabbri, C. Benelli, G. di Collalto, Calcium Oxalate Crystals in Vegetative and Reproductive Organs of Grapevine, Acta Hort. 292 (1992) 107. DOI: 10.17660/ActaHortic.1992.292.14.

- [11] J. Howard, A. Webb, M. A. Webb, Twinned Raphide of Calcium Oxalate in Grape (*Vitis*): Implications for Crystal Stability and Function, *Int. J. Plant Sci.* 161 (2000) 133-142. DOI: 10.1086/314230.
- [12] D. Jáuregui-Zuñiga, J. P. Reyes-Grajeda, J. D. Sepúlveda-Sánchez, J. R. Whitaker, A. Moreno, Crystallochemical characterization of calcium oxalate crystals isolated from seed coats of *Phaseolus vulgaris* and leaves of *Vitis vinifera*, *J. Plant Physiol.* 160 (2003) 239-245. DOI: 10.1078/0176-1617-00947.
- [13]. C. Conti, M. Casati, C. Colombo, E. Possenti, M. Realini, G. D. Gatta, M. Merlini, L. Brambilla, G. Zerbi, Synthesis of calcium oxalate trihydrate: New data by vibrational spectroscopy and synchrotron X-ray diffraction, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 150 721–730 (2015). DOI: 10.1016/j.saa.2015.06.009.
- [14] M.A. Webb, J.M. Cavaletto, N.C. Carpita, L.E. Lopez, H. J. Arnott, The intravacuolar organic matrix associated with calcium oxalate crystals in leaves of *vitis*, *The plant journal* 7 633-648 (1995). DOI: 10.1046/j.1365-313X.1995.7040633.x
- [15] R. Ossikovski, O. Arteaga, E. Garcia-Caurel, K. Hingerl, Model for the depolarizing retarder in Mueller matrix polarimetry, *JOSA A* 39 873-882 (2022). DOI: 10.1364/JOSAA.451106.
- [16] I. Petrov, B. Soptrajanov, Infrared absorption of whewellite, *Spectrochimica Acta* 31A 309-316 (1973). DOI: 10.1016/0584-8539(75)80025-0.
- [17] T.A. Shippey, Vibrational Studies of Calcium Oxalate monohydrate (Whewellite) and an anhydrous phase of calcium oxalate, *J. Mol. Struct.* 63 157-166 (1980). DOI : 10.1016/0022-2860(80)80323-1

# Conclusions et Perspectives

## Résumé et Conclusions

Pour conclure ce manuscrit, cette section rappelle les grandes lignes des différents aspects, scientifiques et techniques, couverts pendant la réalisation de la thèse. Un des enjeux majeurs auquel ce travail a voulu apporter une réponse est la possibilité de réaliser de l'imagerie polarimétrique à l'échelle microscopique dans un domaine spectral large couvrant le domaine infrarouge. La solution proposée ici est un microscope infrarouge intégrant un polarimètre de Mueller. Le l'instrument qui a été développé dépasse le cadre du problème initial, car d'un côté il permet une imagerie multimodale résolue spatialement et angulairement, et en plus, il permet de réaliser des images sur un domaine allant du visible jusqu'à l'infrarouge lointain. En plus des deux modes d'imagerie démontrés expérimentalement, le système devrait pouvoir autoriser l'implémentation davantage de modes d'imagerie, comme par exemple l'imagerie en champ sombre.

Le microscope polarimétrique développé dans le cadre de cette thèse est le premier, et pour le moment le seul au monde, alliant à la fois la possibilité de réaliser de la microscopie infrarouge avec une très grande résolution spatiale avec l'analyse de la polarisation. Le microscope infrarouge polarimétrique n'est pas seulement un démonstrateur aux capacités techniques limitées, mais un vrai instrument de recherche, qui est intégré au sein d'un grand instrument scientifique, le Synchrotron SOLEIL et qui est mis au service de la communauté scientifique rassemblée autour du synchrotron pour mener à bien des expériences scientifiques et techniques.

Le développement instrumental a porté surtout sur deux sujets majeurs, la conception optique et la conception polarimétrique. La conception optique a dû résoudre le problème de créer un dispositif optique capable d'implémenter différents modes d'imagerie, d'accueillir l'instrumentation nécessaire à la polarimétrie de Mueller, et, finalement pouvoir travailler dans un domaine spectral très large. La conception optique a dû aussi prendre en compte que le microscope pourrait être couplé aussi bien à un faisceau laser qu'au faisceau infrarouge émis par un synchrotron. Le montage optique du microscope comporte deux parties, un bras d'éclairage et un bras d'image. La configuration du bras d'éclairage est une modification de l'illumination de Köhler classique pour pouvoir accueillir le générateur d'états du polarimètre. Ce système permet ainsi d'obtenir un éclairage uniforme sur la surface de l'échantillon d'une taille d'environ 1mm, compatible avec la taille de la zone avec un objectif de microscope avec un état de polarisation contrôlé. La configuration du bras d'image s'inspire également de montages discutés dans la littérature et utilisés pour réaliser des microscopes capables d'implémenter une imagerie polarimétrique bi ou multimodale. La nouveauté, et aussi la difficulté, de la conception du bras d'image du microscope polarimétrique infrarouge par rapport à la littérature était le fait de devoir travailler dans l'infrarouge avec des optiques basées sur des miroirs sphériques plutôt qu'avec des lentilles. Le travail avec des miroirs impose des contraintes au niveau

du nombre de surfaces réfléchissantes ainsi qu'au niveau de la correction des aberrations plus sévères que lors de l'utilisation des lentilles pour des montages travaillant dans le visible uniquement. Malgré ceci, il a été possible de déterminer une configuration basée entièrement sur des miroirs qui permet un mode d'imagerie double, l'imagerie dans l'espace réel objet et l'espace conjugué ou de Fourier. En plus, le bras d'image permet d'héberger dans son sein l'analyseur d'états de polarisation du polarimètre.

Un autre aspect de l'étape de conception portait sur la définition de la configuration et le mode de pilotage d'un polarimètre de Mueller apte à travailler dans le domaine infrarouge avec des faisceaux de lumière divergents et de relativement grande taille utilisées pour réaliser des images. La principale difficulté à laquelle il a fallu faire face a été le manque d'éléments optiques et de dispositifs commerciaux permettant de contrôler l'état de la polarisation d'un faisceau infrarouge. La stratégie suivie a été donc celle de réviser l'ensemble de solutions classiques discutées dans la littérature afin de trouver le moyen de les adapter pour pouvoir réaliser le polarimètre répondant aux exigences de ce projet. Parmi les deux modes de pilotage classiques, le principe de génération d'états discrets a été privilégié pour sa simplicité. En ce qui concerne la configuration du générateur et de l'analyseur d'états de polarisation, il a été choisi d'utiliser un polariseur fixe et du retardateur tournant achromatique, ou quasi-achromatique. La conception et le choix du compensateur a été un sujet très important car l'absence de produits commerciaux standardisés pouvant satisfaire les besoins du projet, imposait de pouvoir le faire construire sur mesure. Il a fallu donc s'assurer non seulement que le retardateur souhaité possédait une réponse optique adéquate, mais aussi qu'il pouvait être fabriqué à un coût raisonnable et proportionné à l'ensemble du projet. C'est ainsi que deux possibilités ont été explorées : des retardateurs achromatisés consistant en l'association de deux lames faites en matériaux différents (ZnS-ZnSe, ou AgGaS-ZnS) ou bien des prismes en ZnSe ou en BaF<sub>2</sub> pour créer du retard par réflexion totale interne quasi-achromatique. La deuxième option, des prismes achromatiques en ZnSe, a été finalement retenue car il était possible de les faire fabriquer malgré des difficultés pour leur alignement précis. Une troisième voie, explorée un peu par hasard pendant la conception des prismes, s'est avérée être la solution la plus adaptée tant en termes de configuration optique comme en termes de pilotage du polarimètre. Cette solution a un avantage de taille par rapport aux autres alternatives, sa simplicité matérielle et de mise en œuvre. Elle permet la création de d'un polarimètre optimal en termes de propagation d'erreurs apte à travailler sur un domaine spectral très étendu. La troisième voie représente une solution nouvelle et inventive à un problème technologique, elle peut présenter des intérêts commerciaux si elle est mise sur le marché, ce qui a motivé une demande de dépôt de brevet. Le fait que la demande de brevet soit en phase de dépôt à l'heure où ces lignes sont écrites, empêche de donner ici une ample description de la méthode finalement adoptée pour la construction de la partie polarimétrique. Malgré cette absence regrettable de détails, la qualité de mesures rapportées dans ce manuscrit réalisées avec le polarimètre utilisant la nouvelle méthode, est une preuve de son efficacité.

Le processus de conception s'est largement appuyé sur l'utilisation de logiciels de simulation optique et optomécanique pour pouvoir prévoir à l'avance les performances des systèmes optiques et polarimétriques ainsi que pour pouvoir tester rapidement nombre d'alternatives et variations. Le fait de devoir utiliser des miroirs comme éléments optiques complexifie le montage optique par rapport à une approche plus classique basée sur des lentilles. Le travail avec des miroirs impose la prise en compte de leur encombrement et celui de leurs supports respectifs pour savoir comment les placer sur le montage pour respecter les principes de la conception optique, éviter la superposition d'éléments optomécaniques et éviter l'interception du faisceau avec eux. Compte tenu du nombre important d'éléments optiques utilisés dans le microscope, l'ensemble du montage a été simulé en

utilisant un logiciel de CAO. Cette simulation par ordinateur, très proche de la réalité, a été d'une grande utilité pour anticiper d'éventuelles difficultés de montage et pour optimiser le positionnement des différents éléments optiques. Durant l'assemblage la simulation CAO a servi de guide pour permettre un positionnement correcte de tous les composants du microscope.

Tout effort de conception, aussi important soit-il, ne saurait pas être apprécié à sa juste mesure que s'il ne se concrétise pas par la réalisation réussite de l'objet conçu. Ainsi, l'étape de conception a été suivie par une autre consacrée au montage, l'étalonnage et tests de qualité du microscope polarimétrique. L'étalonnage d'un polarimètre est une question ouverte car la plupart de méthodes existantes nécessitent la mesure de la réponse optique de certains échantillons ou d'éléments de référence qui ne sont pas forcément disponibles lorsqu'il s'agit de mesures sur un très large domaine spectral. La méthode dite des valeurs propres est une méthode assez robuste et elle a déjà été appliquée avec succès pour calibrer un polarimètre infrarouge spectroscopique par le passé. La méthode des valeurs propres nécessite la mesure d'au moins un polariseur et d'un retardateur pour pouvoir être réalisée. Dans l'infrarouge il est difficile de trouver des retardateurs ayant une réponse achromatique ou du moins stable sur un large spectre, ce qui complique le choix des composants à utiliser pour la calibration. Afin d'apporter une solution à cette contrainte, une deuxième méthode, appelée méthode du polariseur, a été spécialement conçue pour étalonner des polarimètres travaillant dans des domaines spectraux extrêmes. La caractéristique qui donne un avantage à cette méthode est le fait de n'utiliser que des mesures d'un polariseur, dont la réponse est en général achromatique sur un large domaine spectral. Les deux méthodes ont pu être appliquées avec succès pour étalonner le microscope polarimétrique.

La validation du fonctionnement du microscope passe aussi pour la caractérisation de ses composants et notamment les détecteurs. L'utilisation de détecteurs ayant une réponse linéaire, donc proportionnelle à l'intensité de rayonnement reçu, est fondamentale pour pouvoir utiliser les modèles algébriques sur lesquels repose l'étalonnage de l'instrument et l'interprétation des signaux mesurés en termes des propriétés polarimétriques. Des caméras CCD ou CMOS dans le domaine visible pour réaliser des polarimètres ont été largement utilisées et leur utilité démontrée et validée, mais des questions concernant la réponse de caméras infrarouges basées sur de détecteurs bolométriques étaient sans réponse au débout du projet. Des résultats décrits dans le manuscrit ont permis de démontrer que des caméras infrarouges basées sur cette technologie ont une réponse suffisamment linéaire comme pour pouvoir être utilisées avec succès pour réaliser l'imagerie polarimétrique.

La détermination de la précision des mesures produites par le polarimètre tant dans le visible comme dans l'infrarouge, a pu être réalisé en utilisant des échantillons de référence comme des polariseurs, des lames de retard ou bien l'air. Le résultat du travail de caractérisation montre que l'instrument montre une très grande reproductibilité et stabilité tant pour des mesures dans le visible comme dans l'infrarouge. En termes de précision, il a été montré que celle du polarimètre était de l'ordre ou meilleure à 1%, ce qui est une valeur commune à des polarimètres expérimentaux et commerciaux.

Une fois en service, le microscope polarimétrique a vocation à être appliqué à l'étude tant de matériaux organiques qu'inorganiques d'origine naturelle ou artificielle. Des exemples typiques pour lesquels la microscopie polarimétrique infrarouge et visible peut apporter des informations significatives sont des polymères, des structures microscopiques comme des réseaux de diffraction ou des cristaux photoniques gravés sur des matériaux divers, des minéraux, des coupes fines histologiques de tissus animaux ou végétaux. Cette liste n'est pas exhaustive et laisse de la place à

nombre d'autres exemples. Le manuscrit termine par la description d'un exemple d'application consistant à l'étude de la réponse de feuilles de vigne et de ses composants par imagerie polarimétrique, visible et infrarouge. La translucidité des feuilles de vigne dans le visible pour des longueurs d'onde de couleur verte, a permis d'imager en transmission de petits fragments de feuilles sans nécessité de les préparer davantage. L'étude de fragments de feuilles de différents âges a permis de constater la présence à l'intérieur de feuilles de plus de 3 à 4 semaines d'une concentration relativement importante de petites structures minérales nommées raphides. Ces structures sont en réalité des amas de cristallites plus petits avec une forme d'aiguille composés d'oxalate de calcium hydraté. La réponse polarimétrique des raphides est très caractéristique et distincte de celle des autres composants de la feuille. Etant très dépolarisants et dichroïques, la présence de raphides passe inaperçue sous une lumière non-polarisée, mais elle devient évidente sur des images polarimétriques. En plus de la particularité concernant les feuilles de vigne, les résultats de l'étude des feuilles dans le visible, montrent l'intérêt de l'utilisation de la polarimétrie de Mueller pour des études botaniques.

En ce qui concerne des petits raphides, la microscopie polarimétrique dans le visible permet de les rendre visibles et éventuellement de les caractériser à partir de leurs propriétés polarimétriques. Cependant, les images dans le domaine visible ne renseignent pas sur la composition chimique des cristallites et n'apportent pas non plus des données sur l'origine moléculaire de ses propriétés optiques. Ces lacunes peuvent être comblées à l'aide de la microscopie polarimétrique dans l'infrarouge. Notre étude montre que l'étude de la réponse spectrale dans l'infrarouge des cristallites a permis de déterminer qu'ils étaient faits d'oxalate de calcium monohydrate. Il a été possible de déterminer la dispersion spectrale du dichroïsme et du retard linéaire des cristallites. L'étude de ces deux grandeurs liées à deux modes vibrationnels résonants a permis de déterminer l'orientation relative des liaisons chimiques associées à l'intérieur du cristal. Cet exemple de cristallographie optique, connue comme complémentaire de la plus classique cristallographie de rayons X, démontre l'intérêt du microscope imageur pour réaliser ce type d'études.

## Perspectives

Une partie des travaux réalisés dans le cadre de cette thèse a permis le développement du premier microscope polarimétrique de Mueller multimodal et travaillant dans un domaine de longueurs d'onde très large. Dans sa configuration actuelle, l'instrument permet de réaliser des mesures en transmission. En dépit des résultats très satisfaisants obtenus, la configuration du microscope peut être davantage complétée et améliorée pour augmenter le type d'échantillons qui pourront être observés et la diversité d'expériences scientifiques qui pourront être réalisées.

Parmi les améliorations possibles, celle qui semble être la plus substantielle consiste à ajouter la possibilité de réaliser des mesures en réflexion. La mise en place de la cette configuration implique la création d'un nouveau bras d'éclairage basé sur le principe de Köhler afin de garantir une illumination uniforme sur l'échantillon ainsi que de contenir un générateur d'états de polarisation supplémentaire. Dans la nouvelle configuration en réflexion, l'objectif de microscope utilisé pour l'imagerie objectif aura deux rôles, assurer un éclairage homogène, et collecter la lumière réfléchie ou diffusé par l'échantillon.

La possibilité de réaliser des mesures en réflexion permettra d'analyser des échantillons qui ne laissent pas passer la lumière à travers d'elles à cause de son épaisseur et/ou de leur absorption, et

ne peuvent pas être mesurés en transmission. Dans le domaine infrarouge, la plupart de matériaux présentent des pics ou des bandes d'absorption assez importantes ce qui oblige à les préparer en coupes assez fines, entre 5 et 30  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, pour être observés en transmission. L'exemple discuté dans le dernier chapitre de ce manuscrit concernant des feuilles de vigne est assez illustratif. Tandis que des fragments de feuilles entières ayant une épaisseur d'environ 400  $\mu\text{m}$  peuvent être observés dans le spectre visible, seulement de sections très fines des feuilles ou bien des cristaux dépourvus de matière végétale ont pu être mesurés. Un autre problème que les mesures en réflexion relaxent est celui des substrats. Pour des mesures en transmission, il est impératif de monter des échantillons sur des substrats (ou porte-échantillons) transparents à l'infrarouge, en  $\text{ZnSe}$ ,  $\text{BaF}_2$ ,  $\text{CaF}_2$ , Silicium ou Germanium non dopés.... Les spécificités, la rareté et le prix de ces substrats peuvent être un frein à la réalisation de certaines études. Ces contraintes sont grandement atténuées, voir complètement éliminées, dans le cas de mesures en réflexion. En plus, un deuxième avantage de cette configuration est de pouvoir réaliser des mesures en mode ellipsométrique qui servent généralement à déterminer l'épaisseur et les constantes optiques de matériaux déposés en couche mince. Ceci est rendu possible car des mesures en réflexion dans le mode de Fourier sont équivalentes à celles réalisées avec un ellipsomètre classique à angle et à azimut variable. Des mesures en mode ellipsométrique peuvent être réalisées de deux manières. La première option consisterait à prendre des images de l'espace de Fourier à plusieurs longueurs d'onde, sélectionner des pixels correspondant à des angles d'incidence et des azimuts souhaités et analyser ainsi des données comme on le ferait avec des données spectrales à partir d'un ellipsomètre classique. La deuxième option consisterait à utiliser un détecteur ponctuel ou un spectromètre. Dans ce cas, la sélection d'angles d'incidence se ferait en ajustant la taille et la position du diaphragme conjugué au plan de Fourier de l'objectif de microscope. Finalement, l'ensemble de mesures réalisées à différentes longueurs d'onde pourrait être analysé de manière équivalente aux données obtenues avec un ellipsomètre à angle variable monté sur un goniomètre. Indépendamment de l'option choisie, il est important de signaler ici que le fait d'utiliser un microscope permet de focaliser la lumière sur de toutes petites aires de quelques dizaines de microns, ce qui permet l'analyse d'échantillons avec une très grande résolution latérale.

Enfin, un deuxième aspect qui peut conduire à des améliorations significatives est l'optimisation du diffuseur de lumière à l'entrée du bras d'éclairage. Le diffuseur utilisé actuellement fonctionne en réflexion et il consiste en un substrat en verre de quelques millimètres d'épaisseur dont une des surfaces a été d'abord abrasée pour lui donner une certaine rugosité et ensuite métallisée afin d'optimiser le flux de photons renvoyé par le diffuseur. L'offre commerciale de diffuseurs réfléchissants n'est pas très large et le choix se limite à moins d'une dizaine de modèles de rugosité variable. Le diffuseur utilisé à présent a été choisi parmi les modèles disponibles en prenant comme critère la maximisation du flux sur le détecteur. Malgré un fonctionnement acceptable de ce composant, un doute raisonnable subsiste quant à la possibilité de pouvoir faire mieux en optimisant ses caractéristiques et sa réponse optique. Sur le montage actuel, le faisceau émis par le laser accordable ou par le synchrotron, est polarisé linéairement et très cohérent spatialement. Une fois dispersé par le diffuseur, le faisceau conserve une partie de son degré de polarisation et sa cohérence initiale, ce qui en principe peut faire apparaître des taches (speckles) et des franges d'interférence, et dégrade la qualité des images mesurées par le microscope. Le fait de faire tourner le diffuseur pendant l'acquisition d'images et l'utilisation d'un polariseur fixe à l'entrée du générateur d'états de polarisation permet d'obtenir des images analogues à celles produites avec un faisceau non-polarisé et spatialement incohérent. Cette solution instrumentale présente des avantages mais aussi des inconvénients. Le polariseur linéaire rehausse le degré de polarisation du faisceau polarisation mais lui ôte au passage une partie non négligeable de son intensité.



Deuxièmement le fait d'acquérir et de moyenniser une collection d'au moins seize images successives pendant la rotation du diffuseur assure que des tâches (speckles) liées à la cohérence résiduelle de la lumière s'estompent. Le fait de devoir acquérir un nombre important d'images pour amoindrir les effets de la cohérence s'ajoute au nombre de fois qu'il faut répéter une mesure afin de réduire le bruit aléatoire, ce qui augmente significativement le temps que dure une mesure polarimétrique. Une façon d'éliminer une partie de ces inconvénients pourrait venir de l'optimisation du diffuseur car en plus de disperser la lumière, ce composant optique peut exercer une influence significative sur l'état de polarisation et de cohérence du faisceau de lumière. Une option parmi d'autres à l'étude actuellement serait d'utiliser un diffuseur en transmission qui dépolariserait et rendrait incohérent le faisceau tout en minimisant les pertes de lumière en plus de créer une source de lumière secondaire nécessaire à la mise en place de l'éclairage de Köhler.







**Titre :** Imagerie Microscopique Multimodale Polarimétrique Visible et Infrarouge Couplée à des Sources de Lumière Laser Accordable et Synchrotron

**Mots clés :** Polarimétrie, Microscopie infrarouge, Imagerie multispectrale, Imagerie multimodale

**Résumé :** Le microscope polarimétrique développé dans le cadre de cette thèse en collaboration avec le Synchrotron SOLEIL, est le premier à combiner la possibilité de réaliser une imagerie bimodale des plans réel et de Fourier avec une analyse complète de la polarisation de la lumière sur un domaine spectral très large, du visible au moyen infrarouge. Bien plus qu'un démonstrateur, le microscope est un vrai instrument de recherche intégré au sein de la ligne de lumière synchrotron infrarouge SMIS au service de la communauté scientifique. Le microscope polarimétrique sera appliqué à l'étude tant de matériaux organiques qu'inorganiques d'origine naturelle ou artificielle. La conception optique a permis de créer le dispositif optique et mécanique qui constitue le microscope. La conception polarimétrique a permis de développer une configuration optique et un mode de pilotage du polarimètre novateurs, robustes et simples. Ceci donne au polarimètre un avantage net par rapport à d'autres technologies, et permettent d'envisager une éventuelle exploitation commerciale. Une nouvelle méthode d'étalonnage polarimétrique, appelée la méthode du polariseur, initialement adaptée pour le microscope polarimétrique, s'avère aussi utile pour calibrer des polarimètres travaillant dans des domaines spectraux extrêmes pour lesquels peu solutions existent. Le manuscrit termine par la description d'un exemple d'application consistant à l'étude de la réponse de feuilles de vigne et de ses composants par imagerie polarimétrique dans les domaines visible et infrarouge. Les images dans le visible ont permis d'identifier la présence d'agrégats de cristallites nommées raphides, et les images infrarouges ont permis de déterminer leur composition chimique.

**Title :** Multimodal Polarimetric Microscopic Imaging in the Visible and the Infrared Coupled to Tunable Laser and Synchrotron Light Sources

**Keywords :** Polarimetry, Infrared Microscopy, Multispectral imaging, Multimodal imaging

**Abstract:** The polarimetric microscope developed within the framework of this thesis in collaboration with the Synchrotron SOLEIL, is the first to combine the possibility of performing bimodal imaging of the real and Fourier planes with a complete analysis of the polarization of light over a very wide spectral range. wide, from visible to mid-infrared. Much more than a demonstrator, the microscope is a real research instrument integrated within the SMIS infrared synchrotron beamline at the service of the scientific community. The optical design made it possible to create the optical and mechanical device that constitutes the microscope. The polarimetric design has made it possible to develop an innovative, robust and simple polarimeter optical configuration and control mode. This gives the polarimeter a clear advantage over other technologies, and allows to consider a possible commercial exploitation. A new method of polarimetric calibration, called the polarizer method, initially adapted for the polarimetric microscope, is also useful for calibrating polarimeters working in extreme spectral ranges for which few solutions exist. The manuscript ends with the description of an example of application consisting in the study of the response of vine leaves and its components by polarimetric imaging in the visible and infrared domains. The visible images made it possible to identify the presence of crystallite aggregates called raphides, and the infrared images made it possible to determine their chemical composition.