



**HAL**  
open science

# Imagerie holographique numérique dans l'infrarouge moyen en milieu aqueux

Marine Beurrier-Bousquet

► **To cite this version:**

Marine Beurrier-Bousquet. Imagerie holographique numérique dans l'infrarouge moyen en milieu aqueux. Optique / photonique. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2023. Français. NNT : 2023GRALT082 . tel-04514415

**HAL Id: tel-04514415**

**<https://theses.hal.science/tel-04514415v1>**

Submitted on 21 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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES**

École doctorale : EEATS - Electronique, Electrotechnique, Automatique, Traitement du Signal (EEATS)

Spécialité : Optique et Radiofréquences

Unité de recherche : Laboratoire d'Electronique et de Technologie de l'Information (LETI)

**Imagerie holographique numérique dans l'infrarouge moyen en milieu aqueux**

**Mid-infrared digital holography imaging in aqueous media**

Présentée par :

**Marine BEURRIER-BOUSQUET**

Direction de thèse :

**Irène WANG**

INGENIEURE DE RECHERCHE, Université Grenoble Alpes

Directrice de thèse

**Mathieu DUPOY**

CEA-Leti

Co-encadrant de thèse

**Laurent FREY**

CEA Leti

Co-encadrant de thèse

Rapporteurs :

**Maxime JACQUOT**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Franche Comté

**Olivier PIOT**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université de Reims

Thèse soutenue publiquement le **15 décembre 2023**, devant le jury composé de :

**Maxime JACQUOT**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Franche Comté

Rapporteur

**Olivier PIOT**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université de Reims

Rapporteur

**Lotfi BERGUIGA**

INGENIEUR DE RECHERCHE, CNRS DELEGATION RHONE AUVERGNE

Examineur

**Elise GHIBAUDO**

PROFESSEURE DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes

Présidente

**Irène WANG**

INGENIEURE DE RECHERCHE HDR, CNRS DELEGATION ALPES

Directrice de thèse





*Tout obstacle renforce la détermination.  
Celui qui s'est fixé un but n'en change pas.*  
**Léonard de Vinci**



# Remerciements

---

L'une des étapes les plus difficiles d'une thèse, si ce n'est la décision d'en faire une, c'est probablement le moment des remerciements. C'est là que l'on peut enfin mettre des mots sur cette aventure de trois ans, et que l'on se rend soi-même compte de tout ce qui a été accompli, scientifiquement bien sûr, mais aussi humainement.

Comme le veut la coutume, et en toute sincérité, je souhaite adresser mes premiers remerciements aux membres du jury. Merci à la présidente Elise Ghibaudo et à Lotfi Berguiga, ainsi qu'aux deux rapporteurs Maxime Jacquot et Olivier Piot pour avoir accepté d'évaluer mes travaux. Je les remercie pour leurs retours plus que positifs et leur bienveillance le jour de ma soutenance, qui m'auront permis de garder un excellent souvenir de ce moment si particulier.

Je souhaite évidemment remercier ma directrice de thèse, Irène, pour son implication tout au long de ma thèse et les connaissances scientifiques qu'elle a pu m'apporter. Vient ensuite Laurent, mon second encadrant, que je remercie pour son aide et ses remarques pertinentes, ainsi que pour son calme légendaire. Enfin, un grand merci à Mathieu, qui a été durant ces trois années non seulement un encadrant de qualité, mais aussi un professeur, un coach et parfois même un ami. Avec son exigence et son franc-parler franc-comtois, il a su tirer le meilleur de moi-même en me challengeant, ce qui m'a permis de grandir scientifiquement et d'arriver au bout de cette aventure en n'en ressortant que plus solide. Je souhaite particulièrement les remercier tous les trois pour leur sympathie, leur bienveillance et l'humanité dont ils ont fait preuve dans les moments difficiles que j'ai pu traverser.

Je remercie également les différentes personnes avec qui j'ai pu interagir durant cette thèse : Sylvie Costrel, Olivier Lartigue, Christophe Licitra, Nevine Rochat, Johan Rothman, Boris Tau-rel... pour leur aide et les connaissances qu'ils m'ont apportées dans leurs domaines respectifs.

Je remercie également tout le laboratoire du LCO, les anciens comme les nouveaux, pour leur accueil chaleureux et la bonne ambiance quotidienne qui je l'espère, perdurera et fera garder au LCO son titre (non officiel mais presque) de meilleur labo du CEA ! Pour n'en citer que quelques uns, merci à Joël d'avoir ri à mes blagues, Gaby pour ses cours de mêmes sur Gimp et ses visites guidées du Y-Spot, merci à Joris, Maxime, Jules,... je n'oublie pas bien entendu tous ceux qui ont partagé avec moi le fameux bureau de l'ambiance : merci à Clément, Stéphan, Corentin et Jimmy pour tous ces moments de rigolade et de procrastination, sans oublier notre mascotte à nageoires Etienne (RIP). Je compte sur vous pour agrandir le mur de mêmes et faire perdurer le rituel de passation de la boîte Thorlabs des « reliques de la mort ». En bref, merci à tous pour avoir fait de ces trois années une aventure inoubliable à vos côtés.

Vient maintenant le temps des remerciements plus personnels. Tout d'abord, merci au seul, à l'unique Quentin Rafhay, légendaire professeur de la filière PNS à Phelma, qui a mis fin à mes hésitations et m'a fait comprendre (autour d'une bière) que j'étais capable de relever ce défi et d'aller au bout. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir donné la confiance nécessaire.

Pour rester dans le thème des études, je tiens à remercier Madame Giton, ma professeure de physique en terminale au Lycée André Malraux de Gaillon, qui, par sa pédagogie, sa passion pour l'enseignement et son implication envers ses élèves, a su faire naître en moi l'envie et la curiosité de continuer mon chemin vers cette discipline passionnante qu'est la physique.

Je souhaite évidemment remercier mes amis. Merci à Nathan (pour avoir vu l'erreur cachée dans une des formules du manuscrit), merci à Elise, Paul, Pierre (Macchi), Pierre (Costa, fidèle au poste depuis la seconde !), merci au Dr. Hudeley, qui même depuis Paris m'a toujours soutenue et encouragée. Merci à tous, de Grenoble et d'ailleurs, d'avoir été là dans les meilleurs comme les moins bons moments. J'espère de tout coeur continuer l'aventure avec vous tous pour les années à suivre.

Mes pensées vont également à mes parents, qui m'ont toujours soutenue. J'aime à penser que moins ils comprennent, plus ils sont fiers, alors j'espère qu'ils n'ont pas tout compris. Merci Maman, pour m'avoir fait travailler le mercredi après-midi sur les cahiers Chouette et Tout Savoir, merci pour ton implication durant tout mon parcours, de la maternelle au doctorat, pour la force de caractère et la détermination que tu m'as transmises et inculquées, sans quoi je ne serais probablement pas arrivée jusque-là aujourd'hui.

C'est non sans émotion également que mes pensées vont à mon grand-père, et que je laisse quelques secondes mon esprit cartésien de côté pour espérer que, de là où il est, il est fier de sa petite fille.

Enfin, merci à tous ceux que j'ai oublié de mentionner ici, car il y en a sûrement. Une thèse, ce sont trois années indélébiles, ce sont des pleurs, des rires, des doutes, et une expérience unique de laquelle on ressort grandi, fier du parcours réalisé et surtout reconnaissant.

Du fond du coeur, à tous ceux qui ont été, sont, et seront encore là,

# Merci.

# Table des Matières

---

<b>Remerciements</b>	<b>5</b>
<b>Table des Matières</b>	<b>7</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>12</b>
<b>Introduction</b>	<b>13</b>
<b>1 Contexte et État de l'art</b>	<b>15</b>
I Introduction . . . . .	17
II La spectroscopie vibrationnelle : théorie, techniques et applications . . . . .	17
II.1 La réponse des molécules aux ondes électromagnétiques . . . . .	17
II.1.1 Les vibrations des molécules dans le moyen infrarouge . . . . .	17
II.1.2 Les principaux phénomènes utilisés : absorption et diffusion . . . . .	19
II.1.3 L'indice de réfraction complexe . . . . .	20
II.1.4 Causalité et relations de Kramers Kronig . . . . .	23
II.2 Etat de l'art des principales techniques de spectroscopie vibrationnelle . . . . .	26
II.2.1 La spectroscopie Raman . . . . .	26
II.2.2 La spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) . . . . .	27
II.2.3 L'imagerie infrarouge multispectrale . . . . .	30
II.3 L'eau, une molécule problématique . . . . .	31
II.3.1 L'intérêt des mesures en milieu aqueux . . . . .	31
II.3.2 La forte absorbance de l'eau dans le moyen infrarouge . . . . .	32
II.4 Les solutions à l'absorption de l'eau . . . . .	35
II.4.1 La spectroscopie infrarouge en réflexion totale atténuée . . . . .	35
II.4.2 Les lasers à cascade quantique : des sources à haute brillance . . . . .	37
II.4.3 La photothermie et la microscopie hybride visible/infrarouge . . . . .	38
II.4.4 L'utilisation de l'eau lourde comme solvant . . . . .	39
III L'holographie numérique et la mesure de phase . . . . .	41
III.1 Généralités sur l'holographie et interférométrie . . . . .	41
III.1.1 Le principe de base de l'interférométrie . . . . .	41
III.1.2 L'interféromètre de Mach Zehnder . . . . .	45
III.2 Applications de l'interférométrie à l'imagerie biomédicale et à la spectroscopie infrarouge . . . . .	46
III.2.1 L'interférométrie dans le visible . . . . .	46
III.2.2 L'interférométrie dans l'infrarouge . . . . .	47

IV	Conclusion du chapitre et motivations des travaux de thèse . . . . .	48
<b>2</b>	<b>Montage expérimental et objets analysés</b>	<b>51</b>
I	Introduction . . . . .	52
II	Mise en oeuvre du montage expérimental . . . . .	52
II.1	Présentation générale . . . . .	52
II.2	La source laser MIRcat . . . . .	54
II.2.1	Présentation du laser . . . . .	54
II.2.2	Expansion du faisceau laser . . . . .	59
II.3	L'imageur infrarouge . . . . .	63
II.3.1	La technologie des micro-bolomètres . . . . .	63
II.3.2	Choix du détecteur ATTO320 . . . . .	65
II.4	L'alignement de l'interféromètre . . . . .	70
III	Modèles analytiques et objets analysés . . . . .	72
III.1	Modèles analytiques . . . . .	72
III.1.1	Microplastiques dans l'eau : modèle couches . . . . .	73
III.1.2	Echantillons biologiques hydratés : modèle classique . . . . .	75
III.2	Les cuves microfluidiques . . . . .	76
III.3	La photorésine SU8 dans l'eau . . . . .	77
III.3.1	Choix de la résine . . . . .	77
III.3.2	Fabrication des échantillons . . . . .	79
III.3.3	Caractérisation des échantillons obtenus . . . . .	80
IV	Conclusion du chapitre . . . . .	83
<b>3</b>	<b>Résultats expérimentaux</b>	<b>85</b>
I	Introduction . . . . .	86
II	Mesures d'absorption directe . . . . .	86
II.1	Protocole expérimental . . . . .	86
II.2	Traitement des images . . . . .	88
II.3	Résultats et discussion . . . . .	90
III	Mesures interférométriques . . . . .	91
III.1	Méthode 1 : Interférométrie à décalage de phase à 4 images . . . . .	91
III.1.1	Rappel du principe de mesure . . . . .	91
III.1.2	Adaptation de la méthode de mesure aux difficultés expérimentales . . . . .	92
III.1.3	Protocole expérimental . . . . .	93
III.1.4	Traitement des images . . . . .	95
III.1.5	Résultats et discussion . . . . .	97
III.2	Méthode 2 : imagerie de phase améliorée . . . . .	100
III.2.1	Correction du front d'onde du faisceau . . . . .	100
III.2.2	Protocole expérimental . . . . .	101
III.2.3	Traitement des images . . . . .	102
III.2.4	Résultats et discussion . . . . .	103
IV	Conclusion du chapitre . . . . .	106

<b>4</b>	<b>Étude photométrique et limite de détection</b>	<b>109</b>
I	Introduction . . . . .	110
II	Analyse théorique et mesure du bruit . . . . .	110
II.1	Estimation des bruits des différentes sources . . . . .	110
II.1.1	Bruit indépendant du signal : NEP du détecteur . . . . .	111
II.1.2	Rappels sur le rayonnement du corps noir . . . . .	112
II.1.3	Estimation de la puissance et du bruit photonique du laser . . . . .	113
II.1.4	Estimation du rayonnement de fond . . . . .	115
II.1.5	Contribution des cuves d'eau . . . . .	116
II.1.6	Bilan des sources théoriques de bruit . . . . .	117
II.2	Mesure de bruit du banc interférométrique . . . . .	118
II.2.1	Protocole de mesure . . . . .	118
II.2.2	Résultats et comparaison à l'étude théorique . . . . .	119
III	Limite de détection du système . . . . .	124
III.1	Définition de la limite de détection . . . . .	125
III.2	Calcul de la limite de détection . . . . .	125
III.3	Sensibilité de chaque méthode de mesure . . . . .	127
III.4	Limite de détection dans le cas de différents échantillons . . . . .	128
III.4.1	Limite de détection dans le cas de la résine SU-8 . . . . .	129
III.5	Limite de détection dans le cas de microplastiques : PVC, PMMA, PE . . . . .	133
III.6	Limite de détection dans le cas de tissus hydratés . . . . .	138
IV	Conclusion du chapitre . . . . .	142
	<b>Conclusion générale</b>	<b>145</b>
<b>A</b>	<b>Annexes</b>	<b>149</b>
A	Indice de réfraction complexe : démonstration . . . . .	150
B	Interférences à deux ondes : démonstration . . . . .	152
C	Mesures des coefficients de transmission et de réflexion des lames séparatrices . . . . .	155
D	MIRcat : mesures supplémentaires . . . . .	158
IV.1	Caractérisation en courant et en longueur d'onde . . . . .	158
IV.2	Première difficulté rencontrée : position du faisceau variable . . . . .	160
IV.3	Seconde difficulté rencontrée : différence de puissance entre des réglages identiques . . . . .	161
E	Différentes étapes d'alignement de l'interféromètre de Mach Zehnder . . . . .	163
V.1	Construction du parallélogramme . . . . .	163
V.2	Alignement des faisceaux en sortie du interféromètre de Mach Zehnder (Mach Zehnder Interferometer, MZI) : interférences . . . . .	166
V.3	Placement du système de lentilles et des échantillons . . . . .	167
F	Démonstration de la formule de l'indice réel effectif $n_{eff}$ . . . . .	168
	<b>Bibliographie</b>	<b>171</b>



# Liste des abréviations

---

- AR** anti-reflet
- ATR** réflexion totale atténuée (Attenuated Total Reflection)
- BS** lame séparatrice de faisceau (Beam Splitter)
- DHM** microscopie par holographie numérique (Digital Holographic Microscopy)
- DL** niveaux digitaux (Digital Levels)
- EC-QCL** laser à cascade quantique à cavité externe (External Cavity Quantum Cascade Laser)
- EM** électromagnétique
- FPA** plan focal (Focal Plane Array)
- FTIR** infrarouge à transformée de Fourier (Fourier Transform Infrared)
- IR-OH** hybride optique-infrarouge (Infrared Optical Hybrid)
- IR** infrarouge
- LOD** limite de détection (Limit Of Detection)
- MCT** tellure de mercure-cadmium
- MIR** moyen infrarouge (Mid Infrared)
- MP** microplastiques
- MZI** interféromètre de Mach Zehnder (Mach Zehnder Interferometer)
- NEP** puissance équivalente au bruit (Noise Equivalent Power)
- NETD** différence de température équivalente au bruit (Noise Equivalent Temperature Difference)
- NUC** correction de non uniformité (Non Uniformity Correction)
- PE** polyéthylène
- PFD** principe fondamental de la dynamique
- PLP** Pixel Level Packaging
- PMMA** polyméthacrylate de méthyle
- PM** puissance-mètre
- PSI** interférométrie à décalage de phase (Phase Shift Interferometry)
- PS** polystyrène
- PTFE** polytétrafluoroéthylène

**PVC** polychlorure de vinyle

**PVD** dépôt physique en phase vapeur (Physical Vapor Deposition)

**QCL** lasers à cascade quantique (Quantum Cascade Lasers)

**ROI** région d'intérêt (Region Of Interest)

**SNR** rapport signal à bruit (Signal to Noise Ratio)

**TF** transformée de Fourier

**UV** ultra-violet

# Introduction

---

Les modes de vibrations des molécules constituant la matière sont caractéristiques des liaisons et atomes qui les composent. Lors de l'interaction lumière matière, les ondes électromagnétiques à certaines longueurs d'onde excitent les vibrations à la fréquence correspondante, ce qui crée des phénomènes d'absorption et de diffusion de la lumière par la matière, générant une signature unique des molécules. Les techniques de spectroscopie vibrationnelle permettent de les identifier et de les quantifier dans des échantillons complexes, et constituent des méthodes d'analyse *sans marquage*. Les molécules biochimiques présentes dans les cellules telles que l'ADN ou les protéines possèdent leur signature spectrale dans les longueurs d'onde du moyen infrarouge (Mid Infrared, MIR), entre  $2.5\ \mu\text{m}$  à  $25\ \mu\text{m}$  (de  $4000\ \text{cm}^{-1}$  à  $400\ \text{cm}^{-1}$ ). Leur détection est utilisée dans le domaine du biomédical, notamment pour le diagnostic de cancers sur tissus de biopsies. Les molécules polymères ont également une réponse spectrale caractéristique dans le MIR et leur détection peut être utile dans un contexte de pollution de l'environnement par des microplastiques (MP) désormais présents en grande quantité dans les milieux marins par exemple. Les techniques de spectroscopie vibrationnelle les plus répandues pour l'analyse de ces molécules sont les spectroscopies infrarouge à transformée de Fourier (Fourier Transform Infrared, FTIR) et Raman. Combinées à des systèmes d'imagerie (microscopes, détecteurs infrarouge (IR) refroidis), ces techniques permettent d'obtenir des cartographies spectrales, par scan des échantillons. Cependant, les échantillons nécessitent généralement d'être déshydratés au préalable. En effet, l'eau est un interférent majeur dans les longueurs d'onde MIR avec notamment un pic d'absorption particulièrement important autour de  $1650\ \text{cm}^{-1}$  ( $6\ \mu\text{m}$ ). Par conséquent la détection et l'identification des espèces d'intérêts en solution restent un frein à la spectroscopie IR en raison des faibles puissances des sources polychromatiques actuelles.

Depuis une vingtaine d'années, de nouvelles sources monochromatiques accordables à haute brillance font leur apparition sur le marché : les lasers à cascade quantique (Quantum Cascade Lasers, QCL). Ces sources permettent maintenant d'envisager des mesures sur échantillons hydratés ou à l'intérieur de veines fluidiques de plusieurs dizaines de microns. Combinés à des matrices de détecteurs IR non refroidies, les QCLs ont permis d'ouvrir la voie vers de nouvelles recherches en micro-spectroscopie. De telles sources et détecteurs sont notamment développés au CEA Leti, ce qui a facilité l'émergence de nouvelles thématiques de recherche dans l'imagerie IR. Par exemple, en couplant plusieurs sources QCLs discrètes et une matrice de micro-bolomètres non refroidie, un projet récent du laboratoire a permis de réaliser des mesures d'absorption en imagerie multispectrale IR grand champ sans lentille afin de déterminer la composition de tissus fixés en paraffine. Ceci a donné naissance à la startup ADMIR, où se développe un instrument permettant un diagnostic rapide de cancers, compatible avec les temps d'analyse des hôpitaux ou laboratoires d'analyse. Les mesures en milieu aqueux restent cepen-

dant difficiles à réaliser. En effet la longueur d'onde d'absorption des amides I, très utilisée pour l'identification des cellules cancéreuses ou des microorganismes est très proche de celle de l'eau (quelques  $\text{cm}^{-1}$ ). Les travaux de cette thèse visent à explorer une méthode d'analyse d'échantillons hydratés ou en solution, sans préparation d'échantillon préalable : l'imagerie multispectrale par holographie dans le MIR.

Lors de son interaction avec la matière, la lumière, en plus d'être absorbée, est ralentie. Ceci se traduit par un déphasage de l'onde en sortie du matériau traversé par rapport à l'onde incidente. Chaque milieu possède donc un indice de réfraction complexe, où la partie réelle  $n$  traduit ce déphasage, tandis que la partie imaginaire  $k$  reflète la capacité du matériau à absorber certaines longueurs d'onde, ces deux indices étant liés par les relations de Kramers Kronig. A chaque pic d'absorption à une longueur d'onde de résonance spécifique d'une molécule, correspond alors un saut d'indice réel autour de ce pic, caractéristique de l'espèce d'intérêt au même titre que l'absorption. L'indice réel constitue une information complémentaire à l'absorption que nous souhaitons mesurer afin d'évaluer un éventuel gain en sensibilité dans des échantillons hydratés.

Récemment, des mesures d'indices réels dans des solutions homogènes d'éthanol dans l'eau ont été effectuées dans le MIR à l'aide d'un montage interférométrique [1]. Cette méthode, dite de spectroscopie de *dispersion*, ne nécessite pas d'imagerie et a montré un gain en sensibilité par rapport l'absorption.

L'objectif de cette thèse est d'explorer une méthode alternative à l'absorption pour l'analyse quantitative et qualitative d'échantillons hydratés. Cette méthode est l'imagerie holographique IR multispectrale. En combinant la haute brillance des sources QCLs, l'acquisition multispectrale d'images IR par une matrice de micro-bolomètres non refroidie, et l'interférométrie, nous nous intéressons au potentiel de l'holographie numérique dans le MIR. La principale nouveauté de ces travaux de thèse par rapport à l'état de l'art sera donc l'acquisition d'images de phase dans le MIR, permettant d'obtenir à la fois des informations spectrales et spatiales sur des échantillons hétérogènes.

Après un premier chapitre dédié à l'état de l'art et au contexte dans lequel s'inscrivent ces travaux de thèse, un second chapitre sera consacré à la description et la mise en place de l'interféromètre de Mach Zehnder construit, à son système d'imagerie, sa source QCL et son détecteur matriciel non refroidi. La fabrication des motifs de résine photosensible constituant les échantillons tests sur lesquels ont été mesurés les indices de réfraction y sera également décrite. Une description des modèles analytiques des grandeurs physiques mises en jeu sera détaillée à la fin de ce chapitre. Après avoir détaillé les méthodes d'acquisition et le traitement d'images utilisés, nous montrerons dans un troisième chapitre que le banc holographique construit permet d'obtenir des images de phase IR sur plusieurs motifs de résine d'épaisseur différentes dans  $50\ \mu\text{m}$  d'eau. Nous montrerons alors qu'à partir de ces images, il est possible de remonter à la variation spectrale d'indice spécifique de la résine, et que ces spectres sont en accord avec ceux mesurés par des méthodes de référence (ellipsométrie, spectrométrie FTIR). Enfin, un dernier chapitre détaillera l'étude photométrique et les mesures de bruits réalisées sur le banc construit, afin de comparer d'un point de vue théorique les limites de détection de l'absorption et des méthodes interférométriques, dans l'optique d'éventuelles mesures futures pour l'analyse de MP ou de tissus en milieux aqueux.

# Contexte et État de l'art

## Contenu du chapitre

<b>I</b>	<b>Introduction</b>	<b>17</b>
<b>II</b>	<b>La spectroscopie vibrationnelle : théorie, techniques et applications</b>	<b>17</b>
II.1	La réponse des molécules aux ondes électromagnétiques	17
II.1.1	Les vibrations des molécules dans le moyen infrarouge	17
II.1.2	Les principaux phénomènes utilisés : absorption et diffusion	19
II.1.3	L'indice de réfraction complexe	20
II.1.4	Causalité et relations de Kramers Kronig	23
II.2	Etat de l'art des principales techniques de spectroscopie vibrationnelle	26
II.2.1	La spectroscopie Raman	26
II.2.2	La spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)	27
II.2.3	L'imagerie infrarouge multispectrale	30
II.3	L'eau, une molécule problématique	31
II.3.1	L'intérêt des mesures en milieu aqueux	31
II.3.2	La forte absorbance de l'eau dans le moyen infrarouge	32
II.4	Les solutions à l'absorption de l'eau	35
II.4.1	La spectroscopie infrarouge en réflexion totale atténuée	35
II.4.2	Les lasers à cascade quantique : des sources à haute brillance	37
II.4.3	La photothermie et la microscopie hybride visible/infrarouge	38
II.4.4	L'utilisation de l'eau lourde comme solvant	39
<b>III</b>	<b>L'holographie numérique et la mesure de phase</b>	<b>41</b>
III.1	Généralités sur l'holographie et interférométrie	41
III.1.1	Le principe de base de l'interférométrie	41
III.1.2	L'interféromètre de Mach Zehnder	45
III.2	Applications de l'interférométrie à l'imagerie biomédicale et à la spectroscopie infrarouge	46

III.2.1	L'interférométrie dans le visible . . . . .	46
III.2.2	L'interférométrie dans l'infrarouge . . . . .	47
<b>IV</b>	<b>Conclusion du chapitre et motivations des travaux de thèse . . . . .</b>	<b>48</b>

---

## I Introduction

Le premier chapitre de ce manuscrit traite de la signature spectrale des molécules dans l'IR, avant d'expliquer de façon générale la spectroscopie vibrationnelle mesurant ce phénomène. L'absorption et la diffusion mises en jeu lors de l'interaction lumière matière seront d'abord décrites physiquement avant d'être développées plus en détail grâce aux équations découlant de la théorie de l'électromagnétisme dans les milieux diélectriques. Puis, les principales techniques de spectroscopie vibrationnelle seront détaillées, notamment les spectroscopies FTIR et Raman, ainsi que leurs avantages et leurs limitations. La limitation principale de la spectroscopie d'absorption est la présence d'eau dans les échantillons, du fait de la forte absorbance de cette molécule dans la gamme spectrale de l'IR, ce qui constitue un frein au développement des mesures sur échantillons hydratés. Les différentes techniques et nouvelles sources existantes permettant de contourner cette problématique seront présentées. Le sujet principal de ce manuscrit sera alors abordé : l'holographie numérique et son potentiel pour les mesures sur échantillons hydratés dans l'IR. Enfin, les motivations et les objectifs de la thèse seront décrits.

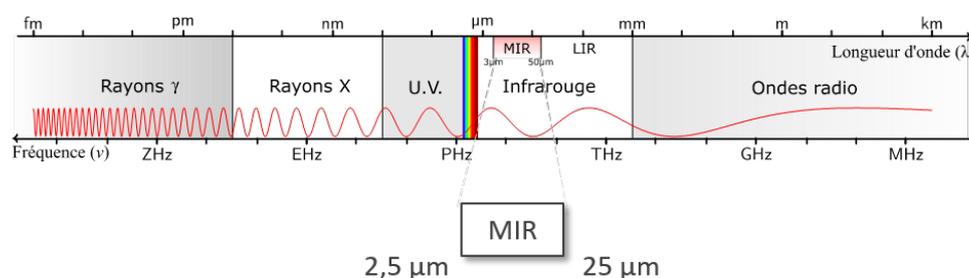
## II La spectroscopie vibrationnelle : théorie, techniques et applications

La spectroscopie vibrationnelle est une méthode de mesure utilisant les différents phénomènes résultants de l'interaction de la lumière avec la matière. Cette première section expliquera dans un premier temps l'origine physique de ces phénomènes. Un état de l'art sur les techniques de spectroscopie les plus répandues sera ensuite développé avant d'aborder la problématique de l'absorption de l'eau ainsi que les principales solutions existantes.

### II.1 La réponse des molécules aux ondes électromagnétiques

#### II.1.1 Les vibrations des molécules dans le moyen infrarouge

Sur le spectre électromagnétique (EM), le MIR est la bande de longueurs d'onde qui se situe entre l'IR lointain et l'IR proche, entre 2.5 et 25  $\mu\text{m}$  (entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$ ). Ces fréquences correspondent aux fréquences de vibration de nombreuses molécules (biochimiques, polymères...) qui peuvent alors être identifiées par leur signature spectrale dans le MIR.



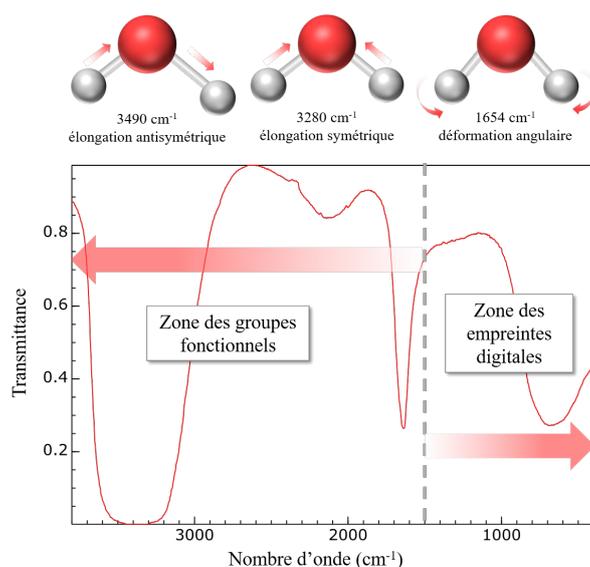
**FIGURE 1.1** – Identification de la gamme spectrale de l'IR moyen sur le spectre électromagnétique.

Les molécules qui composent la matière sont constituées d'atomes de masses plus ou moins

importantes, liés entre eux par des liaisons chimiques. On distingue notamment les liaisons covalentes, qui, en comparaison des liaisons hydrogène présentes au niveau intermoléculaire et plus faibles, assurent la cohésion des atomes au sein d'une même molécule. Par exemple, les atomes d'hydrogène et d'oxygène au sein d'une molécule d'eau sont liés par des liaisons covalentes, tandis que deux molécules d'eau sont liées entre elles par des liaisons hydrogène présentes entre un atome d'hydrogène de l'une et un atome d'oxygène de l'autre. Ces liaisons vibrent à des fréquences qui dépendent des atomes et du type de liaison mis en jeu, ce qui peut être décrit, en première approximation, par le modèle de l'oscillateur harmonique (voir II.1.3 pour les équations détaillées). En effet, entre deux atomes A et B de masses respectives  $m_A$  et  $m_B$  (kg) s'exerce une force de liaison proportionnelle à la constante de raideur des liaisons chimiques,  $\kappa$  ( $\text{Nm}^{-1}$ ). Les liaisons chimiques vont ainsi vibrer selon la loi de Hooke [2] :

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{\kappa}{\mu}} \quad (1.1)$$

où  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) est la fréquence d'oscillation,  $c = 2.99 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$  est la vitesse de la lumière et  $\mu = \frac{m_A \times m_B}{m_A + m_B}$  est la masse réduite du système. Plus la masse réduite du système est élevée, moins la fréquence de vibration est importante. Parallèlement, une constante de raideur élevée de la liaison chimique induira une plus grande fréquence de vibration.



**FIGURE 1.2** – Différents modes de vibration et spectre d'absorption de l'eau. Repris et adapté de *National Institute of Standards and Technology*.

Ces vibrations se traduisent par différents modes et peuvent être des vibrations d'élongation (stretching) ou de déformation (bending). Une molécule à  $N$  atomes possède  $3N - 6$  modes de vibrations internes [2]. Ainsi, une molécule non linéaire à trois atomes telle que l'eau ( $\text{H-O-H}$ ) possède trois modes de vibrations : deux modes d'élongation (symétrique et antisymétrique) et un mode de déformation. On distingue deux catégories de fréquences dans le spectre IR (voir Fig. 1.2). La première est la zone située aux nombres d'onde supérieurs à  $1500 \text{ cm}^{-1}$ , correspondant aux vibrations plus énergétiques des groupes fonctionnels communs à différentes molécules (alcools ou amides par exemple). La seconde se situe aux nombres d'onde inférieurs

à  $1500 \text{ cm}^{-1}$  et est appelée zone des empreintes digitales car elle contient des pics et des bandes d'absorption caractéristiques des molécules analysées, dus à des vibrations plus complexes.

Dans la sous-section II.1.3, nous verrons que seules les vibrations induisant une modification du moment dipolaire de la molécule absorbent les rayonnements de même énergie. Ces modes vibratoires sont alors utilisés en spectroscopie d'absorption. Ce phénomène est à différencier de celui impliqué dans la spectroscopie Raman, impliquant des transitions énergétiques différentes. En interagissant avec les photons d'un faisceau incident, les molécules vont ainsi révéler leur nature et leur structure chimique.

### II.1.2 Les principaux phénomènes utilisés : absorption et diffusion

Comme expliqué précédemment, les molécules ont des modes de vibration correspondants à des fréquences spécifiques dans le MIR. Lors de l'interaction des photons de la lumière incidente avec les molécules constituant la matière, les vibrations des liaisons chimiques des molécules sont excitées par l'onde EM. Celle-ci apporte en effet l'énergie nécessaire pour faire vibrer les liaisons chimiques avec une amplitude plus importante, ce qui entraîne une modification temporaire de la répartition des charges électriques au sein de la molécule, et donc un moment dipolaire induit. Les photons IR ne sont cependant pas suffisamment énergétiques pour induire une transition électronique et ré-émettre des photons. Après excitation du mode vibratoire par la lumière IR vient une étape de relaxation de la molécule par dissipation de l'énergie excédentaire, en la transférant aux molécules voisines par collisions successives, ou en la dissipant sous forme de chaleur. C'est pour cela que dans le cas d'une molécule non isolée (une solution par exemple), l'énergie va se dissiper d'autant plus que le nombre de molécules du milieu analysé sera élevé. Ceci résulte en une diminution de l'énergie de l'onde EM incidente, ce qui se traduit par une absorption de celle-ci dépendante de la fréquence de vibration et donc du nombre d'onde  $\nu$ <sup>1</sup>, et proportionnelle à la concentration de l'espèce chimique étudiée (Eq. 1.2 [2]).

$$A(\nu) = -\log [T(\nu)] = \frac{\alpha(\nu)d}{\ln 10} = \frac{\varepsilon(\nu) \times C \times d}{\ln 10} \quad (1.2)$$

Le coefficient d'absorption de l'espèce étudiée,  $\alpha(\nu) = 4\pi k(\nu)\nu$  est lié au coefficient d'extinction  $k(\nu)$  qui représente la partie imaginaire de l'indice de réfraction complexe (voir II.1.3).  $d$  est l'épaisseur de l'échantillon traversée par l'onde EM,  $\varepsilon(\nu)$  le coefficient d'extinction molaire de la molécule étudiée et  $C$  la concentration de la solution. Dans le cadre de cette thèse, ce sont les variations d'intensité qui seront étudiées, si bien que les formules utilisées seront un dérivé de l'Eq.1.3 :

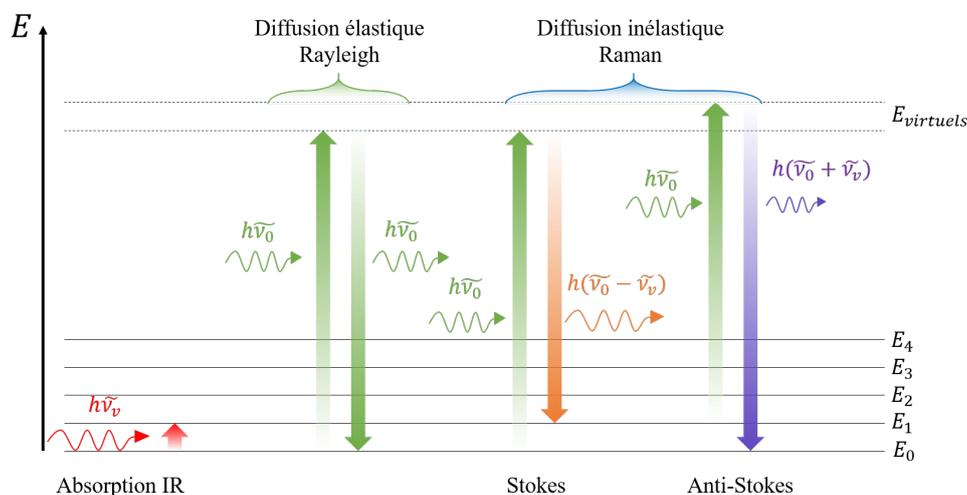
$$I(\nu) = I_0(\nu) \times e^{-\alpha(\nu)d} \quad (1.3)$$

où  $I(\nu)$  est l'intensité du faisceau laser récupérée en sortie d'échantillon et  $I_0(\nu)$  l'intensité incidente. Ce phénomène d'absorption est utilisé en spectroscopie FTIR, détaillé en Sec.II.2.2.

Lors de l'interaction lumière matière, un autre phénomène peut se produire : la diffusion. Lorsque les vibrations ne sont pas excitées par la lumière incidente, elle est diffusée sans perte d'énergie : il s'agit de diffusion élastique (ou diffusion Rayleigh). Dans le cas où il y a excitation du mode de vibration et que la fréquence de la lumière incidente  $\tilde{\nu}_0$ (Hz) est différente de la fréquence vibratoire  $\tilde{\nu}_\nu$  des molécules, il y a diffusion inélastique, aussi appelée diffusion

1. Dans ce chapitre, on distinguera la fréquence de vibration  $\tilde{\nu}$  en Hz et le nombre d'onde associé  $\nu$ , en  $\text{cm}^{-1}$

Raman. On distingue deux sortes de diffusions inélastiques : la diffusion Stokes et la diffusion anti-Stokes.



**FIGURE 1.3** – Diagramme d'énergie des différents phénomènes d'absorption et de diffusion.  $h = 6.63 \times 10^{-34}$  J s est la constante de Planck.

La diffusion est le résultat de l'interaction entre une onde EM et une molécule, lorsque l'onde EM a une énergie plus importante que celle des vibrations de la molécule. Ainsi, il y a un gain d'énergie dans l'échantillon. Dans le cas Stokes, une partie est transmise à la molécule en excitant le mode de vibration correspondant, et le reste de l'énergie est diffusé. Il y a donc émission d'un photon d'énergie plus faible que le photon incident, à la fréquence  $\tilde{\nu}_d = \tilde{\nu}_0 - \tilde{\nu}_v$ . Un décalage Raman vers les plus grandes longueurs d'onde (donc des fréquences/nombres d'onde plus faibles) sera alors observé.

Dans le cas de la diffusion inélastique anti-Stokes, les molécules sont déjà dans un niveau d'énergie différent du fondamental. L'énergie de l'onde incidente s'ajoute et il y a finalement émission d'un photon de fréquence  $\tilde{\nu}_d = \tilde{\nu}_0 + \tilde{\nu}_v$  plus importante que celle du photon incident. Il y a un décalage Raman vers les plus faibles longueurs d'onde. La diffusion anti-Stokes est cependant bien moins probable que la diffusion Stokes (qui est déjà faible et nécessite des lasers pour être détectée), ce qui constitue un avantage de la spectroscopie IR par rapport à la spectroscopie Raman. Le paragraphe II.2.1 traitera de la spectroscopie Raman, ses avantages et ses inconvénients.

### II.1.3 L'indice de réfraction complexe

Précédemment, les phénomènes d'absorption et de diffusion ont été décrits de façon qualitative. Un des acteurs principaux des recherches menées durant cette thèse, si ce n'est le plus important, est l'indice de réfraction complexe  $\tilde{n}(\nu)$ <sup>2</sup>. Cette grandeur découle de la susceptibilité complexe  $\chi$ . Dans cette partie, nous démontrons premièrement que la susceptibilité est une

2. Pour la démonstration, les parties réelle et imaginaire seront respectivement notées  $n'$  et  $n''$ , afin de différencier l'indice imaginaire du vecteur d'onde  $k$ .

grandeur complexe [3], puis qu'il existe une relation entre l'indice de réfraction et la susceptibilité. Une approche plus physique de ce phénomène est présentée en annexe A.

Tout d'abord, il faut établir les équations permettant de décrire la réponse linéaire d'un matériau excité par une onde progressive. Les matériaux étudiés ne possédant pas de propriétés magnétiques, l'onde excitatrice est modélisée par un champ électrique seul. L'induction électrique, ou déplacement électrique s'écrit :

$$\vec{D} = \varepsilon_r \varepsilon_0 \vec{E} = \varepsilon_0 \vec{E} + \vec{P} \quad (1.4)$$

avec  $\vec{E}$  le champ électrique,  $\vec{P}$  la polarisation du matériau,  $\varepsilon_r$  la permittivité diélectrique relative et  $\varepsilon_0$  la permittivité diélectrique du vide. Dans le cas d'un matériau diélectrique isotrope, la polarisation induite est supposée proportionnelle au champ électrique telle que :

$$\vec{P} = \varepsilon_0 \chi \vec{E} \quad (1.5)$$

Ici, la susceptibilité électrique du matériau,  $\chi$ , est introduite comme un coefficient de proportionnalité. Nous verrons plus loin qu'il s'agit d'une grandeur complexe directement liée à l'indice de réfraction complexe d'un milieu diélectrique. Ces premières équations étant posées, le modèle simplifié d'un matériau diélectrique peut être décrit. On considère un système constitué d'une assemblée de molécules diatomiques (atomes A et B), constituant  $\mathcal{N}$  oscillateurs harmoniques par unité de volume, indépendants les uns des autres. Le calcul de l'équilibre des forces à l'application d'un champ électrique  $\vec{E}$  sur un dipôle donne l'expression de l'élongation induite  $x = \frac{\delta q \vec{E}}{\kappa}$  où  $\delta q$  est la charge partielle de chaque atome et  $\kappa$  la constante de raideur de l'oscillateur. Sachant que  $\vec{P} = \mathcal{N} \delta q x$ , et d'après l'Eq. 1.5, on en déduit l'expression de la susceptibilité électrique en régime statique :

$$\chi = \frac{\mathcal{N} \delta q^2}{\varepsilon_0 \kappa} \quad (1.6)$$

Lorsque le champ électrique appliqué est retiré, l'oscillateur vibre mais va s'amortir jusqu'à atteindre sa position d'équilibre. Le principe fondamental de la dynamique (PFD) s'écrit alors :

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} = -m \omega_0^2 x - 2m\Gamma \frac{dx}{dt} \quad (1.7)$$

où  $m\omega_0 = \kappa$  ( $\omega_0/2\pi$  est la fréquence de résonance) et où le second terme traduit la force de frottement fluide proportionnelle à la vitesse de l'oscillateur avec  $\Gamma$  une constante homogène à une fréquence. La solution de l'oscillateur harmonique amorti est :

$$x(t) = x_0 e^{-\Gamma t} \cos(\omega_0 t + \phi) \quad (1.8)$$

où  $x_0$  est l'amplitude de vibration et  $\phi$  la phase de vibration. Si on ajoute un champ électrique oscillant, l'Eq. 1.7 devient celle d'un oscillateur harmonique en régime forcé :

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} = -m \omega_0^2 x - 2m\Gamma \frac{dx}{dt} + \delta q E \quad (1.9)$$

Dans le cas particulier d'une onde sinusoïdale, le champ électrique est tel que  $\mathcal{E}(t) = \mathcal{E} e^{-i\omega t}$  et induit une élongation  $\xi(t) = \xi e^{-i\omega t}$ . Après remplacement des termes dans l'équation différentielle 1.9, on obtient la solution en régime forcé :

$$\xi = \frac{\delta q/m}{(\omega_0^2 - \omega^2) - 2i\Gamma\omega} \mathcal{E} \quad (1.10)$$

D'après l'expression de  $\vec{P}$  on en déduit une polarisation complexe  $\mathcal{P}$  et donc l'expression de la susceptibilité électrique complexe  $\chi(\omega)$  :

$$\chi(\omega) = \frac{\mathcal{N} \delta q^2}{m \varepsilon_0} \frac{1}{(\omega_0^2 - \omega^2) - 2i\Gamma\omega} \quad (1.11)$$

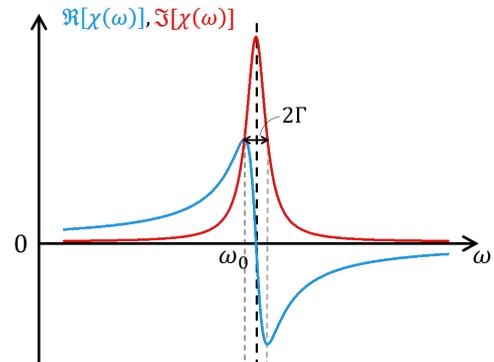
Plusieurs régimes peuvent alors être distingués :

- lorsque  $\omega \ll \omega_0$  :  $\xi$  est considéré comme réel et est donc en phase avec le champ électrique incident,
- à la résonance : ( $\omega = \omega_0$ )  $\xi$  devient un imaginaire pur et est donc déphasé de  $\pi/2$  par rapport au champ électrique,
- lorsque  $\omega \gg \omega_0$  :  $\xi$  est en opposition de phase par rapport au champ électrique,

- proche de la résonance, lorsque ( $\omega \approx \omega_0$ ),  $\xi(\omega)$  est de la forme de l'Eq.1.10.

Dans ce dernier cas, on voit alors que  $\chi$  est complexe et possède donc une partie réelle et une partie imaginaire telles que :

$$\begin{aligned} \text{Im} \chi(\omega) &\propto \frac{\Gamma}{(\omega_0 - \omega)^2 + \Gamma^2} \\ \text{Re} \chi(\omega) &\propto \frac{\omega_0 - \omega}{(\omega_0 - \omega)^2 - \Gamma^2} \end{aligned} \quad (1.12)$$



**FIGURE 1.4** – Représentation des parties réelle et imaginaires de la susceptibilité électrique

L'indice de réfraction d'un milieu est le rapport de la vitesse  $v$  de la lumière dans ce milieu par la vitesse  $c$  de la lumière dans le vide. On sait que :

$$\begin{aligned} v &= \frac{1}{\sqrt{\varepsilon\mu}} \\ c &= \frac{1}{\sqrt{\varepsilon_0\mu_0}} \end{aligned} \quad (1.13)$$

Par définition, un milieu non magnétique a une perméabilité  $\mu$  égale à celle du vide  $\mu_0$ . Alors,

$$n = \frac{c}{v} = \sqrt{\varepsilon_r} \quad (1.14)$$

D'autre part, en combinant les Eq.1.4 et 1.5, il vient :

$$\varepsilon_r = 1 + \chi \quad (1.15)$$

En remplaçant  $\varepsilon_r$  par son expression 1.15, on peut enfin écrire :

$$\tilde{n} = \sqrt{1 + \chi(\omega)} \quad (1.16)$$

Précédemment, nous avons démontré que  $\chi(\omega)$  était une grandeur complexe. Par conséquent l'indice de réfraction l'est aussi, tel que :

$$\begin{aligned} n'(\omega) &= \Re \sqrt{1 + \chi(\omega)} \\ n''(\omega) &= \Im \sqrt{1 + \chi(\omega)} \end{aligned} \quad (1.17)$$

D'après la relation de dispersion, on peut remplacer  $k = \tilde{n} \frac{\omega}{c}$  dans l'expression d'une onde plane se propageant selon l'axe  $z$ , ce qui donne :

$$\mathcal{E}(z, t) = \mathcal{E} e^{i(n' \frac{\omega}{c} z - \omega t)} e^{-n'' \frac{\omega}{c} z} \quad (1.18)$$

Le premier terme traduit la variation de phase, et le second l'atténuation du faisceau en fonction de  $z$ . Pour traduire l'atténuation de l'intensité, il suffit de calculer le module du champ électrique au carré.

$$|\mathcal{E}|^2 e^{-2n'' \frac{\omega}{c} z} = |\mathcal{E}|^2 e^{-\alpha z} \quad (1.19)$$

Sachant que  $\omega = \frac{2\pi c}{\lambda}$ , l'égalité ci-dessus permet d'écrire le coefficient d'absorption  $\alpha(\lambda)$  :

$$\alpha(\lambda) = \frac{4\pi n''(\lambda)}{\lambda} \quad (1.20)$$

#### *II.1.4 Causalité et relations de Kramers Kronig*

Les indices de réfraction réel et imaginaire étant définis, nous pouvons montrer qu'ils sont liés par les relations mathématiques de Kramers Kronig. Les relations de Kramers Kronig ont été découvertes indépendamment par deux physiciens théoriciens, Hendrik Kramers et Ralph Kronig, dans les années 1920. En 1926, R.L. Kronig a publié un article sur la dispersion des rayons X dans lequel il fournit la base théorique pour les relations de Kramers Kronig [4]. Parallèlement, H.Kramers présente en 1927 une relation mathématique entre la partie réelle et imaginaire de la fonction de réponse d'un système quantique [5]. Ces deux travaux ont conduit à la formulation des relations de Kramers Kronig pour la première fois. Ces relations sont très générales et sont uniquement une conséquence du principe de causalité [6]. Appliqué au cas des indices de réfraction, le principe de causalité revient à dire que la réponse du matériau arrive après le champ qui l'a causé.

En mathématiques, toute fonction analytique peut être décomposée comme une somme de fonctions paire et impaire. De ce fait, et en utilisant les transformations de Fourier, les fonctions de Kramers Kronig peuvent être mises en évidence. Ici, la démonstration n'est pas développée d'un point de vue mathématique, mais les outils et la démarche principale sont donnés, permettant d'appréhender les résultats.

Pour décrire le principe de causalité, on utilise une fonction causale, où la conséquence commence à un instant  $t = 0$ . La réponse à la cause (ici le champ EM incident) est alors nulle pour les temps négatifs. Cette fonction peut être construite à partir d'une fonction impaire non causale, et de la fonction signe, comme le montre la Fig. 1.5.

Dans le domaine temporel :

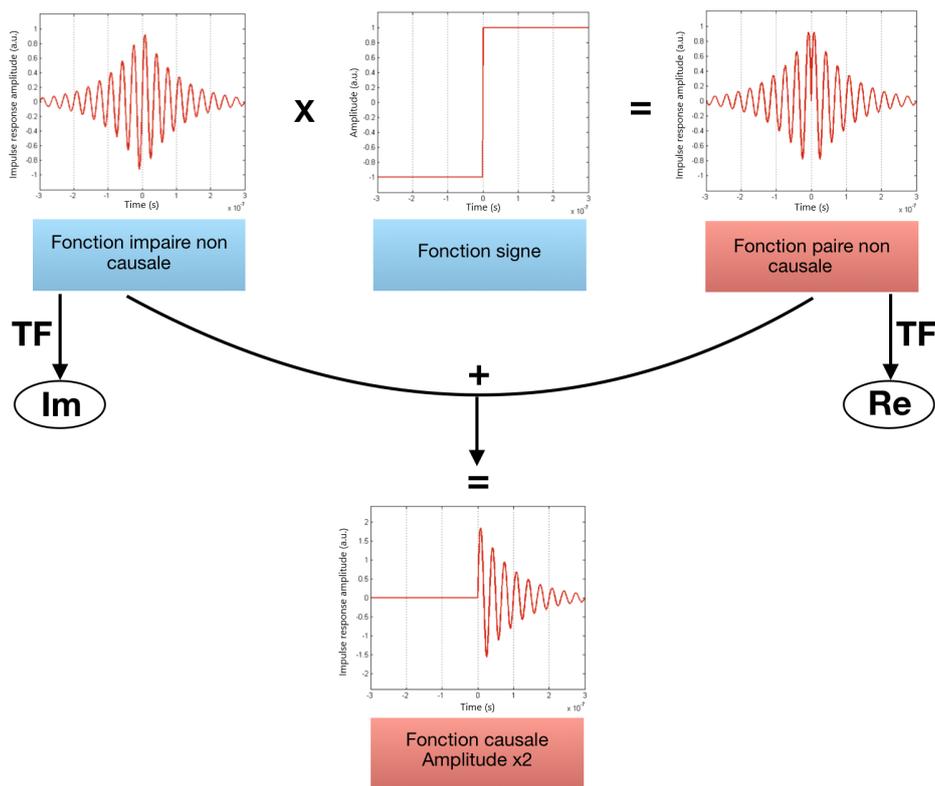


FIGURE 1.5 – Schéma logique n°1 des résultats menant à Kramers Kronig.

- Une fonction impaire non causale multipliée par la fonction signe  $sgn$  donne une fonction paire non causale,
- La somme de deux fonctions paire et impaire donne une fonction causale dont l'amplitude est doublée.

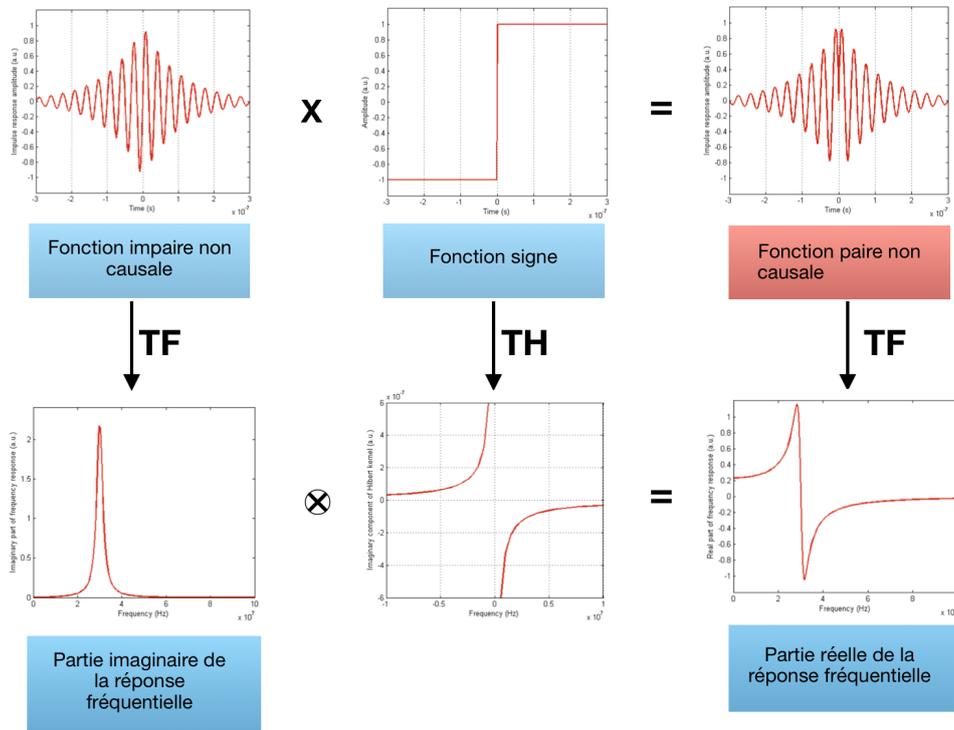
Dans le domaine fréquentiel :

- La transformée de Fourier (TF) d'une fonction paire donne la partie réelle de la réponse fréquentielle,
- La TF d'une fonction impaire donne la partie imaginaire de la réponse fréquentielle.

Appliqué à notre cas, la susceptibilité est la réponse impulsionnelle du matériau à l'excitation par le champ incident, autrement dit la TF de la réponse temporelle. La transformée de Hilbert (TH) permet de faire le lien entre les parties réelle et imaginaire de la réponse impulsionnelle du matériau (voir Fig.1.6). Ainsi, la partie réelle de la réponse fréquentielle d'une impulsion causale peut être calculée en connaissant uniquement la partie imaginaire et inversement. Tous calculs faits, les relations de Kramers Kronig sont alors définies comme suit. Soit  $f(\omega) = f_1(\omega) + i f_2(\omega)$  la TF d'une fonction causale.  $f_1(\omega)$  et  $f_2(\omega)$  sont liées par les relations de Kramers Kronig :

$$\begin{aligned}
 f_1(\omega) &= \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega f_2(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\
 f_2(\omega) &= -\frac{2\omega}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{f_1(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega
 \end{aligned}
 \tag{1.21}$$

où  $P$  est la valeur principale de Cauchy, qui élimine les singularités de l'intégrande.



**FIGURE 1.6** – Schéma logique n°2 des résultats menant à Kramers Kronig.

On peut alors appliquer ces formules à la susceptibilité électrique, conséquence de l'interaction du matériau avec le champ EM incident. Les formules deviennent :

$$\begin{aligned} \chi'(\omega) &= \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega \chi''(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ \chi''(\omega) &= -\frac{2\omega}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\chi'(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \end{aligned} \quad (1.22)$$

Enfin, d'après les Eq.1.17 et 1.20, les relations de Kramers Kronig liant les parties réelle et imaginaire de l'indice de réfraction  $n'(\omega)$  et  $n''(\omega)$  s'écrivent :

$$\begin{aligned} n'(\omega) &= 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega n''(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ n''(\omega) &= -\frac{2\omega}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{n'(\Omega) - 1}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \end{aligned} \quad (1.23)$$

Ces relations de Kramers Kronig permettent alors de calculer l'indice réel à partir de l'indice imaginaire et inversement. Elles montrent que la partie réelle et imaginaire de l'indice de réfraction sont liées de manière causale, c'est-à-dire que la partie imaginaire ne peut exister que si la partie réelle est également présente. Ces relations seront utilisées plus tard pour retrouver l'indice de réfraction réel à partir de mesures d'absorbance.

## II.2 Etat de l'art des principales techniques de spectroscopie vibrationnelle

Les différents phénomènes d'absorption et de diffusion évoqués en Sec. II.1.2 servent à analyser qualitativement et quantitativement des échantillons constitués de molécules ayant une réponse dans l'IR. Ces techniques de spectroscopie vibrationnelle permettent des mesures dites *sans marquage*, c'est à dire sans ajout de réactif avant la mesure, ce qui réduit le temps d'analyse et permet de s'affranchir de potentielles erreurs d'interprétation. De plus, il s'agit de techniques non destructives, ce qui permet plusieurs mesures successives sur un même échantillon.

### II.2.1 La spectroscopie Raman

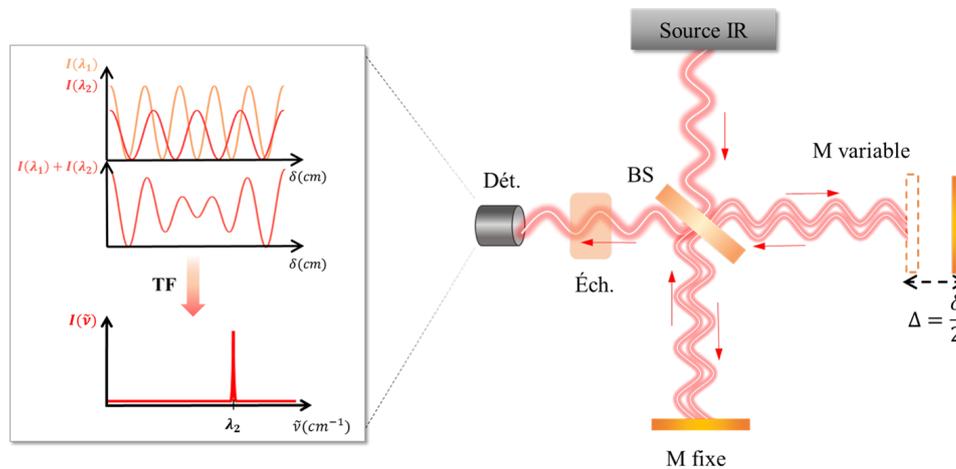
L'effet Raman, décrit en sous-section II.1.2, est découvert en 1928 par le physicien C. V. Raman, qui obtient alors le Prix Nobel en 1930 [7]. La spectroscopie Raman est une technique d'analyse spectroscopique qui permet d'obtenir des informations sur la structure moléculaire d'un échantillon en étudiant la diffusion inélastique des photons. En effet, le Raman mesure une variation de la polarisabilité du nuage électronique par rapport à la position des noyaux. Cela se traduit par des transitions électroniques intramoléculaires qui activent les modes Raman et induisent un décalage de fréquence spécifique aux molécules étudiées. Cette technique consiste donc à envoyer un faisceau monochromatique sur l'échantillon à analyser, et à collecter avec un détecteur les photons diffusés par diffusion inélastique. Les molécules ont une plus grande probabilité d'être dans un état vibratoire fondamental (niveau d'énergie  $E_0$  sur la Fig. 1.3), si bien que la diffusion Stokes est plus intense que la diffusion anti-Stokes. Pour cette raison, c'est la diffusion inélastique Stokes qui est généralement utilisée pour la spectroscopie Raman. Les longueurs d'onde utilisées pour cette technique sont généralement dans l'ultra-violet (UV), le visible et le proche IR. Pour l'analyse d'échantillons biologiques, on utilise habituellement les longueurs d'onde 532 nm et 785 nm, loin d'une absorption pour éviter par exemple des signaux de fluorescence.

La spectroscopie Raman est une technique analytique qui présente plusieurs avantages. Tout d'abord, contrairement à d'autres techniques spectroscopiques, elle ne nécessite pas l'utilisation de marqueurs chimiques spécifiques pour analyser les molécules. Cela en fait une technique simple à mettre en œuvre et plus économique. De plus, elle peut être utilisée pour l'analyse d'échantillons hydratés, car les liaisons hydroxyles de l'eau ont un faible effet Raman, ce qui minimise les interférences dues à la présence d'eau, dans la mesure où celle-ci n'absorbe pas ou peu la longueur d'onde d'excitation. Cette propriété est particulièrement intéressante pour des applications *in vivo*, telles que l'analyse de tissus biologiques. Ainsi, la spectroscopie Raman a prouvé son efficacité pour des applications telles que le diagnostic de cancer, notamment de la peau, du sein, du cerveau, ou encore de la prostate [8]. Combiné à un microscope, le spectromètre Raman peut également être utilisé pour la détection de microparticules inférieures à 20  $\mu\text{m}$  dans l'environnement, notamment des MP dans l'eau [9].

La spectroscopie Raman nécessite généralement une préparation d'échantillon limitée [10], ce qui la rend plus rapide et plus facile à mettre en œuvre par rapport à d'autres techniques spectroscopiques. Cela permet une analyse rapide des échantillons et est particulièrement utile dans des situations où une analyse rapide est cruciale. Cependant, la spectroscopie Raman présente également des inconvénients. Tout d'abord, la spectroscopie Raman présente une faible efficacité relativement à d'autres techniques spectroscopiques. En effet, la probabilité qu'un photon

soit diffusé inélastiquement est de 1 sur  $10^8$ . Autrement dit, un seul photon sur  $10^8$  photons envoyés sur l'échantillon constitue le signal utile [10], ce qui limite la capacité de la technique à détecter des quantités faibles de molécules. Le rapport signal à bruit (Signal to Noise Ratio, SNR) de la spectroscopie Raman est habituellement de l'ordre de 30 à 80 [11], ce qui est bien inférieur à celui de la spectroscopie FTIR (SNR généralement autour de 1000) [12]. De plus, la fluorescence est un phénomène qui peut interférer avec le signal Raman [13], en particulier pour les échantillons biologiques qui ont souvent des propriétés fluorescentes intrinsèques. Pour le choix des longueurs d'onde, il est important de minimiser l'endommagement des échantillons. Ainsi, on préférera se décaler vers le rouge (longueurs d'onde moins énergétiques) pour l'analyse de tissus ou de cellules par exemple. De plus, il est nécessaire de trouver un compromis entre la suppression de la fluorescence et la maximisation du signal. Pour pallier ces inconvénients, la spectroscopie Raman nécessite la mise en œuvre d'une instrumentation plus complexe que d'autres techniques spectroscopiques. Différents instruments peuvent être utilisés, tels que des techniques de microscopie Raman confocale ou à modulation spatiale pour minimiser l'interférence avec la fluorescence, des lasers à longueurs d'onde plus élevées pour minimiser l'endommagement de l'échantillon lors de l'excitation, ou des détecteurs haute sensibilité pour améliorer la sensibilité de la technique.

## II.2.2 La spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)



**FIGURE 1.7** – Schéma de l'interféromètre de Michelson du spectromètre FTIR et principe de calcul de l'interférogramme.

La spectroscopie FTIR est la méthode de spectroscopie IR la plus répandue. Elle permet d'identifier les compositions biochimiques à partir des spectres vibratoires mesurés par absorption du faisceau incident [14]. Le spectromètre FTIR est donc largement utilisé en biologie, chimie et pharmacologie pour l'analyse des structures et des fonctions moléculaires, l'identification et l'analyse quantitative de la composition chimique des échantillons.

La spectroscopie à TF apparaît en 1958 [15], rendant alors possibles les mesures d'absorption dans l'IR. Son principe de fonctionnement repose sur un interféromètre de Michelson, constitué d'une source polychromatique, d'une lame semi-transparente, d'un miroir à position variable, d'un miroir fixe et d'un détecteur. L'échantillon à analyser est placé entre la lame

semi-transparente et le détecteur. Le faisceau polychromatique peut être considéré comme un ensemble de faisceaux monochromatiques d'intensité  $I_i$  et de longueur d'onde  $\lambda_i$ . Considérons le cas d'une seule onde d'intensité  $I_0$  et de longueur d'onde  $\lambda_0$ . Le faisceau est partiellement transmis et réfléchi par la lame semi-transparente. Les deux faisceaux résultants d'intensité  $I_0/2$  sont réfléchis par les deux miroirs. Les faisceaux provenant du miroir fixe et du miroir variable sont respectivement réfléchis et transmis à 50% vers le détecteur.

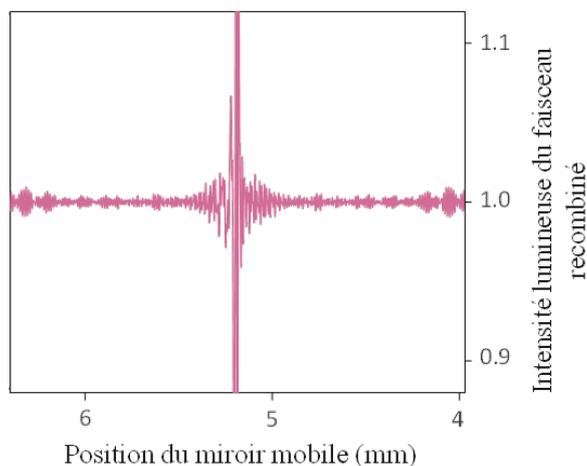
Les deux ondes résultantes d'intensité  $I_0/4$  créent alors des franges d'interférences constructives ou destructives en fonction de la différence de marche  $\delta$  introduite par la position du miroir variable par rapport au miroir fixe (voir Eq.1.24). Par exemple, si le miroir bouge de  $\Delta = \lambda_0/8$ , le faisceau parcourant deux fois cette distance, la différence de marche est  $\delta = \lambda_0/4$ .

$$I(\delta) = \frac{I_0}{2} \left( 1 + \cos\left(\frac{2\pi\delta}{\lambda_0}\right) \right) \quad (1.24)$$

Si l'on considère maintenant que plusieurs longueurs d'onde sont analysées simultanément, le détecteur mesure la somme de toutes les intensités résultantes.

$$I_S(\delta) = \sum_{\lambda=\lambda_0}^{\lambda_N} \frac{I(\lambda)}{2} \left( 1 + \cos\left(\frac{2\pi\delta}{\lambda}\right) \right) \quad (1.25)$$

La Fig.1.8 montre un exemple d'interférogramme obtenu en sortie du Michelson sans échantillon.



**FIGURE 1.8** – Exemple d'interférogramme obtenu en sortie de l'interféromètre de Michelson du spectromètre FTIR.

A l'ajout d'un échantillon absorbant, le résultat de cette somme sera alors impacté par le fait que l'échantillon aura plus ou moins absorbé une certaine longueur d'onde. La TF de l'interférogramme est ensuite calculée, ce qui permet d'obtenir des pics aux longueurs d'onde absorbées par l'échantillon, dont la hauteur est proportionnelle à l'intensité de sortie. En effectuant d'abord une mesure de référence, puis une mesure avec échantillon, on obtient ainsi la transmittance  $T(\nu) = \frac{I(\nu)}{I_{ref}(\nu)}$ .

Cette équation peut se réécrire comme la partie réelle de la TF de la fonction  $I(\nu)$  (à une constante près), telle que :

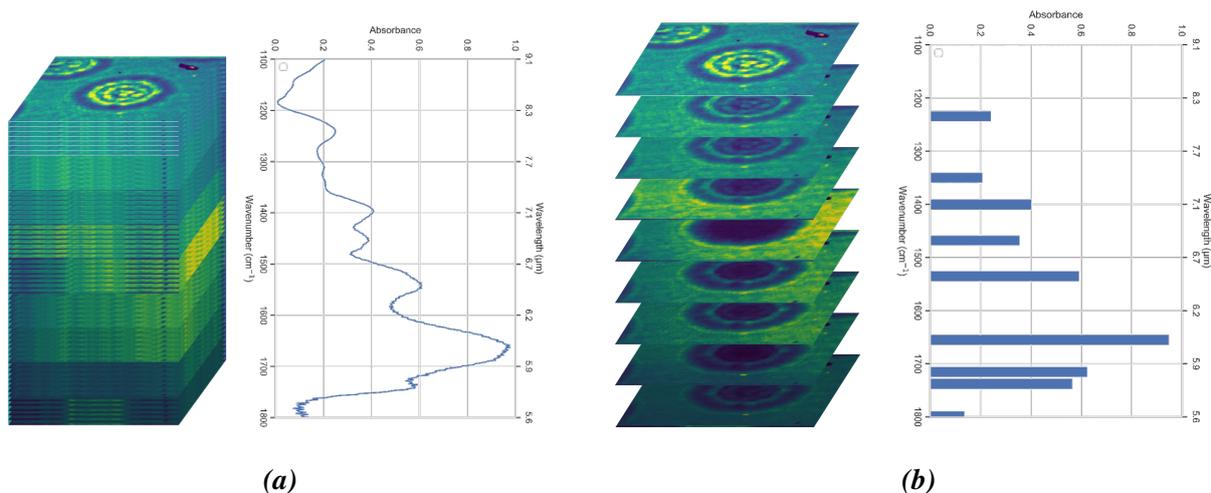
$$I_S(\delta) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\nu) \cos(2\pi\nu\delta) d\nu + C \quad (1.26)$$

Le début des années 1970 marque l'arrivée des premiers spectromètres FTIR sur le marché [16]. Au cours des années 1980, grâce aux avancées dans les technologies optiques et de détection, la microscopie FTIR est développée, combinaison d'un spectromètre FTIR et d'un microscope. Elle permet d'analyser des échantillons à l'échelle microscopique tout en fournissant des informations spectrales sur leur composition chimique. Cette technique permet de réaliser une carte de la distribution des composés chimiques d'un échantillon complexe ou hétérogène en effectuant un balayage de celui-ci avec le faisceau focalisé. La résolution spatiale est généralement de l'ordre de 10  $\mu\text{m}$ . L'imagerie hyperspectrale par microscopie FTIR est utilisée et a fait ses preuves pour l'analyse d'échantillons biologiques tels que des tissus cancéreux [17, 18] ou encore l'analyse de cellules sanguines [19]. En effet, les molécules d'ADN ou les protéines telles que l'amide I et l'amide II ont une réponse spécifique dans le MIR et permettent d'identifier des tissus à caractère cancéreux notamment en évaluant leur quantité dans l'échantillon analysé. En microbiologie, la spectroscopie FTIR permet d'étudier des colonies bactériennes pathogènes [20]. Les molécules polymères ont elles aussi des pics d'absorption dans l'IR. La microscopie FTIR peut donc également être utilisée pour la détection et l'identification de MP dans des prélèvements environnementaux, comme le polystyrène (PS) dans l'eau [21], après séchage des échantillons prélevés.

Outre le fait que cette méthode d'analyse soit *sans marquage* et non destructive, elle possède l'avantage de balayer une large gamme de fréquences IR, allant de l'IR proche à l'IR lointain. C'est aussi une méthode d'analyse très sensible qui permet la détection de faibles concentrations. De plus, le spectromètre FTIR est facile d'utilisation, avec une formation minimale requise pour l'opérateur. Cependant, l'utilisation du FTIR reste une méthode très coûteuse, pouvant aller jusqu'à plusieurs dizaines de milliers d'euros et atteignant plus de 100 000 euros pour les modèles couplés à des microscopes. Les sources polychromatiques IR des spectromètres FTIR ont une intensité trop faible pour pouvoir traverser des échantillons hydratés de plus de 10  $\mu\text{m}$  d'épaisseur [16, 22, 23], du fait de la forte absorption de l'eau dans l'IR (voir Sec.II.3), si bien que les échantillons doivent être préalablement déshydratés. Les détecteurs utilisés présentent également des avantages et des inconvénients. Généralement, il s'agit de détecteurs de tellure de mercure-cadmium (MCT) : ils sont très sensibles et offrent une large plage spectrale allant de l'IR moyen à l'IR lointain. Cependant, ils sont coûteux et fragiles, et nécessitent d'être refroidis à l'aide d'un cryostat à l'azote liquide pour obtenir des performances optimales. Le FTIR peut être combiné à un microscope (on parle alors de microscopie FTIR) et la reconstruction d'une image étant faite généralement point par point par les détecteur MCT peut prendre plusieurs heures (5-6 heures [24]) pour analyser une surface de 1  $\text{mm}^2$  seulement. L'acquisition directe d'images FTIR sans scan peut être une solution pour pallier cela [25], en utilisant des matrices de détecteurs réalisant les mesures simultanément. Les spectres sont alors résolus spatialement et permettent de réduire le temps d'acquisition jusqu'à un facteur 3 [26]. L'acquisition plus rapide des images a alors un double avantage. D'une part elle permet évidemment d'accélérer l'analyse de surfaces importantes comme dans le cas des tissus. D'autre part, elle peut être utilisée pour l'analyse de cultures de cellules par exemple, qui sont des échantillons dont la morphologie évolue dans le temps.

### II.2.3 *L'imagerie infrarouge multispectrale*

Le spectromètre FTIR et Raman précédemment décrits réalisent des mesures qualifiées ici d'hyperspectrales, c'est à dire que la gamme du spectre EM visée est scannée avec une finesse spectrale permettant d'avoir un continuum de longueurs d'onde (en général de  $400\text{ cm}^{-1}$  à  $4000\text{ cm}^{-1}$  et un pas de  $0.1\text{ cm}^{-1}$  pour une mesure au spectromètre FTIR par exemple). En effet, la spectroscopie FTIR ne permet pas de choisir un échantillonnage non régulier, puisque l'analyse repose sur le scan du déphasage par le miroir mobile du Michelson du FTIR. Ceci permet d'avoir des informations spectrales fines, précises, et ne nécessite qu'une connaissance limitée de la composition de l'échantillon, la seule condition étant d'avoir une réponse spécifique dans l'IR, ce qui est le cas pour les molécules organiques ou polymères. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, l'analyse hyperspectrale est chronophage et une première solution apportée est de paralléliser les mesures à l'aide d'un système d'imagerie, ce qui permet d'obtenir directement des informations morphologiques sur l'échantillon. Lors de mesures d'imagerie hyperspectrale, on obtient alors des hypercubes, c'est à dire un continuum d'images, chacune correspondant à une longueur d'onde scannée. Ceci permet alors de retracer le spectre d'absorption pour chaque pixel de l'image, autrement dit pour chaque zone de l'échantillon analysé.



**FIGURE 1.9** – Différence entre (a) Imagerie hyperspectrale et (b) imagerie multispectrale sur des colonies bactériennes. Schéma repris de [27].

Contrairement à l'imagerie hyperspectrale, l'imagerie multispectrale consiste à acquérir des images sur seulement quelques longueurs d'onde d'absorption spécifiques et connues des molécules à détecter, ce qui réduit considérablement le temps d'acquisition par rapport à l'imagerie FTIR (de plusieurs heures à quelques secondes). C'est la disponibilité de sources monochromatiques accordables qui permet désormais d'envisager l'imagerie multispectrale. Celle-ci a alors pour avantage d'utiliser une instrumentation plus simple que l'imagerie hyperspectrale, du fait de l'utilisation de sources monochromatiques accordables, telles que les QCLs, dont le principe de fonctionnement est détaillé dans la Sec.II.4.2. La simple utilisation d'une telle source et d'un imageur IR permet alors l'analyse d'échantillons. Pour que cette méthode puisse être utilisée, il faut cependant cibler précisément des longueurs d'onde d'intérêt, et donc avoir une

certaine connaissance de l'échantillon au préalable, ou des molécules à détecter. L'efficacité de l'imagerie multispectrale a été démontrée sur des échantillons de tissus cancéreux. [28–31].

## II.3 L'eau, une molécule problématique

Les techniques de spectroscopie vibrationnelle décrites précédemment demeurent cependant difficiles à réaliser en milieux aqueux, du fait de l'absorption prédominante de l'eau dans l'IR. Cette section fait part de la problématique et des enjeux des mesures en présence de molécules d'eau.

### II.3.1 *L'intérêt des mesures en milieu aqueux*

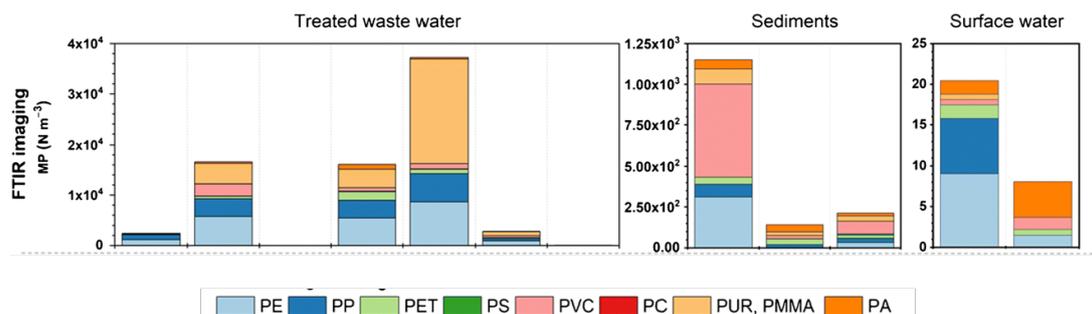
Les mesures sur échantillons hydratés constituent une problématique majeure en optique, notamment pour l'analyse d'échantillons biologiques, l'eau faisant partie intégrante du vivant (en général dans une proportion de 60 % à 90 %). L'analyse d'échantillons hydratés peut être intéressante pour les mesures *in vivo* ou de production, comme par exemple l'étude de l'évolution de colonies bactériennes, le suivi de cellules vivantes ou encore le diagnostic médical. Cependant, la forte absorption de l'eau dans la gamme spectrale d'intérêt du MIR (voir Sec. II.3.2) nécessite une déshydratation des échantillons avant analyse afin d'éviter que l'eau n'interfère avec les mesures et rende difficile l'identification de certains composés d'intérêt. Les tissus de biopsie peuvent alors être déshydratés par évaporation de l'eau (en milieu chaud et sec de 37 à 60 °C), grâce à un agent fixateur tel que le formaldéhyde ou encore à une solution d'alcool, en prenant soin de choisir la méthode la plus adaptée en fonction de l'objectif d'analyse et des caractéristiques de l'échantillon. Faciliter les mesures sur échantillons hydratés permettrait alors de diminuer le temps de diagnostic [32] en évitant cette préparation préalable des échantillons. Dans ce contexte de diagnostic médical, la mesure *in vivo* offrirait des avantages supplémentaires, tels que le diagnostic non invasif, en évitant le prélèvement d'échantillons de biopsie sur le patient<sup>3</sup>, la possibilité de surveiller l'évolution du cancer, ainsi que d'obtenir des informations sur la réponse du patient aux traitements<sup>4</sup>.

Aussi, la spectroscopie IR *in vivo* peut également être utilisée pour l'analyse d'échantillons environnementaux, tels que l'analyse de l'eau pour détecter les polluants, les contaminants et les MP en milieux aquatiques ou dans les organismes marins. Cette technique peut être particulièrement utile pour la surveillance de l'environnement et la gestion des ressources naturelles.

En effet, la production industrielle de plastique commence dans les années 1950, mais ce n'est qu'au début des années 1970 que le problème de l'impact environnemental est soulevé [34]. Dans le contexte actuel du changement climatique, la question de la pollution des eaux, des organismes vivants et plus généralement de l'environnement par les MP est un sujet de recherche à l'importance croissante. Les MP sont définis en 2009 par Arthur et al. comme des fragments de plastiques de taille inférieure à 5 mm [35]. Leur présence également détectée dans les sédiments marins est d'autant plus préoccupante que cela reflète un haut degré de pollution des eaux [36, 37]. La spectroscopie FTIR est la méthode la plus répandue pour l'identification des

3. Un bon exemple pour comprendre l'idée d'un diagnostic non invasif est la détection de cellules cancéreuses directement sur la peau.

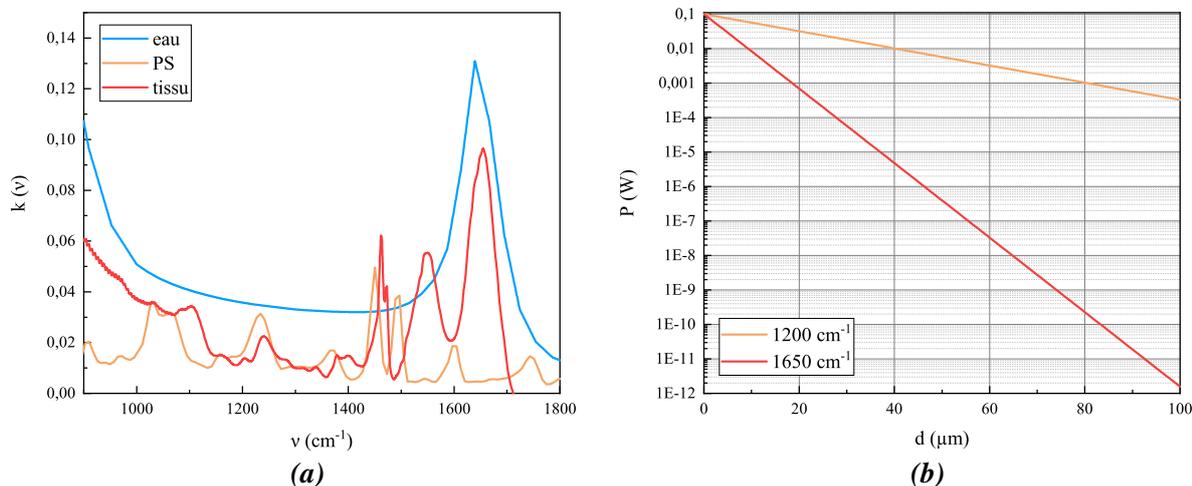
4. Tout ceci se fait déjà, mais par des moyens très coûteux.



**FIGURE 1.10** – Données quantitatives sur la composition des polymères individuels dans trois types d'échantillons environnementaux différents, obtenues par comptage de particules par imagerie FTIR. Repris et adapté de [33].

MP. Des étapes de filtration des échantillons doivent alors être mises en œuvre afin de séparer l'eau des MP à analyser [38]. La Fig.1.10 montre les différents types de MP quantifiés et identifiés par imagerie FTIR dans différents échantillons d'eaux usées après traitement, de sédiments et d'eaux de surface. Les principaux polymères identifiés sont le polyméthacrylate de méthyle (PMMA), le polychlorure de vinyle (PVC), le polyéthylène (PE) ou encore le polypropylène (PP). Rendre les mesures dans l'eau possibles permettrait une analyse plus rapide des échantillons. Il serait même imaginable de réaliser ces mesures directement sur le lieu de prélèvement, pourquoi pas même au moyen d'un dispositif accessible à tous, dans un contexte où la sensibilisation à la pollution de l'environnement devient plus que nécessaire.

### II.3.2 La forte absorbance de l'eau dans le moyen infrarouge



**FIGURE 1.11** – (a) Comparaison des indices de réfraction imaginaires de l'eau (source : *refractiveindex.info*), du PS [39] et d'un tissu de biopsie (déshydraté, fixé en paraffine et mesuré au FTIR). (b) Evolution de la puissance optique (10 mW incidents) avec l'épaisseur traversée (de 0 à 100 μm) d'un échantillon d'eau.

A plusieurs reprises dans ce chapitre, l'absorption de l'eau dans l'IR et plus précisément dans le MIR a été évoquée comme problématique et constituant un interférent majeur pour les mesures en spectroscopie vibrationnelle.

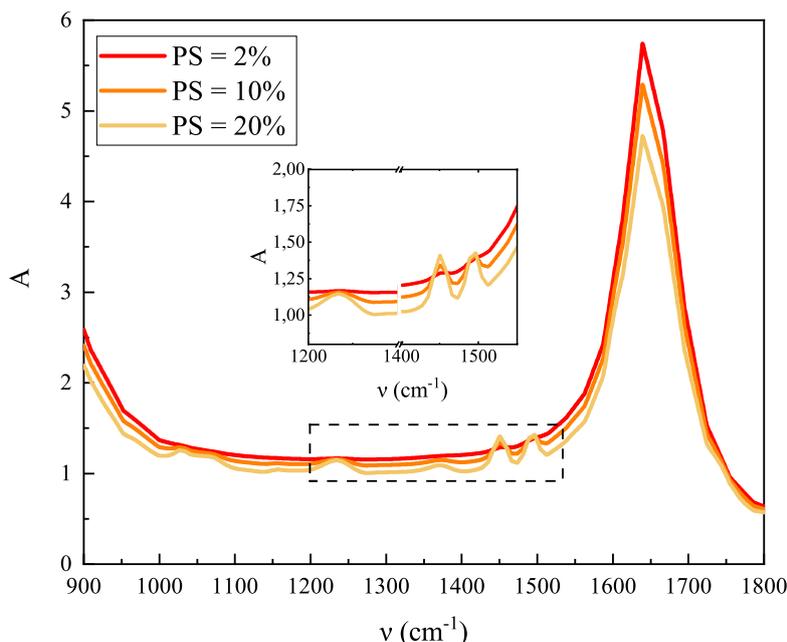
La Fig. 1.11.a est un spectre des indices imaginaires  $k(\nu)$  de l'eau, du PS et d'un tissu de biopsie déshydraté et fixé en paraffine. On distingue plusieurs pics signatures pour l'identification du PS. Le tissu de biopsie, quant à lui, présente plusieurs pics correspondants à différentes molécules distinctes. Le Tab. 1.1 regroupe les différentes longueurs d'onde d'intérêt pour l'étude de ces échantillons. Entre  $1000\text{ cm}^{-1}$  et  $1600\text{ cm}^{-1}$ , l'absorption constitue un fond continu, ce qui peut rendre difficile les mesures d'absorbance en transmission d'échantillons hydratés, en fonction du rapport entre la quantité d'eau et d'analyte. Plus la proportion d'eau est élevée, plus la mesure de l'espèce d'intérêt sera difficile. L'eau présente également un large pic d'absorption autour de  $1650\text{ cm}^{-1}$ , avec un point culminant à  $1643\text{ cm}^{-1}$ , correspondant à la vibration de flexion de l'angle H-O-H [40]. Ce pic est confondu avec celui de l'amide I dans le cas des tissus de biopsie, ce qui implique une identification très complexe de cette molécule d'intérêt sans déshydratation de l'échantillon. Dans le cas des tissus, la problématique est en effet de quantifier certaines molécules par rapport à d'autres, ce qui implique de remonter à la hauteur relative des pics. Dans le cas du PS, c'est le pic de la double liaison carbonyle C=O à  $1600\text{ cm}^{-1}$  qui est le plus impacté par l'absorption de l'eau, d'autant plus que son coefficient d'extinction  $k$  est bien plus faible que celui de l'eau à cette longueur d'onde. Pour identifier et quantifier le PS, on peut par contre cibler un autre pic, par exemple celui dont le coefficient  $k$  est supérieur à celui de l'eau, à  $1492\text{ cm}^{-1}$ , pour espérer récupérer un maximum de signal, dans la mesure où la quantité d'eau par rapport au PS permet de distinguer l'absorbance de ce dernier.

Molécule/Groupe/Liaison	Signature spectrale
Tissu de biopsie	
ADN	$1080\text{ cm}^{-1}, 1240\text{ cm}^{-1}$
Amino acide - fonction carboxylique	$1398\text{ cm}^{-1}$
Amide II	$1550\text{ cm}^{-1}$
Amide I	$1650\text{ cm}^{-1}$
Polystyrène [41]	
C-H	$1030\text{ cm}^{-1}$
C-C	$1250\text{ cm}^{-1}$
CH <sub>2</sub>	$1373\text{ cm}^{-1}$
C=C (groupe aromatique C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )	$1452\text{ cm}^{-1}, 1492\text{ cm}^{-1}, 1600\text{ cm}^{-1}$
C=O	$1600\text{ cm}^{-1}, 1747\text{ cm}^{-1}$

**TABLE 1.1** – Identification des principaux pics d'absorption dans les spectres MIR du PS et d'un tissu de biopsie.

La Fig. 1.11.b montre l'évolution de puissance d'un faisceau monochromatique (10 mW incidents) après transmission par un échantillon contenant de 0 à  $100\text{ }\mu\text{m}$  d'eau. Deux longueurs d'onde sont représentées. La courbe orange correspond à une absorption à  $1200\text{ cm}^{-1}$ , au niveau du fond continu d'absorption de l'eau. La courbe rouge correspond quant à elle à une absorption d'un faisceau de longueur d'onde  $1650\text{ cm}^{-1}$ , là où l'absorbance est la plus importante. La loi de Beer Lambert étant exponentielle en fonction de l'épaisseur  $d$  traversée (voir Eq. 1.3), la perte de puissance peut être supérieure à 100 dB pour un échantillon de  $100\text{ }\mu\text{m}$  d'eau (voir Tab. 1.2).

$\nu$	50 $\mu\text{m}$	100 $\mu\text{m}$
1200 $\text{cm}^{-1}$	-12 dB	-25 dB
1650 $\text{cm}^{-1}$	-53 dB	-108 dB

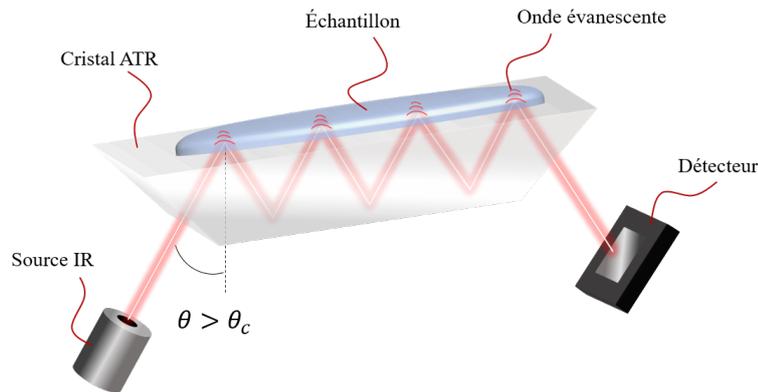
**TABLE 1.2** – Perte de puissance d'un faisceau laser à travers 50  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  d'eau

**FIGURE 1.12** – Absorbance d'un échantillon hypothétique de 50  $\mu\text{m}$  d'épaisseur totale, constitué de différentes proportions de PS dans l'eau.

Pour se rendre davantage compte de la problématique de la présence d'eau, il est intéressant de regarder l'absorbance  $A$  d'un échantillon contenant à la fois de l'eau et l'espèce à analyser. La Fig.1.12 montre l'absorbance de plusieurs échantillons hypothétiques de PS dans l'eau en proportions variables. On remarque que, du moins à cette échelle, pour 2 % et 10 % de polystyrène dans 50  $\mu\text{m}$  d'eau, il devient très difficile de distinguer les pics d'absorption du PS de l'absorbance de l'eau, même dans la zone spectrale du fond continu d'absorption de celle-ci. Pour 20 % de polystyrène, les pics de celui-ci sont distinguables, sauf pour la zone la plus absorbante, sous le pic de l'eau à 1643  $\text{cm}^{-1}$  (le pic du C=O à 1600  $\text{cm}^{-1}$  ne se distingue plus du tout). Cela montre qu'une mesure unique à une longueur d'onde ne suffit pas à conclure sur la présence de PS, car l'absorption peut aussi provenir d'une variation de quantité d'eau. Ceci illustre d'autant plus les difficultés rencontrées lors de mesures classiques de spectroscopie vibrationnelle impliquant l'absorption de l'échantillon. Cependant, on pourrait imaginer une mesure indirecte de la présence de PS dans l'eau. En effet, on remarque que plus il y a de PS, moins l'absorbance de l'eau est importante (ce qui est le résultat du modèle *couches* introduit au Chap.2, Sec.III.1.1). Ainsi, on pourrait imaginer une méthode où une mesure comparative dans l'eau seule pourrait rendre compte de la présence de MP. Par contre, ceci ne permettrait pas d'identifier une espèce en particulier, mais simplement de détecter sa présence.

## II.4 Les solutions à l'absorption de l'eau

La présence d'eau n'est cependant pas définitivement insurmontable. En effet, d'autres méthodes et des sources plus puissantes existent afin de réduire son influence sur les mesures.

### II.4.1 La spectroscopie infrarouge en réflexion totale atténuée

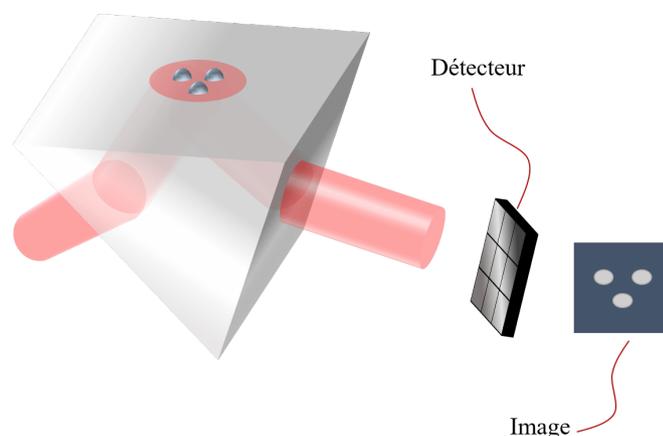


**FIGURE 1.13** – Principe de la réflectance totale atténuée

Les mesures au spectromètre FTIR en transmission demandent une préparation des échantillons parfois fastidieuse et chronophage afin d'obtenir des spectres de haute qualité. La réflexion totale atténuée (Attenuated Total Reflection, ATR) est une technique d'analyse spectroscopique qui exploite le phénomène de la réflexion totale interne de la lumière, et permettant d'obtenir des spectres sur des échantillons aussi bien liquides que solides, sans préparation complexe [26]. Le principe de base de l'ATR repose sur l'utilisation d'un cristal à indice de réfraction élevé tel que le diamant ( $n = 2.40$ ), le sélénium de zinc ( $n = 2.43$ ), le silicium ( $n = 3.42$ ), ou le germanium ( $n = 4.01$ ) en contact avec l'échantillon à analyser, ce qui permet le phénomène de réflexion totale. La lumière est envoyée sur le cristal avec un angle d'incidence supérieur à l'angle critique, qui est l'angle d'incidence à partir duquel il y a réflexion totale. Si l'angle d'incidence est inférieur à l'angle critique, la lumière est transmise. S'il est égal à l'angle critique, la lumière est totalement réfléchie dans le prisme. Pour qu'il y ait une réflexion totale à l'interface entre le cristal et l'échantillon, l'angle d'incidence doit être supérieur à l'angle critique. Cependant, cette réflexion n'est en fait pas exactement totale, puisqu'une petite partie de la lumière pénètre en fait dans l'échantillon au niveau des points de réflexion, d'où l'appellation de réflexion totale *atténuée*.

Il s'agit d'une onde évanescente dont l'intensité décroît exponentiellement avec la profondeur. Cette onde évanescente atteint une profondeur d'environ une longueur d'onde à partir de la surface de l'échantillon. Cette région, où l'onde pénètre dans l'échantillon, est appelée la profondeur de pénétration. Cette profondeur dépend de plusieurs facteurs. Le premier est la longueur d'onde du faisceau monochromatique. En effet, la profondeur de pénétration augmente avec la longueur d'onde, ce qui signifie que les pics d'absorption de l'échantillon auront une intensité plus élevée aux plus grandes longueurs d'onde (i.e. aux plus faibles nombres d'onde). La deuxième variable est la différence d'indice de réfraction entre le cristal et l'échantillon. Un cristal comme le germanium, avec un indice de réfraction plus élevé, aura une profondeur de

pénétration plus faible qu'un cristal comme le diamant. Une dernière variable, celle de l'angle d'incidence, peut influencer la profondeur de pénétration, mais il n'est généralement pas accessible à l'utilisateur. La profondeur de pénétration dans l'échantillon est importante car elle correspond effectivement à la longueur de trajet optique, et selon la loi de Beer Lambert, plus cette longueur est grande, plus l'absorbance est élevée. Lors d'une mesure ATR, il y a généralement plusieurs réflexions où l'onde évanescente pénètre dans l'échantillon. Dans ce cas, la longueur de trajet optique réelle est la somme de chacune de ces réflexions. En d'autres termes, plus il y a de réflexions ATR, plus la longueur de trajet est grande et meilleure est la sensibilité. Ainsi, les ondes évanescentes sont successivement plus ou moins absorbées par l'échantillon aux longueurs d'onde correspondant aux vibrations moléculaires spécifiques des espèces présentes. En sortie du cristal, le faisceau est ensuite recueilli et analysé par un détecteur, qui enregistre le spectre d'absorption IR. Ce spectre peut être utilisé pour identifier les composants présents dans l'échantillon, déterminer leur structure moléculaire, caractériser les liaisons chimiques et étudier les interactions moléculaires.



**FIGURE 1.14** – Principe de base de l'imagerie ATR-FTIR.

Les spectromètres FTIR possèdent l'instrumentation nécessaire à la réalisation de mesures ATR. Ainsi, la technique dite ATR-FTIR est largement utilisée depuis les années 1970 [42]. L'avantage de l'ATR par rapport à la spectroscopie FTIR réside dans le fait que la mesure ne dépend pas de l'épaisseur de l'eau, mais seulement de la profondeur de pénétration. Ceci permet de garder une puissance détectable en sortie du cristal quelque soit l'épaisseur de l'échantillon. Pour les MP, bien que cette méthode n'ait pas encore été testée à notre connaissance sur des échantillons hydratés, elle permet par exemple d'analyser et de classer des MP par taille ([43, 44]). En effet, le contact entre l'espèce à analyser et le cristal ATR doit être étroit, or, les MP sont le plus souvent en suspension dans l'eau, si bien que la faible profondeur de pénétration (entre 1 et 3  $\mu\text{m}$  généralement [45]) de l'onde évanescente ne permettrait probablement pas de les atteindre pour les mesurer ou les encore les imager. Sur échantillons biologiques, on peut donner l'exemple de mesures sur des échantillons lyophilisés de ménisques humains [46]. Cependant, des mesures *in vivo* ont été réalisées pour la première fois par M.K. Kuimova et al., qui ont imagé des cellules cancéreuses dans leur environnement aqueux naturel [47]. Comme pour la spectroscopie FTIR, l'ATR-FTIR peut être utilisée comme technique d'imagerie, avec une approche cartographique en utilisant des détecteurs monoéléments, mais également en acquérant directement une image sur une matrice. Dans ce dernier cas, le champ imagé est plus

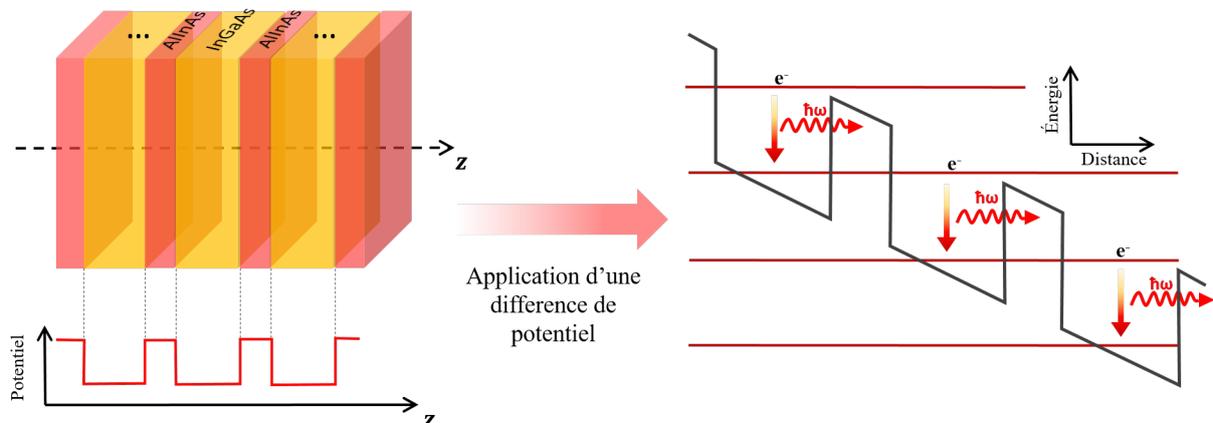
important que la section du faisceau, du fait de l'angle d'incidence sur le cristal [48], mais permet donc l'imagerie de régions d'intérêt d'une surface limitée (voir Fig.1.14).

Un autre inconvénient de l'ATR est que, sur échantillons biologiques, il n'est pas improbable que la présence du cristal ATR en contact avec l'échantillon entraîne des modifications morphologiques sur celui-ci [49].

#### II.4.2 Les lasers à cascade quantique : des sources à haute brillance

Une autre solution à la forte absorption de l'eau dans l'IR est d'augmenter la puissance incidente, pour récupérer un signal détectable en sortie d'un échantillon hydraté. Ceci peut être rendu possible par les QCLs. Les QCLs sont des sources IR monochromatiques à haute brillance qui tirent parti de l'effet tunnel pour leur fonctionnement. La proposition initiale de ce concept date de 1971 par R.F. Kazarinov et R.A. Suris [50], et sa mise en pratique a été réalisée pour la première fois en 1994 au sein des Laboratoires Bell par J. Faist et al. [51]. Les QCLs sont composés de matériaux semi-conducteurs disposés de manière stratégique. Ces couches sont généralement constituées d'alliages d'arséniure de gallium (GaAs) et d'arséniure d'aluminium (AlAs) sur substrat de phosphure d'indium (InP) [52]. Cet empilement de couches de semi-conducteurs forme la zone active, qui, en terme de bandes énergétiques, forme des puits quantiques multiples qui maximisent le rendement et permettent la sélection de la longueur d'onde émise. Ces puits quantiques offrent des sites propices aux transitions énergétiques des électrons entre les bandes de valence et de conduction, induisant ainsi l'émission de photons allant de l'IR aux térahertz (THz) (de  $3\ \mu\text{m}$  à  $300\ \mu\text{m}$ ). Dans le MIR plus précisément, les longueurs d'onde de fonctionnement vont typiquement de  $3\ \mu\text{m}$  à  $12\ \mu\text{m}$  [53].

En appliquant une tension, les puits quantiques forment une structure en escalier où, par le biais de l'effet tunnel, les électrons peuvent passer d'un puits à un autre, alternant entre les bandes de valence et de conduction (voir Fig.1.15). Ce mécanisme en cascade, qui confère son nom au laser à cascade quantique, permet la génération cohérente de transitions électroniques et produit un faisceau laser de haute qualité.



**FIGURE 1.15** – Schéma illustrant le principe de fonctionnement des QCLs. Empilement de matériaux semi-conducteurs (à gauche). Puits de potentiel correspondants et émission de photons en cascade par effet tunnel après application d'une tension (à droite).

Les QCLs offrent divers avantages significatifs. Ils se distinguent par leur grande flexibilité en termes de longueurs d'ondes, la conception de leur zone active leur permettant de couvrir une vaste gamme spectrale de plusieurs centaines de  $\text{cm}^{-1}$ . De plus, les QCLs fonctionnent à température ambiante, éliminant ainsi le besoin de refroidissement à l'azote. Ces lasers peuvent atteindre des puissances spectrales élevées, pouvant aller jusqu'à 10 W, avec une puissance courante d'environ 100 mW. Les QCLs ont donc l'avantage de délivrer une puissance élevée tout en restant adaptés à des applications biologiques [54]. Ils offrent également une résolution spectrale fine, atteignant jusqu'à  $0.01 \text{ cm}^{-1}$ . En outre, leur architecture compacte facilite leur intégration avec d'autres systèmes (voir Fig. 1.16), tandis que leur accordabilité permet de se focaliser uniquement sur les longueurs d'ondes d'intérêt, et ainsi réaliser des mesures multispectrales.



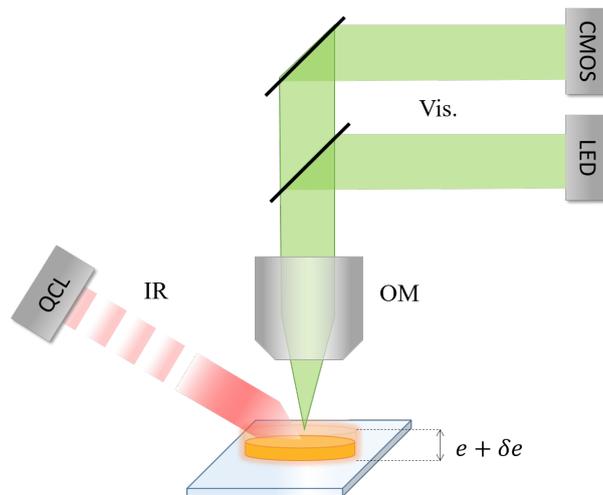
**FIGURE 1.16** – Photographie d'un packaging HHL (High heat load) pour QCL (Alpes Lasers). La sortie laser est visible en face avant, les broches d'alimentation à l'arrière. Pour comparaison, la vis mesure 1.7 cm de hauteur.

Contrairement à la spectroscopie FTIR, l'accordabilité des sources QCLs implique que la TF n'est plus nécessaire. Ces différentes caractéristiques rendent les mesures jusqu'à 150 fois plus rapides [55], passant de plusieurs heures pour un scan FTIR à quelques minutes grâce à la combinaison de QCLs et d'imageurs IR non refroidis [29, 49]. Ceci a été mis en oeuvre notamment pour l'imagerie de tissus fixés en paraffine [28, 56–58]. La puissance importante délivrée par les QCLs et l'amélioration de la rapidité d'acquisition en font cependant une source adéquate pour les milieux *in vivo*. Ainsi, sur échantillons biologiques en milieu aqueux, la haute brillance des QCLs a permis à Haase et al. de suivre en temps réel un organisme vivant en milieu aqueux [59]. Les QCLs ont également été largement utilisés pour l'analyse de MP [60–62]. Cependant, à notre connaissance, aucun système d'imagerie à base de QCLs n'a pour l'instant réalisé de mesures directement en milieu aqueux pour les MP. Globalement, malgré les avantages en terme de puissance de ces sources accordables, l'imagerie directe à base de QCLs reste assez rare, du fait de plusieurs facteurs à prendre également en compte comme la sensibilité des imageurs non refroidis ou encore l'altération possible des échantillons hydratés à une trop forte puissance incidente.

### II.4.3 La photothermie et la microscopie hybride visible/infrarouge

La forte puissance des QCLs (offrant tout de même une compatibilité avec les échantillons biologiques), et leur accordabilité en font une source idéale pour la photothermie. En effet, lorsqu'un rayonnement IR est absorbé par la matière, plusieurs phénomènes se produisent [63].

L'échauffement du matériau provoque une expansion thermique, un changement d'indice de réfraction, ou encore la génération d'ondes acoustiques. Ainsi, ces modifications peuvent être mesurées par interférométrie afin d'obtenir des informations sur la nature de l'échantillon. L'un des avantages de la photothermie est la possibilité d'analyser des échantillons en présence d'eau, car celle-ci a de faibles coefficients thermo-optique et d'expansion thermique [64]. Le signal mesuré provenant de l'interaction des photons IR avec les molécules d'eau ne constitue donc pas une gêne pour de telles mesures. Plusieurs méthodes de mesures sont alors possibles, notamment la photoacoustique [65] qui consiste à mesurer l'onde acoustique générée dans l'échantillon suite à l'absorption des rayonnements IR, ou l'interférométrie dans les longueurs d'onde du visible afin de mesurer de faibles variations d'indice de réfraction ou d'épaisseur.

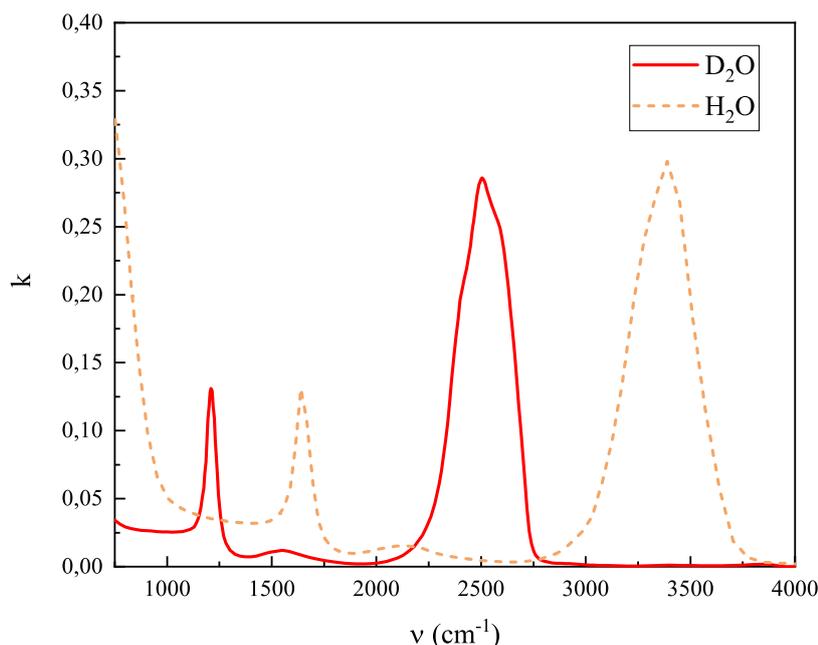


**FIGURE 1.17** – Schéma simplifié d'un montage optique en microscopie hybride visible/IR.

C'est le principe de la microscopie hybride optique-infrarouge (Infrared Optical Hybrid, IR-OH), qui présente l'avantage de mesurer la signature spectrale des espèces analysées tout en ayant la résolution submicrométrique du visible. La Fig. 1.17 présente l'une des configurations possibles combinant l'interférométrie visible et l'absorption des rayons IR pour mesurer l'expansion thermique d'un échantillon. En 2020, Schnell et al. ont montré l'efficacité de cette méthode de mesure sur un film de photorésine SU-8 de 5  $\mu\text{m}$ , permettant de mesurer une expansion thermique de l'ordre de 1 nm. En 2021, un principe de mesure interférométrique similaire a été utilisé par Zhang et al. pour mesurer la variation d'indice de réfraction induite par l'échauffement et ainsi détecter la présence de virus dans des échantillons biologiques hydratés [66]. Cependant, cette technique possède également des limitations, comme le montage relativement complexe mis en oeuvre dû à l'utilisation de deux sources laser différentes et d'un interféromètre.

#### II.4.4 L'utilisation de l'eau lourde comme solvant

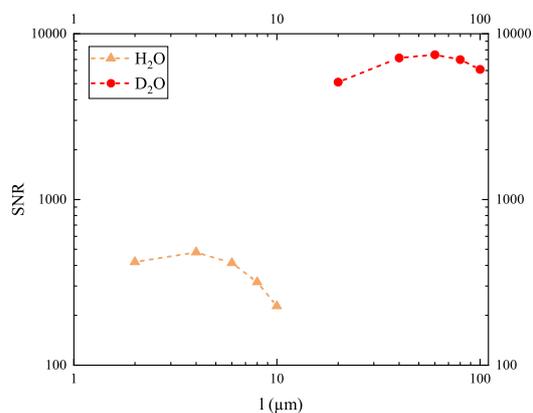
Lorsque l'utilisation d'un solvant est nécessaire pour l'analyse de composés chimiques dans l'IR tels que le glucose, les protéines ou d'autres analytes ne pouvant pas être conservés et mesurés autrement qu'en milieu aqueux, une solution existante est l'utilisation du deutérium oxyde ( $\text{D}_2\text{O}$ ) aussi appelé eau lourde. Le deutérium est un isotope de l'hydrogène, deux fois plus lourd que celui-ci, ce qui change alors la fréquence de vibration de la molécule selon



**FIGURE 1.18** – Indices de réfraction imaginaires  $k$  de l'eau (en pointillés orange) et de l'eau lourde (en trait plein rouge). Données extraites de [67].

l'Eq.1.1. La masse réduite de la molécule étant plus importante, la fréquence de vibration de la liaison est décalée vers des nombres d'onde plus faibles en comparaison des nombres d'onde d'absorption caractéristiques de l'eau (voir Fig.1.18). Les pics d'absorption caractéristiques de l'eau (à  $1650\text{ cm}^{-1}$  et  $3404\text{ cm}^{-1}$ ) sont respectivement décalés à  $1210\text{ cm}^{-1}$  et  $2504\text{ cm}^{-1}$  pour l'eau lourde.

Il est donc plus avantageux d'utiliser l'eau lourde pour l'analyse des espèces chimiques dont les pics d'absorption spécifiques se trouvent au niveau de ceux de l'eau. L'eau lourde présente alors un réel avantage pour les applications biologiques notamment, par exemple dans la région spectrale de l'amide I ( $1650\text{ cm}^{-1}$ ), où Vennyaminov et al. [68] ont montré que le SNR d'une mesure au FTIR est augmenté d'un facteur 25 pour l'eau lourde malgré une épaisseur traversée 10 fois plus importante (voir Fig.1.19). Ainsi, l'eau lourde est largement utilisée pour l'analyse des protéines [69, 70].



**FIGURE 1.19** – Comparaison des SNR d'une mesure au FTIR de l'absorbance d'une solution de lysozyme à  $C = 50\text{ mg mL}^{-1}$  en fonction du chemin optique dans l'eau (en orange) et l'eau lourde (en rouge). Données extraites de [68].

En effet, le fait d'utiliser de l' $\text{H}_2\text{O}$  implique de réduire le chemin optique du fait de la forte absorption de l'eau, mais aussi l'utilisation d'échantillons à la concentration 6 fois plus élevée [23,71], ce qui augmente considérablement le coût des échantillons et implique la formation de bulles d'air lors du remplissage des cuves microfluidiques car la viscosité de la solution augmente avec la concentration de protéines. De fait, les mesures du vivant peuvent même devenir invisibles. Cependant, les atomes de deutérium de l'eau lourde altèrent la dynamique et la structure de la protéine [72], ainsi, celle-ci est dénaturée si elle se trouve dans une solution d'eau lourde [73].

Finalement, bien que l'eau lourde présente l'avantage d'avoir un décalage d'absorption par rapport à l'eau, certaines situations expérimentales ne permettent pas ou limitent son utilisation.

### III L'holographie numérique et la mesure de phase

Nous avons vu dans les sections précédentes que la plupart des techniques de mesure *sans marquage* reposent sur le phénomène d'absorbance de la lumière IR par la matière. Or, nous avons également vu en Sec.II.1.3 que l'indice de réfraction est une valeur complexe, sa partie réelle traduisant le déphasage subi par l'onde lumineuse interagissant avec l'échantillon. Cette phase, et donc l'indice de réfraction réel  $n$  de l'échantillon analysé, sont mesurables, à condition de faire interagir deux ondes monochromatiques cohérentes : c'est le principe de l'interférométrie, utilisé pour réaliser de l'imagerie de phase par holographie numérique.

#### III.1 Généralités sur l'holographie et interférométrie

Les principes de l'holographie et de l'interférométrie sont très proches. Cependant, même si la configuration des montages optiques peut être similaire (c'est le cas par exemple avec l'interféromètre de Mach Zehnder (Mach Zehnder Interferometer, MZI)), il est commun de les différencier par leurs applications. En effet, l'interférométrie est généralement utilisée pour réaliser des mesures de précision de phase, de réfraction ou encore de déformation en analysant les franges d'interférences, tandis que le but premier de l'holographie est la reconstruction tridimensionnelle d'images, par l'enregistrement de la figure d'interférences, dans un milieu physique (holographie classique, sur une plaque photographique) ou sur un capteur d'images (holographie numérique). Cette section introduit les généralités et les bases théoriques sur l'interférométrie et l'imagerie de phase, avant de s'intéresser en particulier à la configuration et aux équations du MZI, ce qui servira à la compréhension des chapitres suivants. Puis, un état de l'art sur l'interférométrie et l'imagerie de phase, notamment dans le domaine du biomédical, sera établi.

##### III.1.1 Le principe de base de l'interférométrie

Le principe des interférences repose sur la superposition de deux ou plusieurs ondes lumineuses cohérentes. Lorsque ces ondes se rencontrent, elles interagissent et peuvent s'additionner ou se soustraire mutuellement en fonction des différences de phase entre elles.

L'intensité des franges d'interférence est bien connue et s'écrit [74] :

$$I_{int} = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Phi) \quad (1.27)$$

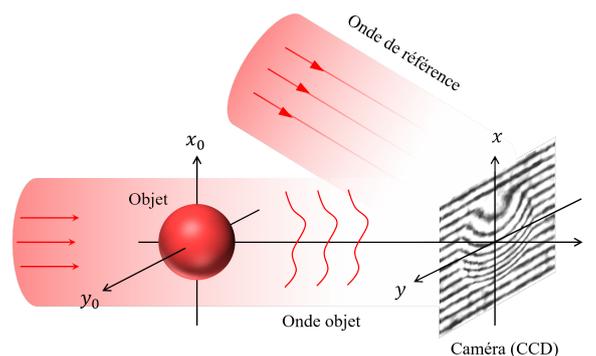
où  $I_1$  et  $I_2$  sont les intensités des deux ondes superposées en sortie de l'interféromètre, et  $\Phi$  est le déphasage entre ces deux ondes, pouvant être induit par la configuration de l'interféromètre lui-même et/ou par la rencontre d'un (des) faisceau(x) avec un (des) échantillons. Dans le cas où les deux ondes ont exactement la même intensité  $I$  en sortie de l'interféromètre, l'Eq. 1.27 devient :

$$I_{int} = I(1 + \cos(\Phi)) \quad (1.28)$$

La différence de phase entre les ondes détermine l'intensité des d'interférences observées. Il est facilement vérifiable avec l'Eq.1.28 que si la différence de phase est un multiple entier de  $2\pi$ , les ondes sont en phase et une interférence constructive se produit, tandis que si la différence de phase est un multiple impair de  $\pi$ , les ondes sont en opposition de phase et une interférence destructive se produit.

Les interférences spatiales créées par deux faisceaux (ou plus) en phase stable entre eux peuvent être observées expérimentalement en utilisant des dispositifs tels que des diviseurs de faisceau, des miroirs, des lames séparatrices ou des réseaux de diffraction. Les motifs d'interférence résultants peuvent être enregistrés sur un écran ou détectés par des capteurs pour l'analyse et l'interprétation ultérieures.

Les interférences sont largement utilisées dans de nombreux domaines, notamment en spectroscopie, en métrologie et dans diverses applications technologiques. Elles permettent de caractériser des systèmes optiques, de réaliser des mesures de précision ou encore de créer des images holographiques.



**FIGURE 1.20** – Principe de l'holographie hors axe

En effet, l'holographie repose sur ce phénomène d'interférences et consiste à reconstituer un objet en récupérant les informations d'amplitude et de phase d'une onde réfléchi par celui-ci ou l'ayant traversé [75]. L'holographie consiste à enregistrer les franges sur un milieu physique ou numérique. La phase d'un objet ne peut être codée que par la présence d'une seconde onde lumineuse (dite de référence) en plus de la source dite objet interagissant avec l'échantillon. Bien que le principe des hologrammes ait été découvert par Dennis Gabor en 1947 [76] (ce qui

lui valut le prix Nobel de physique en 1971), ce n'est qu'à partir des années 1960 que l'holographie se développe, grâce à l'apparition des sources laser cohérentes [77]. Ainsi, c'est en 1962 que les chercheurs américains Emmet N. Leith et Juris Upatnieks réalisent le premier hologramme d'un objet en trois dimensions [78].

Depuis les années 1990, l'holographie numérique est le sujet de nombreux articles. La différence avec l'holographie classique où une plaque photosensible est utilisée est que l'image d'interférences est enregistrée sur un détecteur (caméra CMOS, CCD pour la gamme du visible, bolomètres pour l'IR) et visualisée sur ordinateur après traitement des données par un algorithme. Deux configurations couramment utilisées sont la configuration hors axe et dans l'axe (respectivement "off axis" et "in line" en anglais, avec et sans angle entre l'onde objet et l'onde de référence). La Fig.1.20 est un schéma simplifié d'une configuration possible hors axe [79]. L'angle entre les deux ondes résulte en une figure d'interférences dont l'intensité en un point  $(x, y, z_H)$  s'écrit :

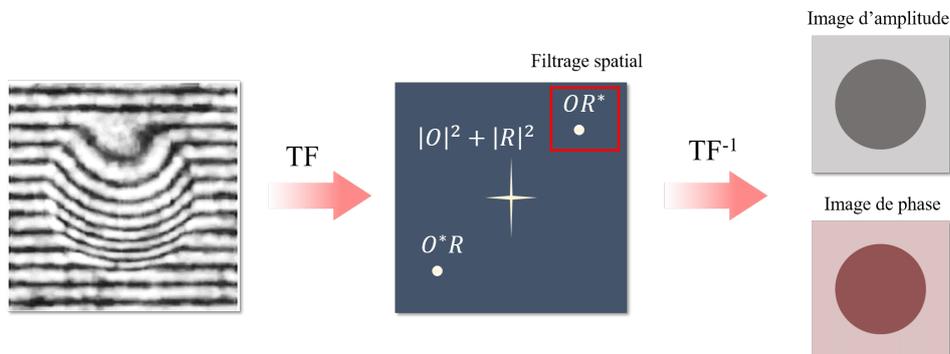
$$I_H(x, y, z_H) = O(x, y, z_H)O^*(x, y, z_H) + R(x, y, z_H)R^*(x, y, z_H) + O(x, y, z_H)R^*(x, y, z_H) + R(x, y, z_H)O^*(x, y, z_H) \quad (1.29)$$

où  $O(x, y, z_H)$  et  $R(x, y, z_H)$  sont respectivement les amplitudes complexes de l'onde objet et de l'onde de référence, telles que :

$$\begin{aligned} O &= |O| \times e^{j(\Phi_O)} \\ R &= |R| \times e^{j(k_x x + k_y y + \Phi_R)} \end{aligned} \quad (1.30)$$

où  $R$  est une onde plane inclinée avec  $k_x$  et  $k_y$  les composantes du vecteur d'onde dans le plan transverse. On retrouve bien dans l'Eq.1.29 d'un hologramme les termes d'une figure d'interférences entre deux ondes de l'Eq.1.27. On distingue trois termes principaux sur l'Eq.1.29 :

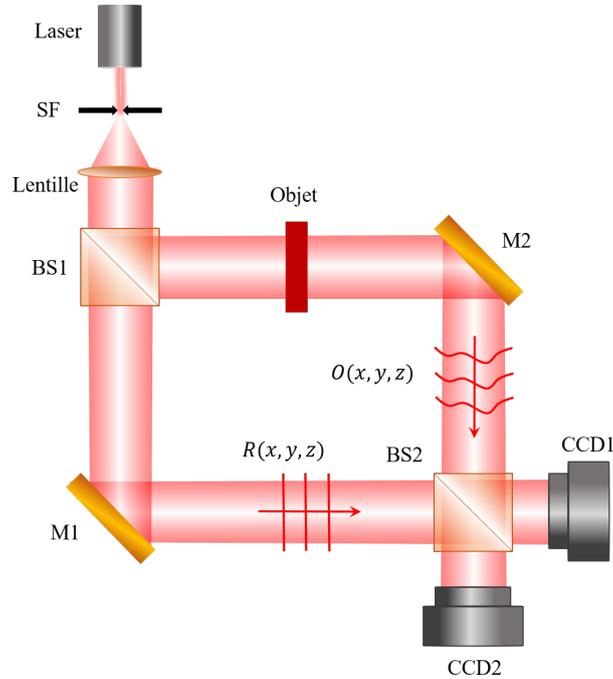
- $|O|^2 + |R|^2$  est l'ordre 0 de diffraction, exprimant la distribution d'intensité,
- $RO^*$  est l'ordre  $-1$  de diffraction, qui traduit l'image réelle (onde objet conjuguée modulée par l'onde de référence),
- $OR^*$  est l'ordre  $+1$  de diffraction, qui traduit l'image virtuelle (onde objet modulée par l'onde de référence conjuguée).



**FIGURE 1.21** – Principe de reconstruction d'image par TF et filtrage spatial.

Afin de récupérer l'image finale, une TF est appliquée sur l'interférogramme, ce qui a pour effet de séparer spatialement les trois termes de celui-ci (voir Fig.1.21).

Un filtrage spatial peut alors être appliqué sur l'image de la TF pour isoler le terme correspondant à l'objet (ordre +1), puis une TF inverse permet de reconstituer l'image de l'objet [80, 81]. Cependant, ce filtrage implique une perte des informations aux hautes fréquences. Seule une partie de l'information comprise dans l'image initiale est utilisée. Cependant, ce n'est pas nécessairement un problème si on choisit un angle suffisamment grand pour que la fréquence spatiale des franges soit bien supérieure à celles de l'image recherchée.



**FIGURE 1.22** – Principe de l'holographie dans l'axe, en configuration Mach Zehnder, repris et adapté de [82]

A l'inverse, dans le cas de l'holographie dans l'axe, les images de l'objet et de référence se chevauchent, sans angle (voir Fig. 1.22). Alors, l'interférogramme n'a pas une résolution spatiale supérieure à celle de l'image reconstruite. Une des méthodes pour reconstruire l'amplitude et la phase est de réaliser quatre mesures à quatre déphasages  $\Phi_R$  différents :

$$\begin{aligned}
 I_1 &= \left| |R|e^{j\Phi_R} + |O|e^{j\Phi_O} \right|^2 = |R|^2 + |O|^2 + R^*O + O^*R \\
 I_2 &= \left| |R|e^{j(\Phi_R+\pi/2)} + |O|e^{j\Phi_O} \right|^2 = |R|^2 + |O|^2 - jR^*O + jO^*R \\
 I_3 &= \left| |R|e^{j(\Phi_R+\pi)} + |O|e^{j\Phi_O} \right|^2 = |R|^2 + |O|^2 - R^*O - O^*R \\
 I_4 &= \left| |R|e^{j(\Phi_R+3\pi/2)} + |O|e^{j\Phi_O} \right|^2 = |R|^2 + |O|^2 + jR^*O - jO^*R
 \end{aligned} \tag{1.31}$$

Ainsi, aucun filtrage n'est nécessaire, la totalité de l'information est utilisée et l'image résultante est récupérée grâce à la formule suivante :

$$R^*O = \frac{I_1 - I_3 + j(I_2 - I_4)}{4} \tag{1.32}$$

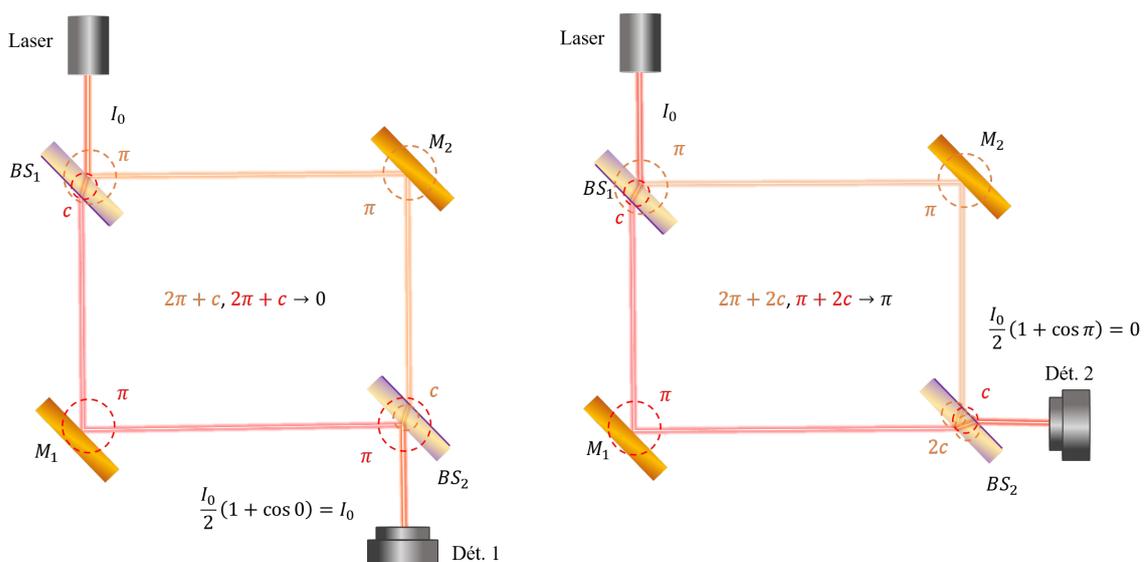
Cette méthode est appelée holographie numérique à décalage de phase (PSI pour phase shift interferometry en anglais) [83]. Elle est généralement utilisée pour réaliser de l'imagerie de phase, selon sa formule variante :

$$\Phi_O = \arctan\left(\frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}\right) \quad (1.33)$$

Tandis que l'holographie hors axe est souvent utilisée pour l'imagerie ou le tracking de cellules vivantes et autres micro-organismes (voir Sec.III.2.1), l'holographie dans l'axe est plutôt utilisée pour l'imagerie de phase sur des échantillons qui n'évoluent pas dans le temps. En effet, l'holographie hors-axe ne requiert qu'une seule image pour retrouver module et phase du champ mais cela nécessite un capteur de résolution plus fine que celle qu'on cherche. Quant à la méthode de décalage de phase, elle permet de mesurer l'amplitude et la phase en chaque pixel, mais nécessite plusieurs images successives. On a donc une meilleure résolution spatiale, mais au détriment de la résolution temporelle. Dans les deux cas de figure, une configuration d'interféromètre est communément utilisée : celle de l'interféromètre de Mach Zehnder. On se concentrera dans la suite sur la configuration dans l'axe, qui est celle que nous avons choisie d'utiliser pour explorer différentes méthodes de mesures, dont la méthode interférométrie à décalage de phase (Phase Shift Interferometry, PSI), sur des échantillons évoluant sur un temps caractéristique plus long que la durée de la mesure.

### III.1.2 L'interféromètre de Mach Zehnder

Inventé par Ludwig Zehnder et Ludwig Mach en 1891 et 1892 [84, 85], le MZI est un interféromètre constitué de deux bras, à la configuration symétrique. Le faisceau provenant de la source laser est séparé en deux sous-faisceaux (appelés bras de mesure et bras de référence) par une première lame séparatrice de faisceau (Beam Splitter, BS) ( $BS_1$ ), inclinée à  $45^\circ$ . Les sous-faisceaux sont redirigés vers un second BS ( $BS_2$ ) par les miroirs  $M_1$  et  $M_2$  placés à  $45^\circ$  également [86, 87].



**FIGURE 1.23** – Déphasages résultants sur les deux sorties d'un MZI.

La Fig.1.23 montre en effet les déphasages induits par  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $BS_1$  et  $BS_2$  sur les deux bras, et les déphasages correspondants dans le cas où aucun échantillon ou lame compensatrice n'est présent et que les deux voies ont exactement la même longueur. Une réflexion sur une face d'un miroir induit un déphasage de  $\pi$ , une transmission à travers un BS un déphasage  $c$  considéré comme constant, et une réflexion interne sur un BS un déphasage de  $2c$ . La somme de ces déphasages successifs est bien égale à 0 sur le détecteur 1 et  $\pi$  sur le détecteur 2. La présence d'un échantillon ou d'une lame sur l'une des voies (ou deux échantillons différents sur les deux voies), implique un déphasage supplémentaire  $\Delta\Phi$ . Quel que soit le déphasage introduit entre les deux bras, il y a conservation de l'énergie et les deux sorties sont toujours en opposition de phase. La présence d'un échantillon non transparent (ce qui est le cas notamment dans le MIR), implique donc une intensité différente sur les deux bras, et les interférences sur les détecteurs 1 et 2 deviennent :

$$\begin{aligned} I_{det1} &= I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\Phi) \\ I_{det2} &= I_1 + I_2 - 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\Phi) \end{aligned} \quad (1.34)$$

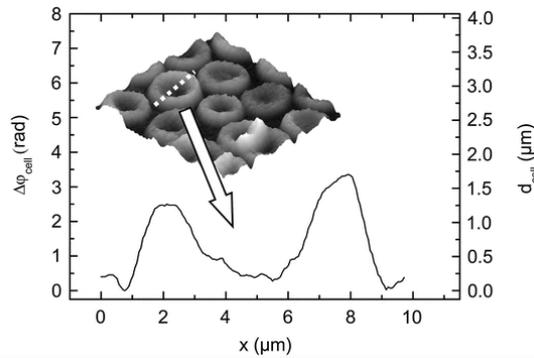
Les deux sorties du MZI sont donc en opposition de phase l'une par rapport à l'autre. En effet, les franges d'interférences en sortie du MZI respectent l'Eq.1.27 : un déphasage nul entre les deux bras sur le détecteur 1 (frange claire) correspondra à un déphasage de  $\pi$  sur le détecteur 2 (frange sombre). Ceci permet d'utiliser simultanément deux détecteurs, ce qui est un avantage pour certaines méthodes de mesure, comme la méthode PSI, puisqu'elle permet d'acquérir les quatre déphasages différents deux fois plus rapidement.

Le MZI comporte plusieurs avantages. Nous avons vu précédemment que deux systèmes de franges en opposition de phase sont observables simultanément. Le MZI permet aussi de ne traverser l'échantillon qu'une seule fois. Grâce à sa symétrie, le signal n'est pas renvoyé vers la source, ce qui évite le risque d'endommagement des QCLs. Une lame compensatrice ou des échantillons peuvent être facilement introduits sur les bras, et le déphasage peut être modifié en changeant l'angle d'incidence sans dérégler l'interféromètre. Ces différents avantages et le fait que cet interféromètre soit communément utilisé en holographie ont contribué au choix de la configuration MZI pour la réalisation du banc.

## III.2 Applications de l'interférométrie à l'imagerie biomédicale et à la spectroscopie infrarouge

### III.2.1 L'interférométrie dans le visible

L'holographie numérique s'est largement développée dans le visible pour l'imagerie quantitative de phase notamment pour l'analyse d'échantillons biologiques transparents. Combinée à un objectif de microscope, la configuration MZI est très souvent utilisée pour la microscopie par holographie numérique (Digital Holographic Microscopy, DHM) [88]. L'imagerie quantitative de phase (QPI, quantitative phase imaging en anglais) est une méthode de mesure *sans marquage* utilisée dans de nombreux papiers ayant été publiés sur l'analyse de cellules vivantes dans le visible [89], comme par exemple des cellules sanguines [90], ou encore pour l'étude de la structure et la dynamique de micro-organismes [91]. La QPI dans le visible a été très peu utilisée sur les MP, sauf dans quelques rares cas où elle permet leur reconnaissance et leur classification dans des échantillons environnementaux [92].



**FIGURE 1.24** – Phase de cellules sanguines humaines [80] obtenues par DHM.

### III.2.2 L'interférométrie dans l'infrarouge

Bien qu'elle soit très développée dans le visible pour l'holographie dans le biomédical (voir Sec. III.2.1), ce n'est pas le cas dans l'IR. Le pionnier dans le domaine est Bernhard Lendl, spécialiste de la spectroscopie sur échantillons biologiques. C'est en 2018 qu'il combine pour la première fois un MZI avec une source QCL pour mesurer la concentration d'acétone dans du cyclohexane [93]. Dans cette expérience, une lame de fluorure de baryum est placée sur l'un des bras, et son angle par rapport au faisceau est modifié à chaque longueur d'onde de façon à garder l'instrument au point de quadrature ( $\Phi_1 = \Phi_2 = \pi/2$ ,  $I_{det1} = I_{det2}$ ). Ce changement d'angle est mesuré par la réflexion d'un laser visible sur la lame, ce qui permet de remonter à l'indice de réfraction de l'échantillon. L'expérience est plus tard réalisée sur des solutions de protéines dans de l'eau lourde [70]. La méthode de mesure est légèrement différente. C'est cette fois le déplacement d'un des miroirs en diagonale qui maintient l'égalité des intensités entre les deux détecteurs et permet de remonter à l'indice réel de l'échantillon. Ce sont ensuite des échantillons d'éthanol et de glucose dans l'eau qui sont testés sur un MZI, une première fois en 2020 [94], puis une seconde fois en 2022 sur un dispositif amélioré [95].

Dans ces différents papiers, plusieurs avantages de l'interférométrie en comparaison de l'absorption sont mis en évidence. L'utilisation simultanée de deux détecteurs en opposition de phase lui permet d'une part de compenser les fluctuations de puissance, et d'autre part de maintenir le déphasage à  $\pi/2$  qui est le point de quadrature où la sensibilité du système est maximale. Aussi, l'utilisation de deux détecteurs simultanément permet en interférométrie de s'affranchir des fluctuations de puissance du laser. Enfin, en principe, l'interférométrie a l'avantage de ne pas nécessiter de mesure de référence. En interférométrie, l'indice de réfraction réel mesuré est linéaire avec la concentration, même aux concentrations élevée et dans le cas d'espèces à forte résonance, ce qui n'est pas le cas pour l'absorbance, pour laquelle la loi de Beer Lambert admet un seuil à partir duquel elle n'est plus linéaire avec la concentration ( $< 2 \text{ mol L}^{-1}$ ) [96]. Ainsi, les mesures de phase permettent de remonter à la concentration quelle qu'en soit la valeur. Les différentes expériences de Lendl et al. sont cependant des mesures sur des molécules en solution homogène, il n'acquiert donc pas d'images. Aussi, il réalise des mesures sur un spectre continu, donc en hyperspectral.

Les travaux de Lendl et al. laissent à penser que l'interférométrie dans le MIR a un réel potentiel pour les mesures sur des échantillons très absorbants, ce qui est le cas sur des échantillons

hydratés. Notamment, l'utilisation de l'interférométrie à base de QCLs sur des échantillons d'éthanol dans l'eau, d'une épaisseur traversée de 150  $\mu\text{m}$ , lui a permis d'obtenir une limite de détection (Limit Of Detection, LOD) de 0.005 % [1]. Cette expérience constitue alors l'état de l'art le plus proche de cette thèse. A notre connaissance, aucune mesure interférométrique dans l'IR n'a été pour l'instant réalisée sur des échantillons autres que des espèces biochimiques en solution. Ce sujet de thèse consiste alors à expérimenter la combinaison de l'holographie numérique et de la spectroscopie de dispersion, afin de réaliser de l'imagerie de phase grand champ à des longueurs d'onde spécifiques d'espèces d'intérêt dans l'eau.

## IV Conclusion du chapitre et motivations des travaux de thèse

La réponse vibrationnelle des molécules biologiques et polymères dans la gamme spectrale du MIR est un phénomène d'interaction lumière-matière ne nécessitant aucun marquage par un colorant ou fluorophore, ce qui en fait une caractéristique avantageuse à mesurer. Différentes techniques de spectroscopie vibrationnelle utilisent l'absorption ou la diffusion des ondes EM incidentes par les molécules contenues dans l'échantillon. La spectroscopie IR reposant sur l'absorption de la lumière est une technique analytique, bien connue dans les laboratoires de recherche, pour identifier la structure des molécules ou pour comprendre la composition d'échantillons complexes. Cependant l'acquisition des images en FTIR demande souvent une préparation d'échantillon, qui peut être complexe, et prend jusqu'à plusieurs heures, empêchant son déploiement dans l'industrie ou les laboratoires d'analyses par exemple. De plus l'inconvénient majeur des mesures IR est la forte absorption de l'eau, empêchant toutes mesures sur échantillons hydratés. En effet, les sources polychromatiques composant les instruments FTIR sont très peu puissantes et permettent de traverser des échantillons en solution de quelques microns seulement.

Contrairement à la spectroscopie IR, la spectroscopie Raman n'est pas impactée par l'absorption de l'eau et peut être utilisée pour mesurer la signature spectrale d'échantillons biologiques. C'est pourquoi cette technologie s'est énormément développée pour les applications en biologie. Néanmoins, cette technique est limitée par le faible rendement d'excitation. En effet les photons collectés sont  $10^8$  fois plus faibles que les photons incidents, ce qui nécessite des sources très puissantes et souvent incompatibles avec la viabilité des cellules ou micro-organismes. Pour cette raison, d'autres approches IR permettent d'accéder au spectre IR et contournent l'obstacle que représente l'eau. Les principales méthodes mises en oeuvre sont :

- La spectroscopie ATR : la mesure par l'onde évanescente permet l'analyse surfacique d'échantillons plus absorbants ou plus épais, puisqu'elle sonde une faible profondeur, de l'ordre de quelques microns. Cette méthode est utilisée notamment pour des mesures *in vivo*. La faible profondeur de pénétration ne permet de sonder que la surface de l'échantillon et empêche son utilisation, par exemple, pour la détection et l'identification de MP en suspension dans l'eau. De plus, cette technique demande un contact de la sonde de mesure avec l'échantillon pouvant occasionner des risques d'altérations ou de contaminations.
- Les QCLs en microscopie : ce sont des sources laser monochromatiques cohérentes à haute brillance, qui fonctionnent à température ambiante, et émettent sur une plage IR parfaitement adaptée aux échantillons biologiques et polymères. Leur accordabilité, per-

mettant de choisir la longueur d'émission avec une précision de  $0.01 \text{ cm}^{-1}$ , facilite et accélère les mesures, ce qui les rend notamment utiles pour l'imagerie multispectrale. Les QCLs ont prouvé leur efficacité sur échantillons hydratés en absorption, et sur des MP préalablement séchés.

- La photothermie : l'expansion thermique ou l'onde acoustique créées dans l'échantillon suite à son interaction avec une longueur d'onde IR spécifique de la résonance est mesurée par imagerie de phase ou par un détecteur à ultrasons. Cette technique a été utilisée sur des polymères déshydratés, mais également sur des échantillons biologiques hydratés pour la détection de virus. Les inconvénients de cette technique sont la complexité du montage, la rendant difficile à mettre en place en dehors des laboratoires.
- L'eau lourde pour les mesures FTIR ou avec source QCL : son absorption décalée dans l'IR par rapport à l'eau pure en fait un solvant idéal pour les échantillons nécessitant une conservation en milieu aqueux. Elle permet d'augmenter le chemin optique. Cependant, une dénaturation et une altération de la structure des protéines est possible en présence d'eau lourde. Aussi, son utilisation est impossible *in vivo*.

Ces techniques IR présentées dans l'état de l'art se basent sur le phénomène de l'absorption de la lumière, lié à la partie imaginaire de l'indice de réfraction complexe  $k$ . Comme vu au travers des relations de Kramer Kronig, il est aussi possible de remonter à un déphasage autour de la longueur d'onde de résonance. En effet, la partie réelle  $n$  est mesurable, grâce à l'interférométrie. L'holographie numérique, développée dans le visible, se base sur le phénomène d'interférences à deux ondes et permet de quantifier des variations d'indice inférieures au millième de RIU (Refractive Index Unit). De premières expériences en interférométrie dans l'IR, aussi appelées spectroscopie de *dispersion*, ont été menées sur échantillons en solutions par l'équipe de B.Lendl en 2018. Cette technique présenterait une meilleure sensibilité, et ne nécessiterait pas de mesures de référence.

Dans cette thèse, nous proposons une méthode d'imagerie holographique dans l'IR pour exploiter la différence de phase produite par un échantillon en milieu aqueux. Cette différence de phase permettrait d'identifier et quantifier l'analyte d'intérêt présent dans l'eau. En effet, en utilisant les longueurs d'onde proches de la résonance, nous pourrions mesurer un saut d'indice spécifique à une espèce d'intérêt. Ceci est d'autant plus intéressant à étudier au niveau du pic d'absorption principal de l'eau à  $1650 \text{ cm}^{-1}$ . Nous souhaitons travailler sur des échantillons spatialement hétérogènes, c'est pourquoi nous mettrons en place un système d'imagerie à base de matrices de micro-bolomètres non refroidis. Pour ce faire, nous construirons un banc d'holographie en configuration MZI qui permettra de vérifier plusieurs hypothèses. Premièrement, nous souhaitons valider la faisabilité de l'imagerie holographique dans l'IR en exploitant les images de phase acquises sur le banc pour remonter à un déphasage spécifique d'une espèce.

Ensuite les hypothèses de la littérature récente sur une éventuelle meilleure sensibilité de l'interférométrie par rapport à l'absorption dans des échantillons à haute absorbance [93] devront être évaluées dans notre cas d'usage. Afin de se référer à la méthode de référence qu'est la spectroscopie d'absorption, nous avons choisi la configuration MZI. En effet ce dispositif permet de passer aisément d'une méthode à l'autre sur un même banc, en stoppant la lumière d'un bras. De plus le déphasage d'un bras par rapport à l'autre constitue un degré de liberté supplémentaire, et sera introduit sur le banc interférométrique afin d'observer son effet sur la sensibilité de la méthode. Nous pressentons effectivement que ce paramètre aura une influence sur la LOD.

Enfin, nous souhaitons vérifier la possibilité d'identifier des résonances spécifiques d'espèces d'intérêt dans l'eau, à de faibles concentrations, grâce à l'étude théorique et aux mesures en spectroscopie de *dispersion*.

Cette thèse s'inscrit dans un environnement propice à l'utilisation de composants optiques dans l'IR telles que les sources ou les imageurs. Le Laboratoire des Capteurs Optiques du CEA Leti conçoit et développe des sources IR, dont des QCLs sur silicium. Un second laboratoire du Département d'Optique conçoit et développe des matrices de micro-bolomètres non refroidies et industrialisées par la société Lynred. Nous pouvons imaginer des méthodes d'imagerie multispectrale avec plusieurs sources QCLs discrètes pour identifier des espèces chimiques ou biologiques. C'est notamment ce qui a été valorisé dans la startup ADMIR issue du Département d'Optique. A terme, nous visons à mettre en oeuvre ces différents composants sur notre méthode d'imagerie IR holographique.

Ainsi, la technique développée pour ce projet de thèse réunit pour la première fois, à notre connaissance, la spectroscopie et l'imagerie holographique, dans l'objectif d'analyser des échantillons hydratés, donc très absorbants. L'une des spécificités de cette thèse par rapport à l'état de l'art le plus proche est le fait d'acquérir des images interférométriques sur une matrice de micro-bolomètres, permettant la reconstruction d'une image de phase, et ainsi de récupérer une information permettant l'identification des composés chimiques de l'échantillon. L'objectif de cette thèse est alors de réaliser des mesures qualitatives et quantitatives de phase sur échantillons hydratés par imagerie multispectrale, grâce à une configuration MZI dans le MIR. L'étude se portera préférentiellement sur des échantillons modèles de motifs en résine photosensible, comparables au cas des MP dans l'eau.

Dans un second temps, pour tenter de comprendre dans quelles conditions une méthode interférométrique pourrait être intéressante en terme de détectivité, nous entreprendrons l'étude du bruit et de la LOD théorique dans le cas de différents matériaux et espèces en milieu aqueux. La sensibilité et la LOD théorique du système seront comparées à celles de la spectroscopie d'absorption, afin d'appréhender les paramètres optimaux d'un tel dispositif.

# Montage expérimental et objets analysés

## Contenu du chapitre

<b>I</b>	<b>Introduction</b>	<b>52</b>
<b>II</b>	<b>Mise en oeuvre du montage expérimental</b>	<b>52</b>
II.1	Présentation générale	52
II.2	La source laser MIRcat	54
II.2.1	Présentation du laser	54
II.2.2	Expansion du faisceau laser	59
II.3	L'imageur infrarouge	63
II.3.1	La technologie des micro-bolomètres	63
II.3.2	Choix du détecteur ATTO320	65
II.4	L'alignement de l'interféromètre	70
<b>III</b>	<b>Modèles analytiques et objets analysés</b>	<b>72</b>
III.1	Modèles analytiques	72
III.1.1	Microplastiques dans l'eau : modèle couches	73
III.1.2	Echantillons biologiques hydratés : modèle classique	75
III.2	Les cuves microfluidiques	76
III.3	La photorésine SU8 dans l'eau	77
III.3.1	Choix de la résine	77
III.3.2	Fabrication des échantillons	79
III.3.3	Caractérisation des échantillons obtenus	80
<b>IV</b>	<b>Conclusion du chapitre</b>	<b>83</b>

## I Introduction

Ce chapitre présente les différentes étapes de réflexion ayant mené au banc interférométrique de Mach Zehnder finalement construit. Le fonctionnement de la source QCL MIRcat et de l'imageur IR à base de micro-bolomètres seront détaillés, avant de s'intéresser à la fabrication des échantillons et au modèle analytique permettant de les décrire.

## II Mise en oeuvre du montage expérimental

### II.1 Présentation générale

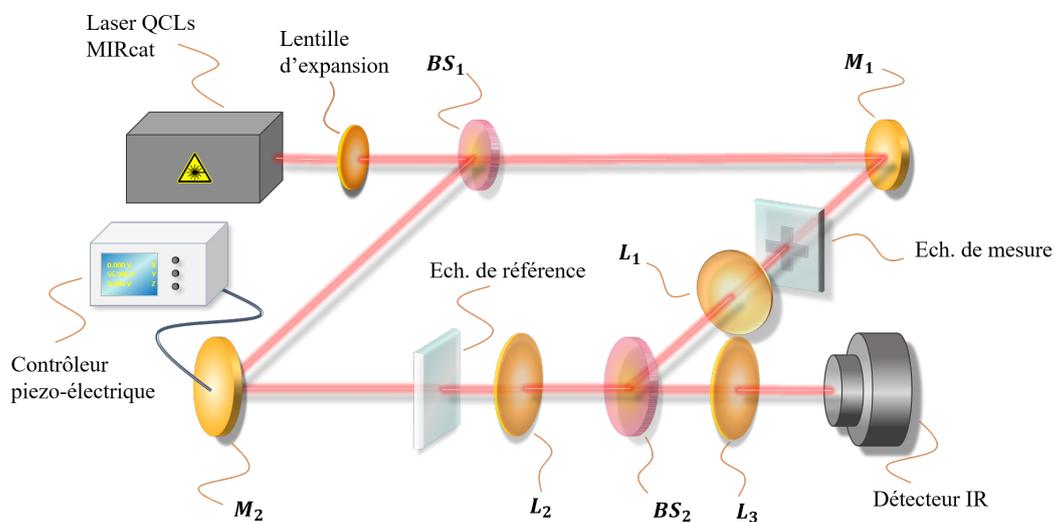
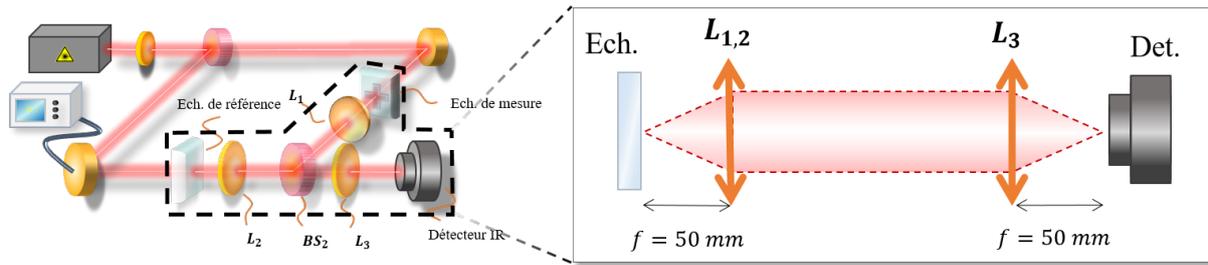


FIGURE 2.1 – Schématisation du banc interférométrique.

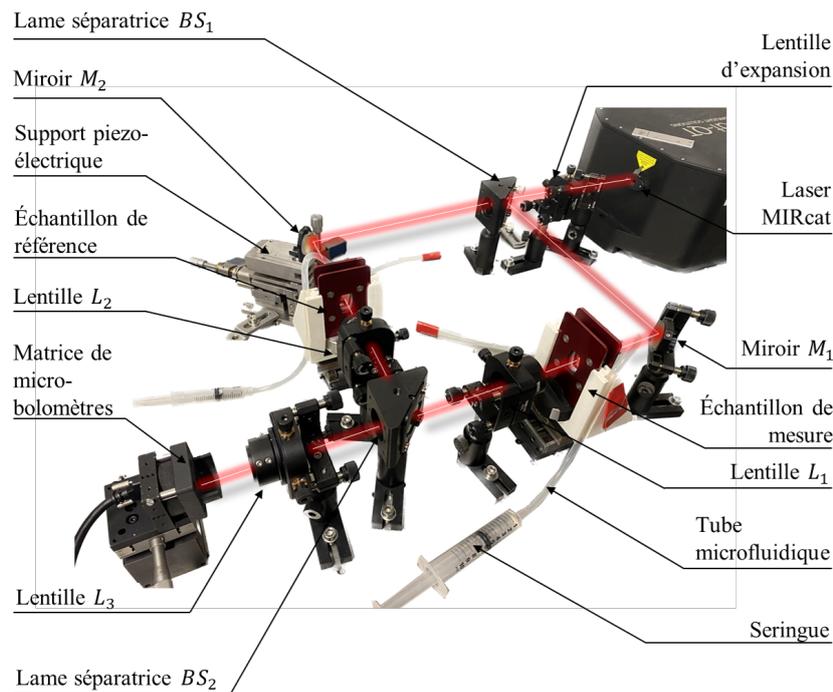
Dans la Sec.III.1.2 du Chap.1, nous avons vu que le choix du système interférométrique s'est porté sur un MZI. En effet, plusieurs avantages sont à relever, notamment celui de ne traverser l'échantillon qu'une seule fois, contrairement à une configuration Michelson par exemple. Ce critère est d'autant plus important que l'échantillon traversé est absorbant, ce qui sera le cas pour l'eau constituant le milieu principal de nos échantillons. De plus, en configuration MZI, le signal n'est pas renvoyé vers la source, ce qui permet d'éviter un endommagement de celle-ci. Le banc interférométrique construit est schématisé sur la Fig.2.1. On y distingue les deux bras de mesure et de référence, sur lesquels seront placés les échantillons. Ceux-ci proviennent de la séparation du faisceau laser par la première BS. Ils sont ensuite redirigés vers le second BS par les miroirs en or  $M_1$  et  $M_2$ . En sortie de  $BS_2$ , les deux bras sont recombinaisonnés en un seul faisceau, et les franges résultantes détectées par la matrice de micro-bolomètres.

L'objectif est ici de réaliser de l'imagerie grand champ, permettant d'imager des zones de quelques millimètres carré d'un échantillon. Pour cela, un système d'imagerie à deux doublets achromatiques identiques permet d'imager les échantillons avec un grandissement de 1 sur le détecteur IR en sortie du MZI, tout en évitant les aberrations chromatiques et sphériques.



**FIGURE 2.2** – Schématisation du système d'imagerie des échantillons.

La résolution spatiale des images sera donc égale à la résolution de l'imageur (dont la taille de pixels est de  $12\mu\text{m} \times 12\mu\text{m}$ ), dans l'hypothèse où la fonction d'étalement du point (FEP) est plus petite que la taille d'un pixel. Ce système, dit  $4f$  est constitué de deux doublets achromatiques en zinc selenium (ZnSe) de focale 50 mm. Le choix de la focale a été fait de façon à minimiser le chemin optique du faisceau laser (voir Fig.2.3), tout en veillant à garder la place nécessaire à l'ajustement des différents éléments du banc dans leur monture et à placer les deux lentilles à une distance de  $2f$  l'une de l'autre.



**FIGURE 2.3** – Photographie du banc expérimental réalisé.

La Fig.2.2 montre que les doublets achromatiques  $L_1$  et  $L_2$  sont respectivement placés devant l'échantillon mesuré et l'échantillon de référence, à la distance focale. Les images sont donc à l'infini avant d'être focalisées par le doublet  $L_3$  commun aux deux bras sur la matrice de micro-bolomètres placée également à la focale.

Les matériaux et les références des différents optiques du banc sont donnés dans le Tab.2.1. La très bonne transmission du ZnSe dans le MIR ( $>90\%$  pour une épaisseur de 5 mm) en fait

un matériau idéal pour des lentilles dans cette gamme spectrale. La couche d'or des miroirs quant à elle permet une réflexion moyenne de 96 % sur une large gamme spectrale dans l'IR.

Elément	Matériau	Référence	Plage spectrale
$L_{exp}$	ZnSe	LA7261-E3, Thorlabs	7 $\mu\text{m}$ -12 $\mu\text{m}$
$BS_{1,2}$	ZnSe	BSW711, Thorlabs	1 $\mu\text{m}$ -12 $\mu\text{m}$
$L_{1,2,3}$	ZnSe	AC254-050-E3, Thorlabs	7 $\mu\text{m}$ -12 $\mu\text{m}$
$M_{1,2}$	Au	PF10-03-M01, Thorlabs	800 nm-20 $\mu\text{m}$

**TABLE 2.1** – Différents éléments optiques du banc interférométrique construit.

Les BS utilisées dans les MZI ont généralement des coefficients de réflexion et de transmission  $R$  et  $T$  d'une valeur de 0.5. Dans l'IR cependant, il est difficile d'obtenir ce ratio, du fait des matériaux utilisés pour les optiques, qui impliquent une variation de  $R$  et  $T$  en fonction de la longueur d'onde et de la polarisation du faisceau par rapport au plan d'incidence. Les valeurs mesurées expérimentalement sont en moyenne  $R_1 = 0,45$ ,  $T_1 = 0,24$  pour  $BS_1$  et  $R_2 = 0,31$ ,  $T_2 = 0,46$  pour  $BS_2$  (moyenne effectuée sur le spectre du MIRcat, entre 900  $\text{cm}^{-1}$  et 1660  $\text{cm}^{-1}$ , polarisation S). Le détail des mesures est donné en annexe C. Un dernier élément essentiel du banc interférométrique construit est l'introduction d'une différence de marche entre les deux bras, ce qui permettra de réaliser des images à différents déphasages. Pour cela, le miroir  $M_2$  du bras de référence est placé sur un support dont la translation dans les trois directions de l'espace est contrôlée par un système piezo-électrique. Celui-ci permet de déplacer le miroir  $M_2$  dans la diagonale du MZI, en direction de  $M_1$ , avec une précision de l'ordre du nanomètre, afin d'introduire une différence de marche  $\Delta l$  entre les deux bras. Le contrôleur piezo-électrique utilisé (NPC3, Newport) fonctionne uniquement en boucle ouverte, c'est à dire qu'il n'a pas de capteur de position lui fournissant un retour sur sa position réelle, comme cela serait le cas avec un contrôleur piezo-électrique en boucle fermée. Cependant, la tension appliquée peut varier de  $-20\text{ V}$  à  $130\text{ V}$  et permet une translation de  $0\text{ }\mu\text{m}$  à  $140\text{ }\mu\text{m}$ .

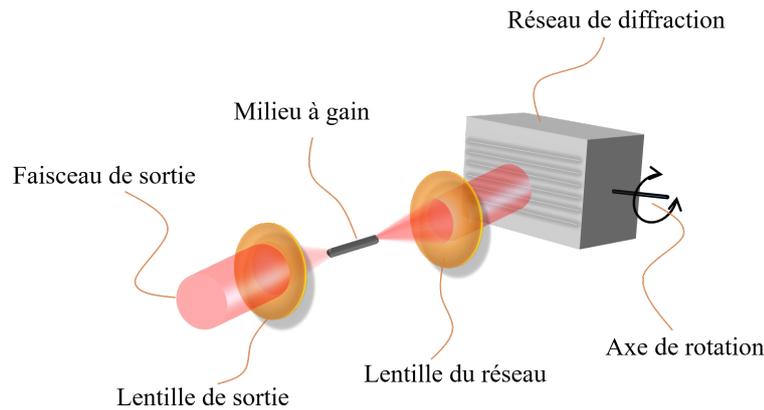
Le laser, le contrôleur piezo-électrique ainsi que le détecteur IR sont contrôlés automatiquement par des programmes Python. Les différents programmes d'instrumentation sont ensuite regroupés en un seul afin d'effectuer les différentes mesures.

## II.2 La source laser MIRcat

### II.2.1 Présentation du laser

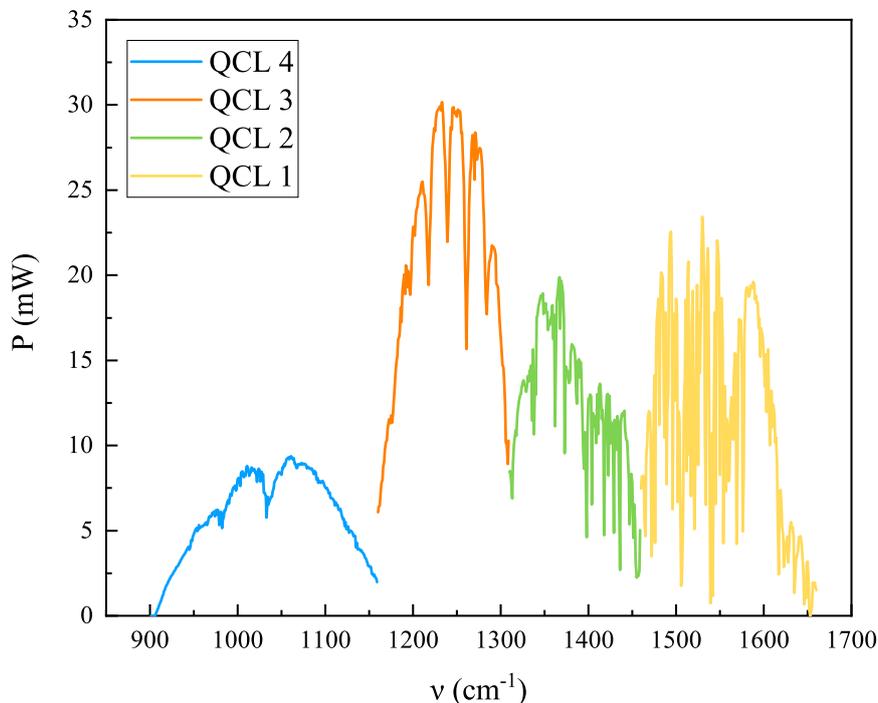
La source utilisée est un laser MIRcat de la société Daylight Solutions constitué de quatre QCLs, chacun ayant une bande spectrale d'émission spécifique, et permettant un scan spectral de 901  $\text{cm}^{-1}$  à 1661  $\text{cm}^{-1}$  (5  $\mu\text{m}$  à 11  $\mu\text{m}$ ) avec un pas de 0.5  $\text{cm}^{-1}$ . L'association de ces quatre QCLs accordables à large bande, d'un réseau de diffraction et d'une cavité externe, fait du MIRcat une source unique, appelée laser à cascade quantique à cavité externe (External Cavity Quantum Cascade Laser, EC-QCL) [97].

Le principe de l'EC-QCL est que la sélection de la longueur d'onde se fait à l'extérieur de la puce par un réseau de diffraction, ce qui permet de couvrir une gamme spectrale de plusieurs centaines de nombres d'ondes [99]. La Fig.2.4 montre la configuration EC-QCL développée



**FIGURE 2.4** – Design d'un EC-QCL en configuration Littrow [98]. Repris et adapté de Daylight Solutions.

par Daylight Solutions. [100]. En sortie de la puce QCL servant de milieu à gain, la lumière est très divergente. Une première lentille permet de la collimater sur le réseau de diffraction sur lequel elle est réfléchie. Un moteur permet de faire tourner le réseau autour de son axe de rotation, et ainsi de sélectionner une longueur d'onde précise avec une largeur de raie inférieure au  $\text{cm}^{-1}$ . La lumière est ensuite réinjectée dans le milieu à gain. Finalement, un faisceau monochromatique collimaté est obtenu en sortie de la seconde lentille.

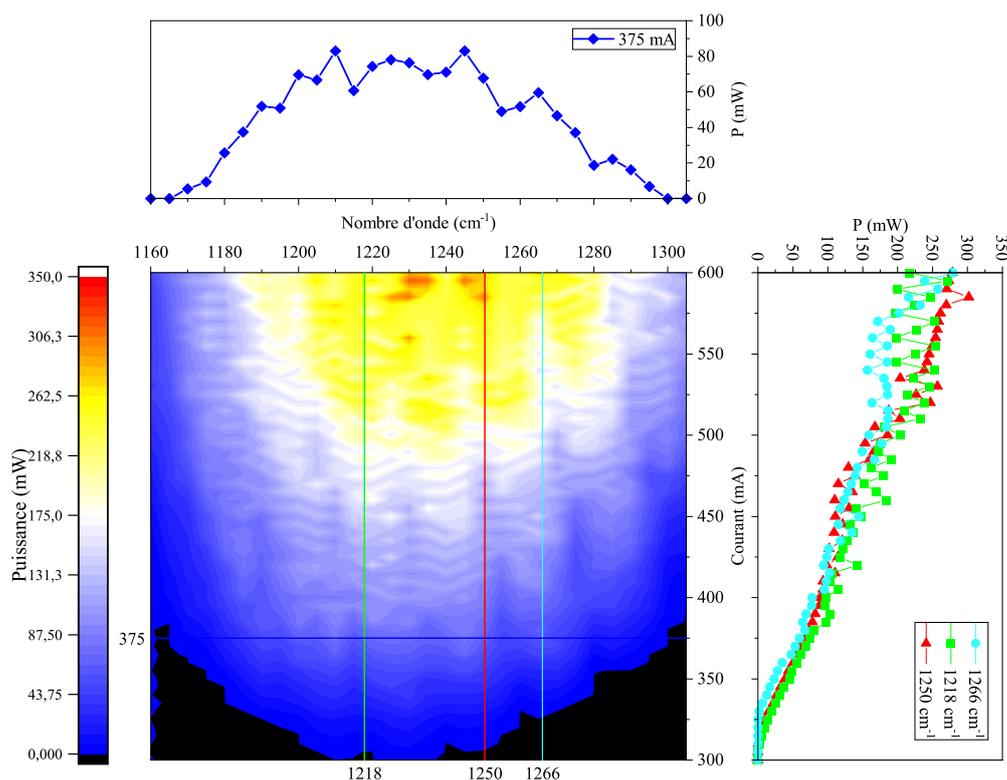


**FIGURE 2.5** – Spectre de puissance du laser MIRcat en continu, mesurée en sortie du MZI pour le bras de mesure, au courant maximal autorisé pour chaque QCL.

Il est possible d'utiliser le laser soit en mode continu, soit en mode pulsé. Le mode continu a été privilégié durant cette thèse car il offre une puissance optique plus importante (jusqu'à

362.5 mW en continu en sortie de laser contre 38.4 mW en pulsé). La Fig.2.5 représente les courbes de puissances de chaque QCL utilisé à sa puissance maximale. Les mesures ont été effectuées en sortie du MZI, pour l'un des bras (le bras de mesure sur lequel sera placé l'échantillon avec l'espèce d'intérêt) avec un puissance-mètre (PM) Thorlabs PM400 à l'emplacement du détecteur IR. Cette mesure permet de connaître la puissance maximale pouvant être récupérée en sortie du MZI en l'absence d'eau. En effet, la traversée des différents optiques par le faisceau ainsi que son absorption par la vapeur d'eau ambiante implique une diminution de puissance de 24 dB sur un seul bras (17 dB si on considère les deux bras en configuration interférométrique).

Les longueurs d'onde correspondantes à la transition entre deux QCLs sont celles avec les plus faibles puissances, tandis que les puissances maximales se situent au centre des plages spectrales de chaque QCL. Des raies d'absorption sont également présentes tout le long du spectre couvert. Il s'agit des raies d'absorption de la vapeur d'eau présente dans l'air ambiant présent tout le long du trajet optique. Le QCL 1 est le plus impacté. Une solution pour les éliminer serait d'isoler le banc optique et de le purger avec de l'air sec afin de maximiser la puissance optique à toutes les longueurs d'onde. Cela fait partie des pistes d'amélioration envisagées.



**FIGURE 2.6** – Puissance en fonction du courant et du nombre d'onde dans le cas du QCL 3.

L'un des avantages du laser MIRcat est cependant la possibilité de régler, pour chaque longueur d'onde d'émission, la puissance du faisceau en sortie de laser en fonction du courant injecté aux bornes des QCLs. La Fig.2.6 est le graphique représentant la puissance en fonction du nombre d'onde et du courant dans le cas du QCL 3, utilisé en majorité dans cette thèse (voir Chap.3). Les mesures ont été effectuées par le PM PM400 directement en sortie du laser. Les graphes

des autres QCLs sont donnés en annexe D. Nombre d'onde et courant sont deux paramètres indépendants l'un de l'autre et ajustables au bon vouloir de l'utilisateur. A un courant fixe, chaque longueur d'onde aura une puissance différente, diminuant progressivement aux extrémités de la bande spectrale d'émission du QCL. A l'inverse, à longueur d'onde fixe et courant variable, on remarque que chaque longueur d'onde possède un courant seuil à partir duquel le laser commence à émettre.

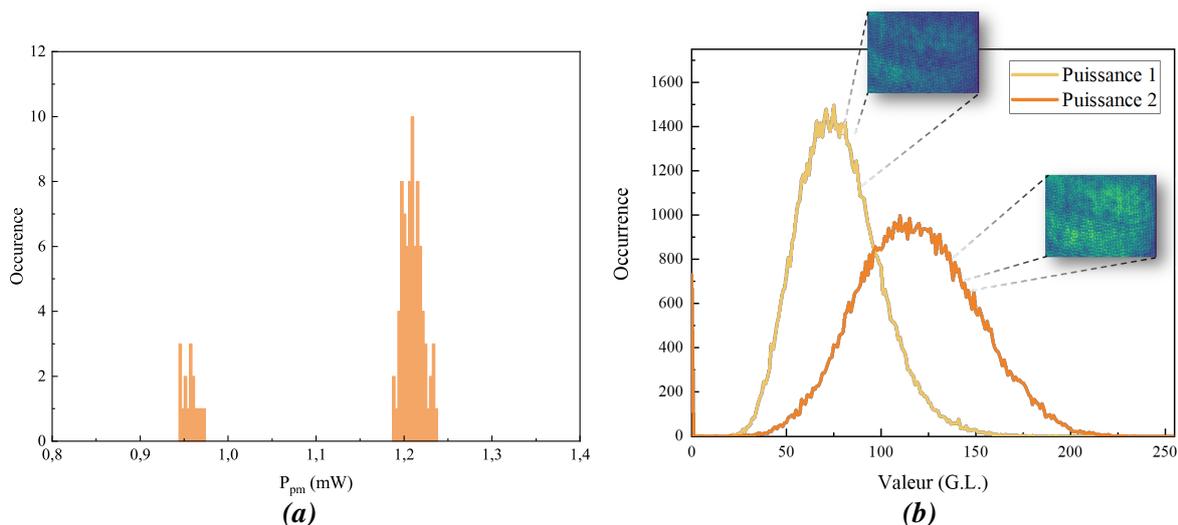
Le Tab.2.2 résume pour chaque QCL les courants et puissances maximale  $I_{max}$  et  $P_{max}$  atteignables ainsi que le nombre d'onde  $\nu_{max}$  correspondant, situé au centre de la large bande spectrale couverte (de  $\nu_i$  à  $\nu_f$ ).

	QCL 1	QCL 2	QCL 3	QCL 4
$I_{max}$ (mA)	600	450	600	1650
$P_{max}$ (mW)	24	20	30	9
$\nu_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	1530	1370	1230	1060
$\nu_i$ (cm <sup>-1</sup> )	1460	1310	1160	901
$\nu_f$ (cm <sup>-1</sup> )	1661	1460	1310	1160

**TABLE 2.2** – Intensité de fonctionnement et puissance maximales des QCLs mesurées en sortie du montage MZI en mode continu.

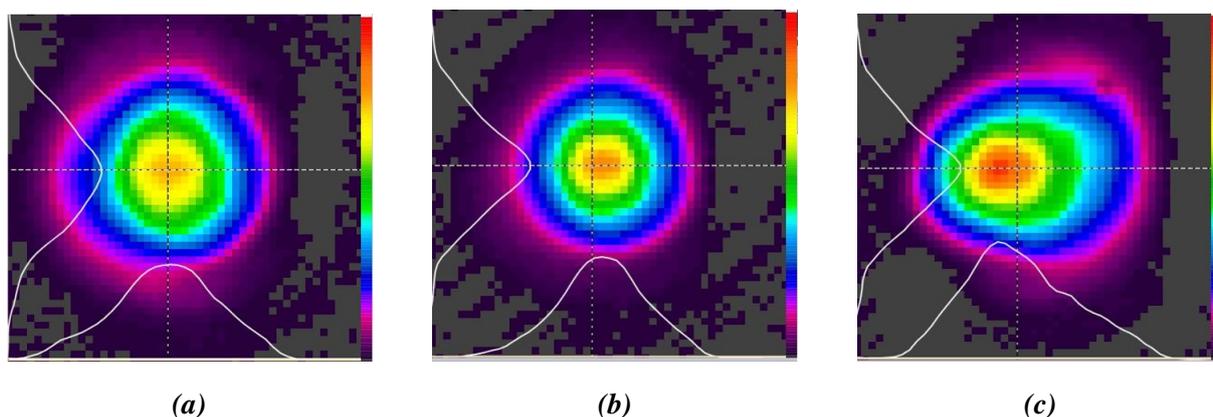
Pour fonctionner, le laser est refroidi par un circuit fermé d'eau et est contrôlé par ordinateur avec le logiciel MIRcat Control Panel. Avant chaque mesure, le circuit est mis en marche, le laser est allumé, armé, et les QCLs sont stabilisés à une température de 17°C. Ces étapes ne sont faites qu'une seule fois, puis les réglages aux différentes longueurs d'onde et courants peuvent ensuite être réalisés. Bien que les QCLs soient sélectionnés automatiquement par le logiciel aux changements de nombres d'onde spécifiques, il est possible de faire varier le courant de fonctionnement de chacun, qu'il faut veiller à modifier manuellement afin de ne pas saturer ou dégrader la matrice de micro-bolomètres. Durant cette thèse, le MIRcat a permis d'expérimenter les premières mesures afin d'orienter la conception d'un éventuel système multispectral futur. En effet, à terme, il y a notamment vocation à remplacer le MIRcat par différents QCLs monochromatiques correspondants aux longueurs d'onde d'intérêt.

Durant les mesures, le laser MIRcat utilisé sur le banc a cependant présenté des comportements conduisant à des difficultés expérimentales. Ceux-ci sont développés en annexe D. L'un des phénomènes observés est le changement de puissance à plusieurs réglages identiques (longueur d'onde et courant) successifs. Autrement dit, si le laser est réglé plusieurs fois à un même courant et une même longueur d'onde, c'est à dire que ces paramètres sont envoyés en commande du laser deux fois de suite, il se peut que la réponse en puissance diffère d'une mesure à l'autre. Si la mesure est répétée un nombre suffisant de fois, les histogrammes révèlent que plusieurs puissance sont privilégiées. La Fig.2.7 en est un exemple. Sur 100 réglages successifs aux mêmes paramètres 1260 cm<sup>-1</sup> et 350 mA, on distingue deux puissances privilégiées. La Fig.2.7.a représente l'histogramme des 100 valeurs obtenues par le PM PM400 en sortie du MZI. Elles se situent autour de 0.95 mW et 1.21 mW. La Fig.2.7.b montre les histogrammes des valeurs de pixels (en niveau de gris) correspondants aux images acquises à chacune de ces puissances. Ces variations de puissance sont également présentes directement en sortie de laser, ce qui signifie qu'il s'agit bien d'un problème du MIRcat lui-même et non d'une quel-



**FIGURE 2.7** – (a) Histogramme de 100 valeurs de puissance mesurées au PM400 en sortie du MZI (sur les deux bras) et (b) images acquises en sortie du MZI par le détecteur ATTO320 et histogrammes des niveaux de gris correspondants. Mesures effectuées à  $1260\text{ cm}^{-1}$  et 350 mA.

conque anomalie du banc. L'annexe D montre ces histogrammes pour chacun des QCLs. Ce changement brusque de puissance entre deux réglages identiques pourrait provenir d'un défaut dans l'asservissement du moteur servant à faire tourner le réseau de diffraction. Ainsi, la longueur d'onde pourrait être différente de celle sélectionnée et induire, pour un même courant, un changement de puissance. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait en toute rigueur utiliser le spectromètre FTIR pour vérifier la longueur d'onde du faisceau en sortie de laser. Cette différence de puissance entre deux mesures peut poser un véritable problème en terme de répétabilité. Nous verrons au Chap.3 quelle solution a été trouvée pour contourner cette difficulté.



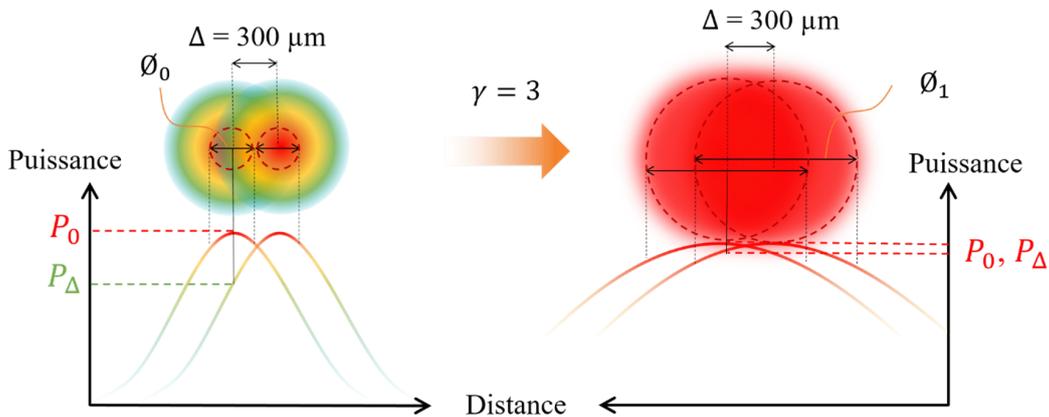
**FIGURE 2.8** – Images du faisceau en sortie de laser acquises avec la caméra IR Spiricon (pixels de  $100\text{ }\mu\text{m}$ ) (a) à  $1220\text{ cm}^{-1}$ , (b)  $1270\text{ cm}^{-1}$  et (c)  $1280\text{ cm}^{-1}$

Une seconde difficulté a été relevée lors de la mise en place des expériences. Il a été remarqué que la forme et la direction du spot pouvaient changer entre des longueurs d'onde sur un même QCL. Pour confirmer cela, une caméra IR Spiricon d'une résolution spatiale de  $100\text{ }\mu\text{m}$  a été placée en sortie du laser. Des images du faisceau ont ainsi été réalisées à différentes longueurs d'onde d'un même QCL illustrant le déplacement et la déformation du faisceau. La Fig.2.8

regroupe trois captures d'écran des images du faisceau à trois longueurs d'onde différentes. Premièrement, on peut remarquer que le faisceau a un diamètre de 30 pixels en moyenne, ce qui correspond bien aux 3 mm annoncés par le fournisseur. A  $1220\text{ cm}^{-1}$  et  $1270\text{ cm}^{-1}$ , le spot du faisceau a une allure en forme de disque, ce qui se traduit par des coupes horizontale et verticale qui sont des gaussiennes symétriques. Ceci n'est pas le cas à  $1280\text{ cm}^{-1}$ , où le faisceau est déformé, comme s'il y avait un changement de mode. Aussi, si l'on place un repère sur le centre du spot à la première longueur d'onde, on peut remarquer que celui-ci se décale entre 1 et 2 pixels vers la droite sur la deuxième image, soit presque  $200\text{ }\mu\text{m}$ , et jusqu'à  $300\text{ }\mu\text{m}$  vers la gauche sur la troisième image. Ceci signifie que sur notre détecteur IR aux pixels de  $12\text{ }\mu\text{m}$ , le faisceau pourrait se décaler de plus de 20 pixels entre deux longueurs d'onde. Afin de palier ce problème, un expasseur a été mis en place en sortie de laser afin que le décalage ne soit plus perceptible en terme de puissance sur les images. Des images similaires d'un décalage significatif du faisceau entre deux longueurs d'ondes du QCL 2 sont présentées en annexe D.

### II.2.2 Expansion du faisceau laser

L'objectif de l'expasseur est, premièrement, sur un même pixel de l'imageur, de ne pas percevoir le décalage du faisceau. La Fig.2.9 illustre cette idée. En effet, sans grandissement du faisceau, le décalage du centre de la gaussienne est visible, c'est à dire qu'à une longueur d'onde, la puissance incidente sur un pixel au centre de la gaussienne peut avoir une certaine valeur, puis, à une autre longueur d'onde, le faisceau peut se décaler d'une distance  $\Delta$ , ce qui provoquera une diminution de puissance incidente sur ce même pixel, car on s'éloigne du centre de la gaussienne. En expansant le faisceau d'un facteur 3, cette variation de puissance sera diminuée d'un facteur 10.

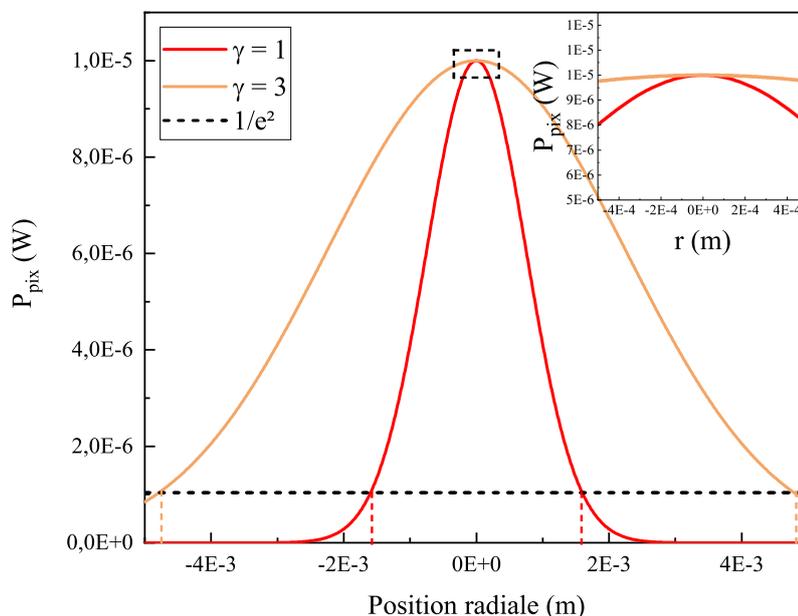


**FIGURE 2.9** – Variation de puissance sur un même pixel dû au décalage du faisceau.

Ceci peut se voir sur la Fig.2.10, où le profil de puissance du faisceau gaussien théorique à  $z = 0$ , c'est à dire en sortie de laser, a été calculé tel que :

$$P(r, z = 0) = P_0 e^{-\left(\frac{2r^2}{w_0^2}\right)} \quad (2.1)$$

où  $P_0$  est la puissance sur une surface de  $12\ \mu\text{m} \times 12\ \mu\text{m}$  (surface d'un pixel de l'ATTO320),  $r$  la distance radiale au centre de la gaussienne, et  $w_0$  le waist du faisceau, égal à 3 mm en sortie de laser.

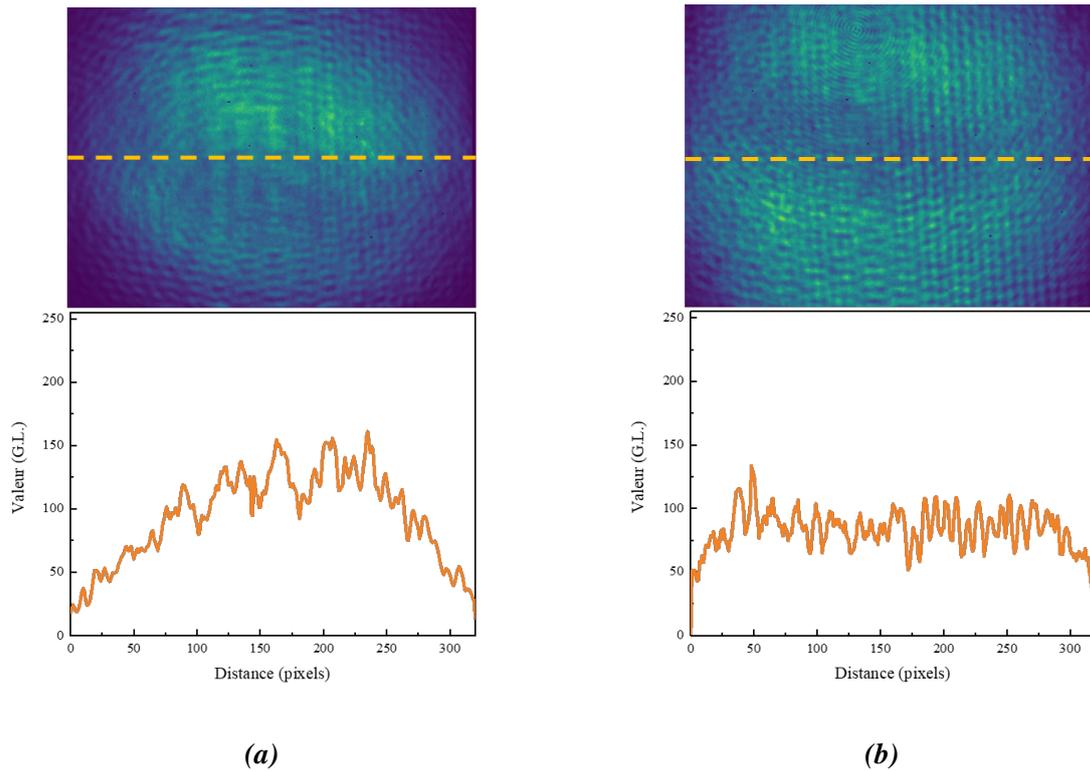


**FIGURE 2.10** – Profil gaussien du faisceau en sortie de laser avant et après expansion ( $w_0 = 3\ \text{mm}$  en sortie du MIRcat).

La puissance initiale  $P_0$  est prise à  $10\ \mu\text{W}$ , qui est la puissance maximale détectable par un pixel. La courbe rouge est donc une coupe du faisceau gaussien en sortie de laser, sans expansion, c'est à dire avec un grandissement de 1. La courbe orange correspond au profil gaussien après un grandissement de 3. On suppose que l'expandeur (ou lentille d'expansion) peut être placé jusqu'à une distance maximale de 10 cm du MIRcat, avant  $BS_1$ , pour être commun aux deux bras. Le faisceau étant collimaté en sortie du laser, on considère que le diamètre initial du faisceau est toujours égal à 3 mm lorsqu'il atteint l'expandeur. Le waist  $w$  du faisceau expansé peut donc se simplifier par  $w = 3w_0$ . Un zoom est effectué sur le haut du graphique, et permet de se rendre compte qu'un décalage du faisceau de  $300\ \mu\text{m}$  implique bien une variation de puissance moindre lorsque le faisceau est expansé d'un facteur 3.

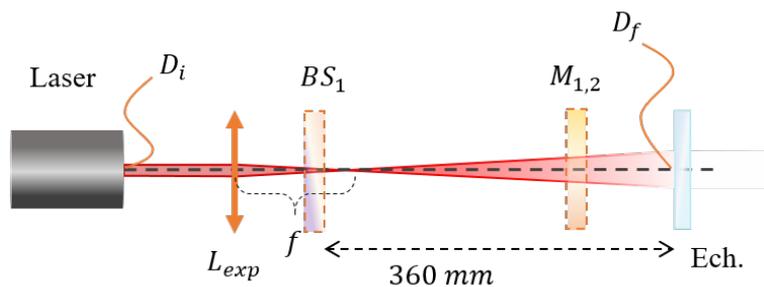
Le second objectif de l'expansion du faisceau est d'homogénéiser les valeurs de niveau de gris sur la surface du détecteur, afin d'améliorer le traitement d'images. La Fig.2.11 montre les images prises en sortie du MZI et les profils correspondants d'un faisceau expansé (a) et non expansé (b). Sans expansion, le profil du faisceau est bombé, ce qui pourra rendre difficile le traitement d'images envisagé par la suite. Avec expansion, on observe un profil plat, qui traduit une homogénéisation des niveaux de gris sur toute la surface de l'imageur.

Premièrement, l'expansion du faisceau grâce à deux lentilles a été testée, afin de le collimater, mais cela créait des franges indésirables sur l'image, contrairement à une expansion avec



**FIGURE 2.11** – Images et histogrammes correspondants au faisceau (a) non expansé (b) expansé.

une seule lentille. C’est donc cette solution qui a été retenue. Le principe de l’expansion à une lentille est illustré par le schéma d’optique géométrique de la Fig.2.12.

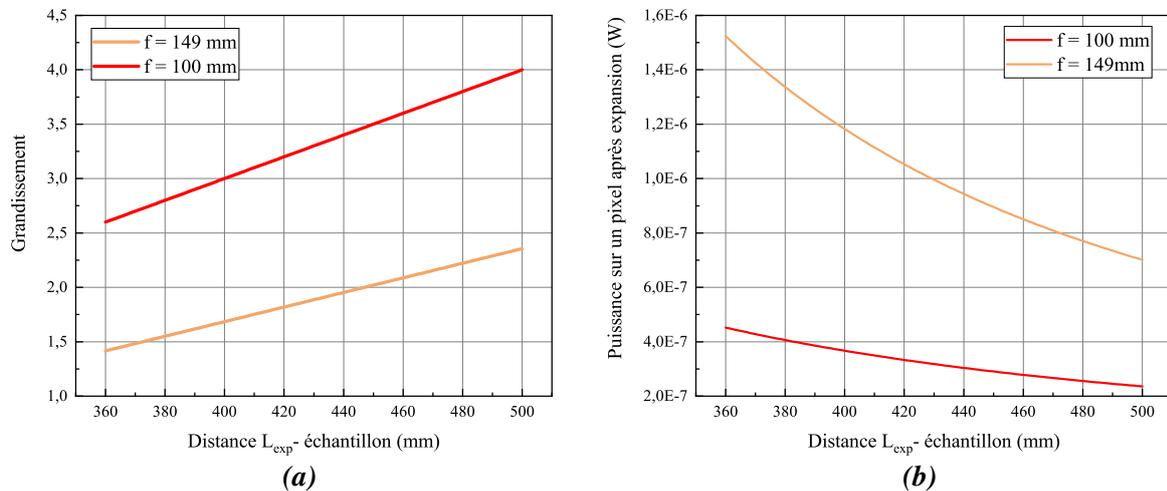


**FIGURE 2.12** – Schéma d’optique géométrique de l’expansion du faisceau laser.

La lentille doit être placée avant le premier BS, pour que l’expansion soit commune aux deux échantillons. Le faisceau de diamètre  $D_i$  est focalisé par la lentille d’expansion  $L_{exp}$ , puis les rayons divergent jusqu’à atteindre un diamètre final  $D_f$  au niveau de l’échantillon. Pour choisir la focale ainsi que l’emplacement de la lentille par rapport à la sortie du laser, on suppose que le faisceau en sortie de laser avant la lentille est collimaté. Ainsi, la propagation du faisceau peut être approximée par le théorème de Thalès tel que :

$$\frac{D_f}{D_i} = \frac{\overline{BS_1 Ech}}{f} \quad (2.2)$$

Comme pour le reste du banc, la lentille est choisie en ZnSe. Plusieurs focales sont disponibles dans cette gamme de lentilles chez Thorlabs, et deux d'entre elles pouvaient convenir :  $f = 100$  mm et  $f = 149$  mm.



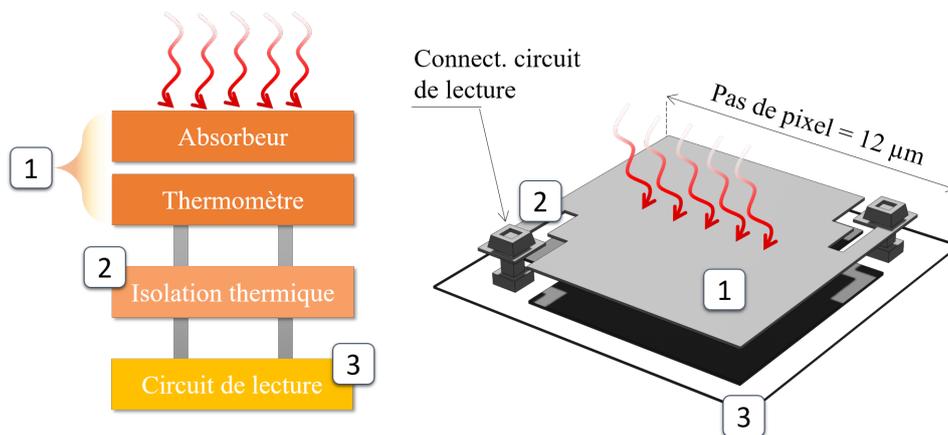
**FIGURE 2.13** – (b) Puissance reçue par une surface équivalente à un pixel au niveau de l'échantillon.

Afin de décider de la focale de la lentille, le graphique de la Fig.2.13.a permet de connaître le grandissement en fonction de la distance entre la lentille et l'échantillon. L'interféromètre étant déjà construit, la distance entre  $BS_1$  et l'échantillon est déjà connue, de valeur 360 mm. La distance  $L_{exp}Ech$  doit donc être supérieure à cette valeur. La focale de 149 mm n'atteint au maximum qu'un grandissement de 2.3 pour une distance de 500 mm. Avec la focale de 100 mm, on peut plus facilement atteindre un grandissement de 3. Cependant, plus le faisceau est expansé, plus la puissance sur un pixel est faible, c'est donc également un critère à prendre en compte. La Fig.2.13.b montre comment diminue la puissance en fonction de la distance avec l'échantillon et donc du grandissement. Pour le calcul, la puissance en sortie de laser est prise égale à 300 mW, ce qui est la puissance qui sera généralement utilisée lors des mesures. Ramenée à un pixel de  $12 \mu\text{m}$  de côté, cela correspond à environ  $6 \mu\text{W}$  (un pixel peut détecter entre 10 pW et  $10 \mu\text{W}$ , voir Sec.II.3.2). La puissance sur un pixel après expansion du laser est différente d'un facteur 4 entre les deux focales, ce qui reste acceptable car mesurable par le détecteur. Précédemment, nous avons vu qu'un grandissement de 3 était intéressant pour résoudre les problèmes de décalage du laser entre deux longueurs d'onde. Pour s'assurer de résoudre ce problème, c'est finalement la lentille de focale 100 mm qui a été choisie et placée à une distance de 460 mm de l'échantillon, ce qui offre un grandissement d'environ 3.5. A cette distance, la puissance sur un pixel est estimée à  $0.3 \mu\text{W}$ . C'est avec ce grandissement que les images de la Fig.2.11 ont été réalisées, ce qui montre que cela résout également le problème d'homogénéité du faisceau sur l'image. Finalement, cette expansion conduit à une divergence des rayons de  $0.15$  rad, soit  $8.6^\circ$ . Cette divergence implique un front d'onde sphérique arrivant sur les échantillons de chacun des bras, si bien que la forme de la frange en interférométrie devient très sensible aux différences de chemin optique entre les deux voies. Si les échantillons ne sont pas placés exactement à une même distance de la lentille  $L_{exp}$  (ce qui est très probablement le cas), la figure d'interférence obtenue aura une allure sphérique (voir Sec.II.4, Fig.2.23).

## II.3 L'imageur infrarouge

Deux grandes familles de détecteurs IR existent : les détecteurs quantiques, et les détecteurs thermiques [101]. Les détecteurs quantiques se développent depuis les années 1960 [102], et leur principe repose sur l'effet photoélectrique. Les détecteurs sont faits à base de matériaux semi-conducteurs absorbant les rayonnements IR, comme le tellure de mercure-cadmium (MCT, HgCdTe) ou l'InSb (antimoniure d'indium). Lorsqu'un photon IR interagit avec le matériau semi-conducteur, son énergie permet aux électrons de passer de la bande de valence à la bande de conduction, c'est une transition électronique interbande. Les électrons libérés créent alors un courant électrique, qui peut être mesuré pour détecter la présence de rayonnements IR. Les faibles énergies des photons IR mises en jeu impliquent un courant d'obscurité important, et donc une diminution du SNR à température ambiante, si bien que les détecteurs quantiques nécessitent un refroidissement cryogénique à l'azote liquide pour assurer un fonctionnement optimal. Dans les spectromètres FTIR, ce sont des MCT qui sont utilisés, il est donc nécessaire de remplir un réservoir à l'azote liquide avant d'effectuer les mesures, afin de refroidir les détecteurs. Ceci ajoute une complexité d'utilisation supplémentaire aux technologies utilisant les détecteurs quantiques, et augmente leur coût, ce qui les limite à des applications et des secteurs de pointe tels que la recherche, le spatial ou encore le militaire. Mais, depuis les années 1980, une autre technologie de détection des rayonnements IR est toujours en développement, celle des détecteurs et imageurs thermiques non refroidis : c'est la technologie des micro-bolomètres. C'est cette dernière qui sera utilisée pour acquérir les images IR lors des expériences menées durant cette thèse.

### II.3.1 La technologie des micro-bolomètres



**FIGURE 2.14** – *Fonctionnement d'un pixel microbolométrique. Principe (à gauche) et schéma d'un pixel (à droite). Repris et adapté de [101].*

Le fonctionnement des micro-bolomètres est basé sur la conversion en chaleur de l'énergie des photons incidents absorbés. Les variations de température sont alors mesurées grâce au matériau absorbeur et au thermomètre constituant un ensemble suspendu au-dessus du circuit de lecture. Pour un capteur non refroidi, les matériaux utilisés sont souvent des métaux, car la dissipation thermique est relativement rapide. Le flux IR est absorbé par le matériau absorbeur, ce qui crée un échauffement de la thermistance (résistance variant avec la température). La

sensibilité thermique du capteur est inversement proportionnelle à la conductivité thermique, si bien que celle-ci doit rester faible. La thermistance des micro-bolomètres est alors suspendue et mise sous vide pour l'isoler thermiquement. Des plots servent de connexion entre la structure suspendue et le circuit de lecture qui permet de récupérer le signal (voir Fig.2.14). Le circuit de lecture est de type CMOS (semi-conducteur d'oxyde de métal complémentaire), comme pour les imageurs visibles.

Généralement, les puissances optiques minimales détectables par un pixel se situent entre 1 pW et 10 nW, ce qui crée un échauffement du détecteur de l'ordre du degré celsius et une variation de résistance de l'ordre du pourcent. Ainsi, plus l'objet observé rayonne dans l'IR (est chaud), plus la variation de résistance sera importante. Le taux d'absorption du flux IR par un pixel est telle que :

$$A = \int A_{spec}(\nu) \times S_{bolo} \times \Phi(\nu) d\nu \quad (2.3)$$

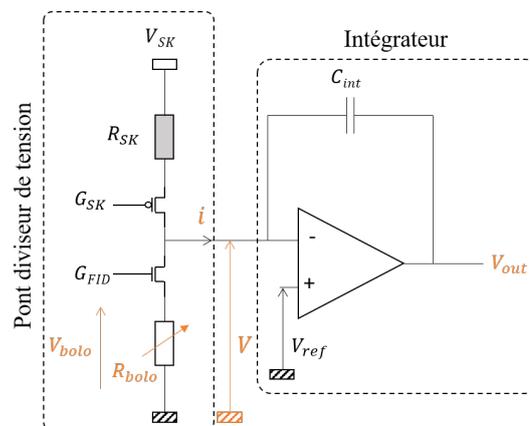
où  $A_{spec}(\nu)$  est l'absorption spectrale du matériau absorbeur (la fraction d'énergie absorbée, entre 0 et 1) et  $S_{bolo}$  la surface du pixel et  $\Phi(\nu)$  le flux surfacique de photons incidents. Ceci induit un échauffement  $\Delta T_{bolo}$  de la membrane proportionnel à cette absorption tel que :

$$\Delta T_{bolo} = A \times R_{th} \quad (2.4)$$

où  $R_{th}$  est la résistance thermique entre le détecteur et son environnement. La résistance de lecture  $R_{bolo}$  varie alors selon la loi d'Arrhenius :

$$R_{bolo}(T_0 + \Delta T_{bolo}) = R_0 e^{\frac{qE_a}{k_B} \left( \frac{1}{T_0 + \Delta T_{bolo}} - \frac{1}{T_0} \right)} \quad (2.5)$$

où  $R_0$  est la résistance à température infinie,  $q$  la charge de l'électron<sup>1</sup>,  $E_a$  l'énergie d'activation (en eV), et  $k_B$  la constante de Boltzmann<sup>2</sup>. La Fig.2.15 représente le circuit électrique équivalent d'un pixel micro-bolométrique.



**FIGURE 2.15** – Schéma électrique du circuit équivalent d'un pixel micro-bolométrique.

1.  $q = 1.6 \times 10^{-19} \text{ C}$
2.  $k_B = 1.38 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$

Le circuit peut être vu en deux parties : un pont diviseur de tension à gauche, et un montage intégrateur à droite. On y distingue, en plus de la résistance de lecture, une résistance d'ébasage  $R_{SK}$ <sup>3</sup>, d'un bolomètre dit "aveugle". Le bolomètre aveugle sert à l'ébasage de la tension mesurée à température ambiante par le bolomètre de lecture. L'ensemble des deux résistances forme un pont diviseur de tension qui permet une lecture différentielle de la tension. La tension d'ébasage  $V_{SK}$  est fixe. Sans rayonnement incident sur le pixel actif, le pont est à l'équilibre, il n'y a donc pas de courant dans la voie de lecture. Par contre, lorsqu'un flux IR vient modifier  $R_{bolo}$ , le pont est déséquilibré et l'excès de courant part dans la voie de lecture. Ce courant résiduel  $i(T)$  est ensuite intégré et amplifié. En sortie du circuit, on a finalement :

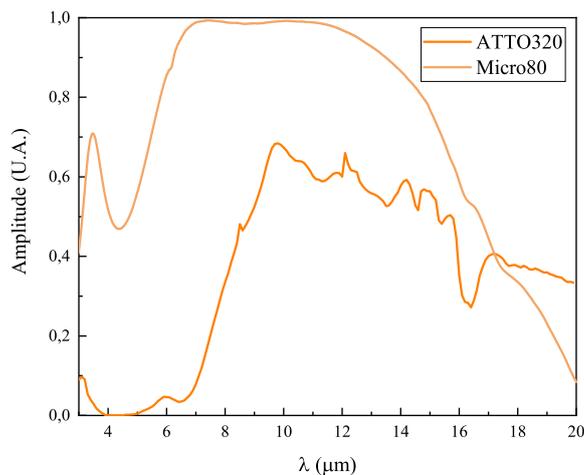
$$V_{out} = V_{ref} - \frac{1}{C_{int}} \int_0^{\tau_{int}} i(T) dt \quad (2.6)$$

Les thermistances du bolomètre de lecture et du bolomètre aveugle sont chacune connectées à un transistor MOS (métal-oxyde semi-conducteur), de tension de grille respectivement  $G_{FID}$  et  $G_{SK}$  (en V). Ces paramètres peuvent être ajustés par l'utilisateur afin d'ajuster la dynamique du détecteur. La dynamique est le rapport entre la plus grande et la plus petite valeur détectable, autrement dit, cela impacte la capacité du détecteur à retranscrire l'information en nuances de gris. Plus la dynamique est grande, plus les images sont contrastées car les pixels peuvent distinguer davantage de puissances optiques.  $G_{SK}$  modifie l'ébasage de la tension de sortie relative afin d'équilibrer le pont, et déplace donc la dynamique. Une modification de  $G_{FID}$  fait varier le courant passant dans le micro-bolomètre de lecture. Si  $G_{FID}$  augmente, le détecteur est plus sensible, le gain augmente ainsi que le bruit, ce qui peut dégrader le SNR. Aussi, cela diminue la dynamique du détecteur et la déplace car le pont est déséquilibré. Deux autres paramètres peuvent être réglés : le temps d'intégration du courant  $\tau_{int}$  et la capacité d'intégration  $C_{int}$ . Le comportement de  $V_{out}$  en fonction du temps d'intégration dépend de la température du plan focal (Focal Plane Array, FPA), autrement dit la température du substrat, qui est un paramètre critique sur les bolomètres non refroidis. La technologie de ces détecteurs non refroidis est cependant faite de façon à maintenir  $V_{out}$  la plus constante possible malgré des variations de  $T_{FPA}$ . Les variations de la dynamique avec le temps d'intégration sont donc complexes, et peuvent provoquer aussi bien une diminution qu'une augmentation de celle-ci en fonction des conditions de température scène et de plan focal. Enfin, une augmentation de la capacité d'intégration, quant à elle, provoque une diminution du gain, et donc une augmentation de la dynamique. Ces différents paramètres sont généralement accessibles et modifiables par l'utilisateur, qui pourra les faire varier de manière à optimiser la dynamique du détecteur en fonction du contexte expérimental.

### II.3.2 *Choix du détecteur ATTO320*

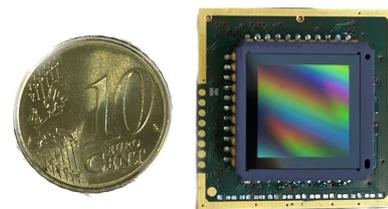
Au début de cette thèse, l'imageur disponible utilisé était la matrice de micro-bolomètres Micro80, développée par le laboratoire LI2T du CEA-Leti et commercialisée par Lynred. Constituée de  $80 \times 80$  pixels de  $25 \mu\text{m}$  de côté, avec un pas de  $34 \mu\text{m}$  cette matrice permet d'acquérir des images sur une gamme spectrale privilégiée de  $6 \mu\text{m}$  à  $14 \mu\text{m}$  (voir Fig.2.16). Le design utilisé sur les Micro80 est appelé Pixel Level Packaging (PLP), et consiste à encapsuler chaque pixel de la matrice individuellement [103, 104], ce qui a pour effet, en cas de rupture de vide, de n'impacter que le pixel touché.

3. SK pour *skimming* en anglais



**FIGURE 2.16** – Réponse spectrale des matrices de micro-bolomètres ATTO320 et Micro80.

Au cours de cette thèse, une nouvelle matrice de micro-bolomètres est devenue disponible : l’ATTO320. La résolution de celle-ci est bien meilleure, avec  $320 \times 240$  pixels de  $12 \mu\text{m}$  de côté. La réponse spectrale de l’ATTO320 est cependant différente de celle des Micro80, puisqu’elle est optimale entre  $8 \mu\text{m}$  et  $16 \mu\text{m}$  (voir Fig.2.16), et ne dépasse pas une amplitude de 0.7. Le design des ATTO320 est un packaging de type céramique, c’est à dire que la puce correspondante à l’ensemble des pixels est située sous une fenêtre de Si entourée de céramique, et le vide est fait sous cette fenêtre, pour l’ensemble de la matrice, contrairement au packaging PLP où le vide est individuel pour chaque pixel.

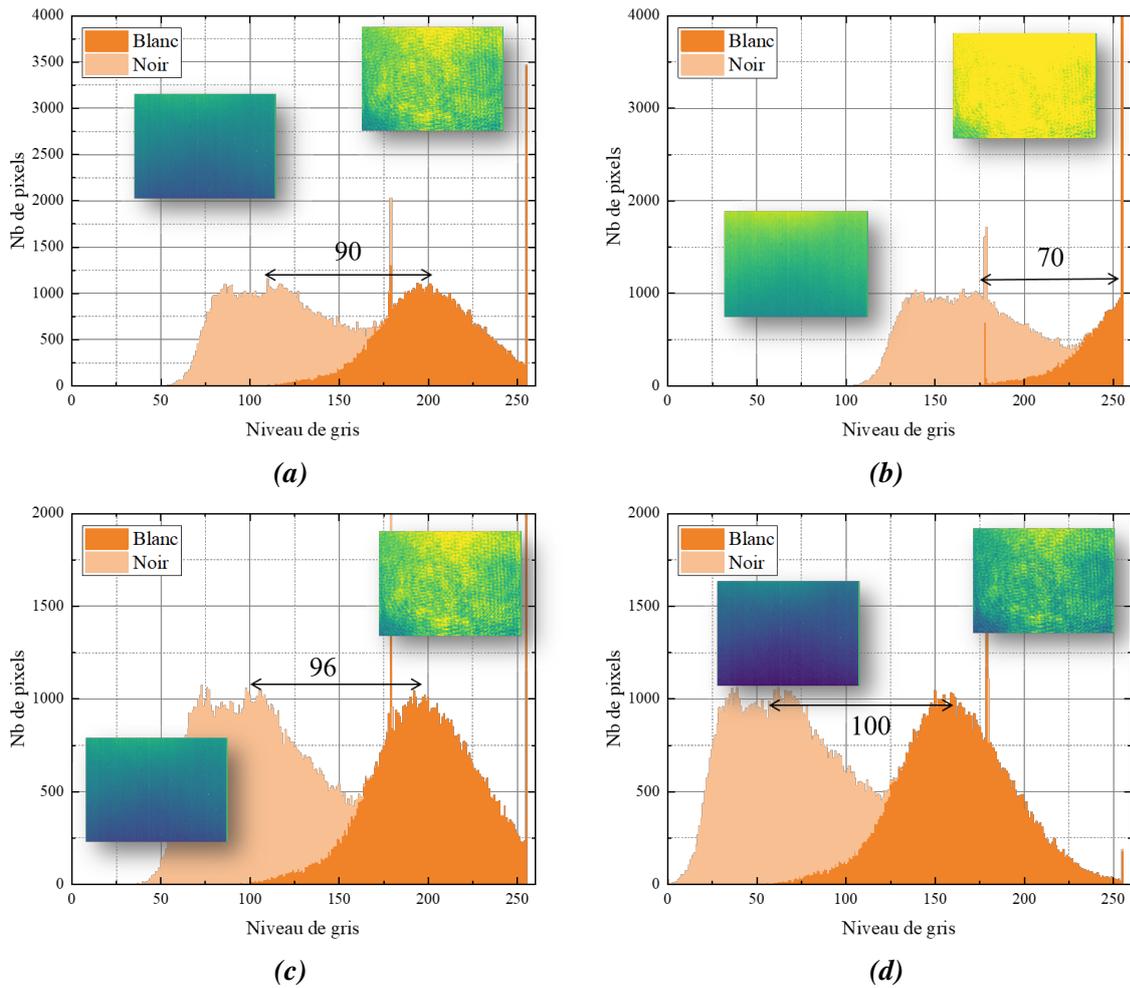


**FIGURE 2.17** – Photographie d’une matrice de microbolomètres ATTO320 en comparaison avec une pièce de 10 centimes.

Sur la photographie 2.17, c’est cette fenêtre de Si qui est visible sur le dessus du dispositif et diffracte la lumière blanche. La matrice de micro-bolomètres est plus petite et est en fait encapsulée sous vide sous cette fenêtre.

	Micro80	ATTO320
Nombre de pixels	$80 \times 80$	$320 \times 240$
Taille de pixel	$25 \mu\text{m}$	$12 \mu\text{m}$
Pas de pixel	$34 \mu\text{m}$	$12 \mu\text{m}$
Taille de matrice	$2,72 \times 2,72 \text{mm}^2$	$2,88 \times 3,84 \text{mm}^2$
Packaging	PLP	céramique
Matériau absorbeur	Si amorphe, Ge	HROX <sup>4</sup> (VO <sub>2</sub> dopé)
Réponse spectrale	$6 - 14 \mu\text{m}$	$8 - 16 \mu\text{m}$

**TABLE 2.3** – Tableau récapitulatif des principales caractéristiques des détecteurs Micro80 et ATTO320.



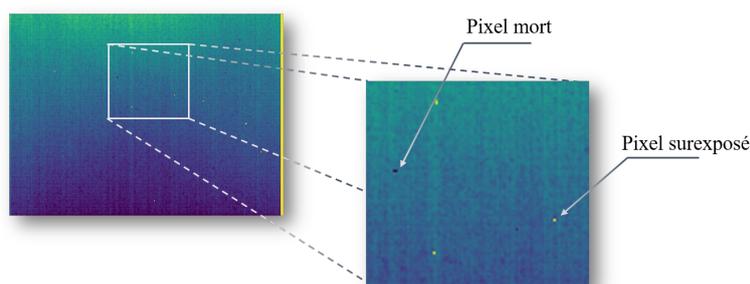
**FIGURE 2.18** – Images et histogrammes correspondants à différentes configurations  $T_{int}$  ( $\mu\text{s}$ ),  $G_{FID}$  (V),  $G_{SK}$  (V). Les paramètres d'entrée sont sans unité, et correspondent à des valeurs autour de 60  $\mu\text{s}$ , 2.7 V et 1.5 V. (a) 185, 3250, 680 (b) 198, 3300, 680 (c) 198, 3250, 700 (d) 198, 3250, 680.

Les caractéristiques principales des deux détecteurs sont données dans le Tab.2.3. Finalement, le choix s'est porté sur l'ATTO320, pour disposer d'une meilleure résolution, au détriment d'une réponse spectrale à partir de 8  $\mu\text{m}$  ne permettant pas d'exploiter la totalité des longueurs d'onde accessibles par le laser accordable MIRcat.

Comme nous l'avons vu précédemment, les paramètres  $G_{FID}$ ,  $G_{SK}$ , et  $T_{int}$  peuvent être modifiés dans le but d'améliorer la dynamique du détecteur en fonction du contexte expérimental. Le logiciel ProxyDemo permet à l'utilisateur de contrôler manuellement le détecteur, et de modifier ces paramètres d'entrée ainsi que le gain. La Fig.2.18 montre quatre configurations différentes  $T_{int}$ ,  $G_{FID}$ ,  $G_{SK}$ , et les histogrammes associés. Plus l'image est claire, plus l'histogramme est décalé vers la droite, et inversement. Sur les quatre images, on compare les histogrammes de l'offset laser éteint (dite image de noir) et d'une image laser allumé (dite image de blanc). L'écart entre les deux histogrammes renseigne sur la dynamique du détecteur dans les différentes configurations.

L'histogramme (d) correspond aux valeurs de  $T_{int}$ ,  $G_{FID}$  et  $G_{SK}$  retenues, qui correspondent respectivement à  $60 \mu s$ ,  $2.7 V$  et  $1.5 V$ . Sur celle-ci, l'histogramme de l'offset est le plus à gauche, et la puissance laser a été réglée de façon à obtenir un histogramme gaussien dont l'extrémité droite est la plus à droite possible, sans saturer. A partir de ces paramètres,  $T_{int}$ ,  $G_{FID}$  et  $G_{SK}$  sont modifiés un par un pour en voir les effets. En diminuant  $T_{int}$ , on remarque un décalage vers la droite des histogrammes, plus important pour l'image de noir que pour le blanc. La dynamique est réduite par rapport à l'image (d). Pour l'image avec le laser allumé, les pixels commencent à saturer, ce qui se traduit par un pic à la valeur de 255.  $G_{FID}$ , la tension de base du bolomètre de lecture, permet de jouer sur la réponse du détecteur, c'est à dire le rapport entre la puissance reçue et l'intensité électrique en sortie du circuit, autrement dit, cela modifie la sensibilité du circuit de lecture. C'est ce qu'on remarque entre les images (b) et (d), où l'augmentation de  $G_{FID}$  induit une image de noir et de blanc plus claires et donc un décalage vers la droite des histogrammes, et une diminution de la dynamique. Enfin, augmenter  $G_{SK}$  (entre l'image (c) et (d)) signifie que l'on augmente la tension d'ébasage des pixels aveugles, ce qui décale également l'histogramme d'offset à droite et donc diminue la dynamique. Pour faciliter l'interprétation de l'utilisateur, les histogrammes présentent les valeurs codées sur 8 bits (niveaux de gris de 0 à 255). Cependant, les images sont enregistrées sur 14 bits (de 0 à 16 383). Durant cette thèse, il a été choisi pour des raisons pratiques de garder les paramètres optimaux du bolomètre fixes, et plutôt d'ajuster la puissance laser à chaque longueur d'onde, pour veiller à ne pas saturer les pixels.

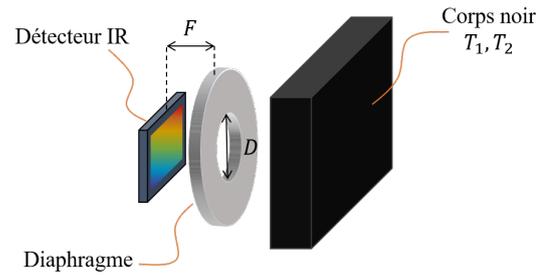
On remarque sur les images d'offset de la Fig.2.19 une inhomogénéité avec un halo chaud sur la partie supérieure du détecteur dû à l'échauffement du circuit de lecture. Aussi, les colonnes de pixels ont des réponses différentes. Enfin, des pixels morts (en noir), et des pixels surexposés (en jaune) sont présents également sur la matrice et sont dûs à des défauts de fabrication ou des détériorations lors d'expériences.



**FIGURE 2.19** – Zoom sur les défauts présents sur la matrice (pixels morts, surexposés, colonnes, halo chaud).

Cet offset peut être corrigé grâce à l'application d'une correction de non uniformité (Non Uniformity Correction, NUC) avant les mesures. La NUC un point consiste à retirer une valeur d'offset propre à chacun des pixels, tandis que la NUC deux points ajuste l'offset et le gain de chaque pixel. Dans notre cas, le traitement d'images revient à réaliser une NUC deux points lorsque l'on divise par une image de référence (de blanc) en plus de retirer une image d'offset. Dans les cas où il n'y a pas d'image de référence, la seule soustraction de l'offset revient à faire une NUC un point.

Enfin, un paramètre important à connaître sur le détecteur est celui de la différence de température équivalente au bruit (Noise Equivalent Temperature Difference, NETD). Il s'agit de la plus faible variation de température que le détecteur peut détecter, autrement dit la température qui induira un SNR égal à 1. Classiquement, la différence de température équivalente au bruit (Noise Equivalent Temperature Difference, NETD) est mesurée de la façon suivante : le détecteur matriciel est placé devant un corps noir, à une distance  $F$  d'un diaphragme de diamètre  $D$ , tel que  $D = F$  (voir Fig.2.20).



**FIGURE 2.20** – Configuration de la mesure de différence de température équivalente au bruit (Noise Equivalent Temperature Difference, NETD).

La réponse  $Rep(x, y)$  de chaque pixel est calculée en exposant le détecteur à deux températures du corps noir, généralement 20°C et 30°C. On a alors :

$$Rep(x, y) = \frac{Val_{pix}^{T_1}(x, y) - Val_{pix}^{T_2}(x, y)}{T_2 - T_1} \quad (2.7)$$

où  $Val_{pix}^T(x, y)$  est la valeur en niveau de gris du pixel  $(x, y)$  exposé à la température  $T$ . Enfin, pour calculer la différence de température équivalente au bruit (Noise Equivalent Temperature Difference, NETD), le bruit temporel  $B(x, y)$  sur un pixel doit être connu. Il s'agit de l'écart type entre les valeurs de niveau de gris d'un même pixel  $(x, y)$  sur une série de  $N$  images. Ainsi :

$$B(x, y) = \sqrt{\frac{N \sum_{i=1}^N Val_{pix}^2(x, y) - \left( \sum_{i=1}^N Val_{pix}(x, y) \right)^2}{N(N-1)}} \quad (2.8)$$

Enfin, la NETD peut être calculée pour chaque pixel  $(x, y)$ , telle que :

$$NETD(x, y) = \frac{B(x, y)}{Rep(x, y)} \quad (2.9)$$

La NETD du détecteur est donc la moyenne des valeurs de NETD des pixels. Pour le détecteur ATTO320, on sait d'après le constructeur que la NETD est de 50 mK. Or, dans notre cas, nous ne souhaitons pas observer des variations de température, mais des variations de puissance, puisque nous n'observons pas une scène IR classique mais l'intensité d'un faisceau laser. Nous souhaitons alors calculer une puissance équivalente au bruit (Noise Equivalent Power, NEP). Connaissant la méthode de mesure utilisée pour calculer la NETD, nous pouvons raisonner de la façon suivante. Une NETD de 50 mK signifie que le détecteur est capable de distinguer deux objets qui ont une différence de température de 50 mK. Pour convertir une température en puissance, on utilise la loi de Stefan Boltzmann :

$$P_{surf} = \sigma T^4 \quad (2.10)$$

où  $P_{surf}$  est la puissance surfacique (en  $W m^{-1}$ ),  $T$  la température (en K) et  $\sigma$  la constante de Stefan-Boltzmann (en  $W m^{-2} K^{-4}$ ) telle que :

$$\sigma = \frac{2\pi^5 k_B^4}{15h^3 c^2} = 5.67 \times 10^{-8} W m^{-2} K^{-4} \quad (2.11)$$

où  $h$  est la constante de Planck<sup>5</sup> et  $c$  la vitesse de la lumière<sup>6</sup>. Puisque l'on s'intéresse à une différence de puissance, on dérive l'Eq.2.10 :

$$dP_{surf} = 4\sigma T^3 dT = 4\sigma T^3 NETD \quad (2.12)$$

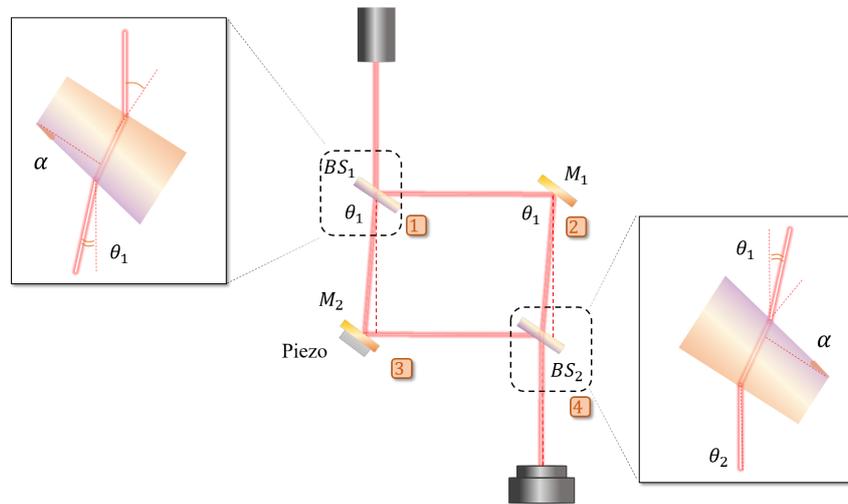
ce qui donne  $dP_{surf} = 0.285 \text{ W m}^{-2}$  pour un objet à température ambiante ( $T = 293 \text{ K}$ ). Il s'agit donc de la puissance surfacique émise par un objet. Ce que l'on cherche dans notre cas est la puissance reçue par un pixel. Pour cela, on utilise la relation entre l'émittance d'un objet au travers d'un système d'imagerie et l'éclairement du capteur  $E_{det}$  :

$$NEP = E_{det} \times S_{pix} = \frac{dP_{surf} \times S_{pix}}{4f_{\#}^2} \quad (2.13)$$

Connaissant la surface d'un pixel et sachant que la NETD est généralement donnée à  $f/1$ , on prendra  $f_{\#} = 1$  et  $S_{pix} = 12 \mu\text{m} \times 12 \mu\text{m}$ . Tout calcul fait, on trouve finalement une NEP égale à  $10 \text{ pW}$ . Un pixel micro-bolométrique de la matrice ATTO320 permet donc de transcrire en niveau de gris une variation de puissance de l'ordre de  $10 \text{ pW}$ .

#### II.4 L'alignement de l'interféromètre

L'alignement du MZI doit être minutieux et est d'autant plus fastidieux qu'il est réalisé dans l'IR. Cette sous-section expose les différentes étapes de ce savoir-faire.



**FIGURE 2.21** – Schéma du parallélogramme formé du fait de l'angle induit par les BS et ordre de placement des quatre éléments principaux.

En effet, le choix a été fait d'acquérir directement des images de phase, sans que l'utilisation d'un algorithme de reconstruction ne soit nécessaire. Les images de phase sont acquises sur un fond homogène : les franges d'interférences en sortie du système doivent être des teintes plates, c'est à dire que l'on doit voir sur le détecteur une frange uniforme soit sombre, soit claire, et non

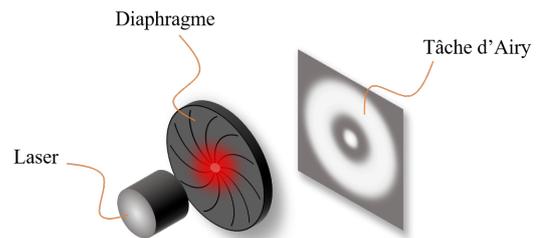
5.  $h = 6.62 \times 10^{-34} \text{ J s}$

6.  $c = 2.99 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$

une succession de franges rectilignes. L'alignement constitue un savoir-faire dont les différentes étapes sont détaillées en annexe E.

Les éléments principaux du MZI ( $BS_{1,2}$  et  $M_{1,2}$ ) doivent former un parallélogramme, et non un rectangle, du fait des BS qui dévient le faisceau qu'elles transmettent. En effet, celles-ci possèdent un angle entre leurs faces qui permet de minimiser les interférences internes. Les relations de Snell-Descartes montrent que cet angle (donné à  $30'$  par le constructeur) induit un décalage du faisceau transmis en sortie de la lame d'un angle  $\theta_1$  égal à  $0.02$  rad. Les BS sont orientés de façon à obtenir une réflexion à  $90^\circ$  du faisceau réfléchi (voir Fig.2.21).

C'est le positionnement du premier BS en sortie du MIRcat qui détermine donc les angles du parallélogramme. Le premier élément placé est donc  $BS_1$ . Puis, les miroirs  $M_1$  et  $M_2$  et enfin  $BS_2$ . Pour plus de précision, les réglages se font en plaçant deux diaphragmes en position fermée sur le trajet optique souhaité, le but étant d'observer une tâche d'Airy lorsque le faisceau passe par le trou, comme représentée sur la Fig.2.22.

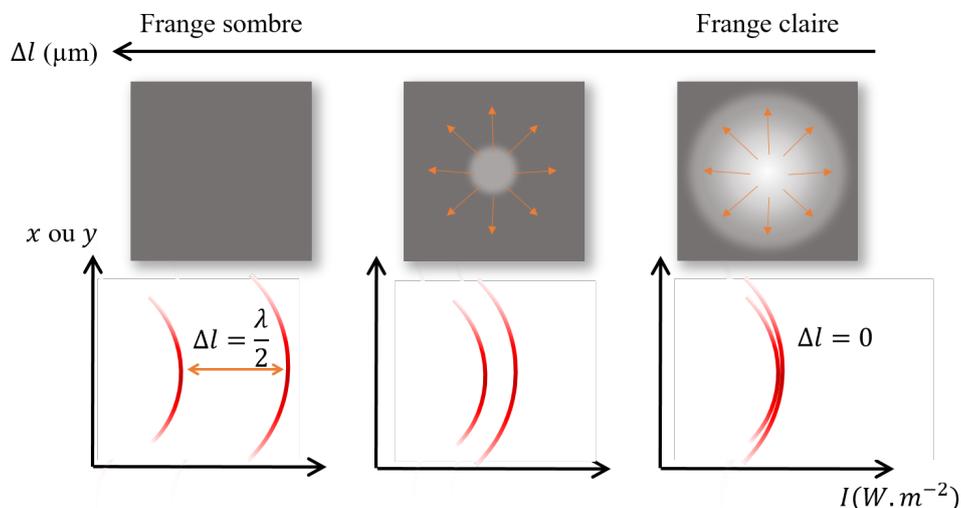


**FIGURE 2.22** – Allure de la tâche d'Airy devant être obtenue à travers le diaphragme lorsque le faisceau est bien positionné.

Les premiers réglages se font à l'aide d'une carte thermique, tandis que les ajustements plus précis se font grâce à la matrice de micro-bolomètres. Une fois le parallélogramme formé, les faisceaux en sortie de  $BS_2$  doivent être superposés afin d'obtenir des franges d'interférences. Pour cela, les réglages se font de près en touchant à  $M_2$  uniquement pour ajuster le parallélisme des miroirs entre eux, et de loin en jouant sur la position de  $BS_2$  pour régler l'angle du faisceau qu'il réfléchit et le superposer sur le faisceau transmis. Ces deux opérations sont répétées autant de fois que nécessaire, jusqu'à obtenir une teinte plate.

Une manipulation rapide peut permettre de s'assurer du bon alignement du banc. Il suffit de faire bouger le miroir  $M_2$  en diagonale grâce au contrôleur piezo-électrique. Ceci change la différence de marche entre les deux bras jusqu'à  $BS_2$ , ce qui a pour effet de faire défiler les franges d'interférences. Si le MZI est bien aligné, les franges défilent par le centre de la gaussienne formée par la teinte plate, c'est à dire que la frange apparaît et disparaît depuis le centre du faisceau, son diamètre et son intensité augmentant et diminuant en fonction de la différence de marche introduite. La Fig.2.23 montre comment défilent les franges d'interférences en fonction de la différence de marche  $\Delta l$  introduite par la translation du miroir. Cette évolution par le centre est due à la position des fronts d'onde sphériques du faisceau l'un par rapport à l'autre, et à leur différence de rayon très probable du fait du faisceau divergeant sur les deux voies en sortie de la lentille d'expansion. En effet, lorsque les deux fronts d'onde tendent à se superposer, la première zone du front d'onde à être détectable par l'imageur est son centre. L'intensité des deux fronts d'onde s'additionne et dépend du déphasage, ce qui explique d'une part l'étalement de la frange depuis le centre du profil gaussien, et d'autre part l'augmentation de l'intensité. Cependant, dans le cas où le MZI n'est pas parfaitement aligné, les franges peuvent sembler

défiler en diagonale. Si tel est le cas, les réglages précédents doivent être réitérés jusqu'à obtenir la teinte plate souhaitée.



**FIGURE 2.23** – Evolution spatiale de la teinte plate observée sur le détecteur en fonction de la différence de marche  $\Delta l$  introduite entre les deux bras.

Une fois que le parallélogramme est construit et que les franges d'interférences forment une teinte plate bien centrée, le système d'imagerie peut être placé. On placera d'abord la lentille commune aux deux bras ( $L_3$ ), avant de placer  $L_1$  et  $L_2$ , en cachant successivement l'un et l'autre des bras du MZI. Ensuite, les angles des lentilles sont ajustés de façon à retrouver une teinte plate. La vérification avec la translation de  $M_2$  peut encore être utilisée pour s'assurer que la teinte plate est bien retrouvée. Enfin, le dernier élément à placer avant les échantillons est la lentille d'expansion  $L_{exp}$ , également commune aux deux bras, que l'on fixera cette fois en sortie du laser, avant  $BS_1$ .

### III Modèles analytiques et objets analysés

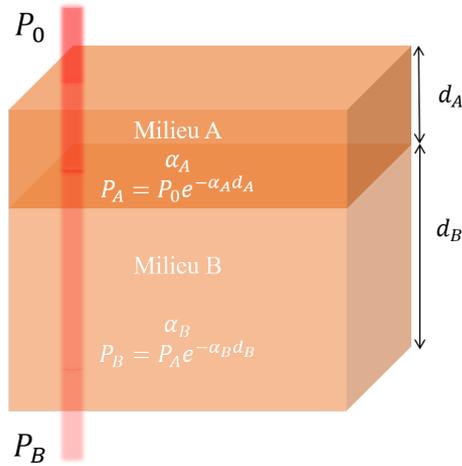
L'objectif de cette thèse est d'acquérir des images d'échantillons hydratés grâce au MZI construit. Cette section s'intéresse alors aux étapes de réflexion qui ont permis d'orienter le choix des espèces d'intérêt à introduire dans l'eau. De plus, nous verrons comment a été pensé le modèle analytique permettant de décrire les échantillons ainsi fabriqués.

#### III.1 Modèles analytiques

Nous avons vu au Chap.1 que plusieurs catégories d'échantillons peuvent être analysées : les échantillons biologiques tels que les tissus ou encore les colonies bactériennes, les solutions contenant par exemple des protéines ou du glucose, et les MP. En présence d'eau, ces différents types d'échantillons ne peuvent pas être représentés de la même manière dans les équations. Deux modèles analytiques peuvent alors être utilisés. Le modèle dit classique, qui correspondra aux échantillons biologiques, et le modèle *couches* pour les échantillons contenant des micro-particules de polymères.

### III.1.1 Microplastiques dans l'eau : modèle couches

La première catégorie d'échantillons analysés concerne les objets non miscibles dans l'eau, tels que les MP.



**FIGURE 2.24** – Schéma explicatif du modèle couches

Leur taille micrométrique et le fait qu'ils ne se mélangent pas à l'eau implique qu'à l'endroit où ces espèces se trouvent, elles remplacent une couche d'eau de même épaisseur. L'eau ayant une absorbance non négligeable, cela modifie l'absorbance de l'échantillon, ce qu'il faut alors prendre en compte. Pour cela, on imagine un modèle analytique appelé modèle *couches*, à la différence du modèle *classique* qui sera décrit dans la Sec.III.1.2 suivante. La Fig.2.24 schématise un faisceau laser de puissance incidente  $P_0$  traversant un milieu constitué de deux matériaux A et B de coefficients d'absorption  $\alpha_A$  et  $\alpha_B$ .

Si l'espèce A est non miscible avec l'espèce B, et qu'elle est répartie de façon homogène dans le volume sondé, on peut la modéliser par une couche dont l'épaisseur sera proportionnelle à la concentration introduite. Connaissant le volume total de l'échantillon (fixé par exemple par l'épaisseur d'une cuve microfluidique), le faisceau traverse une épaisseur totale fixe  $d_{tot} = d_A + d_B$ , où  $d_A = f \times d_{tot}$  et  $d_B = (1 - f) \times d_{tot}$ , avec  $f$  la fraction de l'espèce A introduite dans l'espèce B. Autrement dit, si  $V_A$  est le volume occupé par A et  $V_{tot}$  le volume total de l'échantillon :

$$f = \frac{V_A}{V_{tot}} = \frac{d_A}{d_{tot}} \quad (2.14)$$

La quantité  $f$  peut alors prendre des valeurs de 0 (eau seule) à 1 (espèce introduite seule). On l'exprimera aussi parfois en pourcentages. Lorsque le faisceau traverse l'échantillon, il rencontre d'une part une épaisseur  $d_A$  de l'espèce A, puis une épaisseur  $d_B$  de l'espèce B. En sortie de l'échantillon, la puissance finale récupérée est :

$$P_B = P_0 e^{-(\alpha_A d_A + \alpha_B d_B)} \quad (2.15)$$

Sachant que  $\alpha = \frac{4\pi k}{\lambda}$ , et en tenant compte des égalités posées précédemment, il vient :

$$P_B = P_0 e^{-\frac{4\pi}{\lambda} (k_A f + k_B (1-f)) d_{tot}} \quad (2.16)$$

On en déduit que l'indice effectif de l'échantillon s'écrit :

$$k_{eff} = k_A \times f + k_B \times (1 - f) \quad (2.17)$$

On démontre ensuite, grâce aux relations de Kramers Kronig établies au Chap.1, Sec.II.1.4, que l'on peut également appliquer cette relation à l'indice de réfraction réel  $n$ . La démonstration est

donnée en annexe F. Ainsi, lors de l'introduction d'une fraction  $f$  d'espèce d'intérêt dans de l'eau, les indices réel et imaginaire effectifs de l'échantillon sont tels que :

$$\begin{aligned} n_{eff} &= n_{esp} \times f + n_e \times (1 - f) \\ k_{eff} &= k_{esp} \times f + k_e \times (1 - f) \end{aligned} \quad (2.18)$$

où  $n_{esp}$ ,  $k_{esp}$  et  $n_e$ ,  $k_e$  sont respectivement les indices de l'espèce introduite et de l'eau. Nous pouvons donc maintenant appliquer les Eq.2.18 au cas du MZI. Le faisceau du bras de référence traverse une épaisseur fixe  $d_{tot}$  d'eau seule, tandis que sur le bras de mesure, le faisceau traverse, au niveau de l'espèce introduite, deux couches successives : l'espèce d'intérêt, d'épaisseur  $d_{esp} = d_{tot} \times f$ , et l'eau, d'épaisseur  $d_e = d_{tot} \times (1 - f)$ . Les Eq.2.18 peuvent être généralisées à la présence de  $N$  espèces dans l'eau. Ainsi :

$$\begin{aligned} n_{eff} &= \sum_{i=0}^N n_i \times f_i + n_e \times \left(1 - \sum_{i=0}^N f_i\right) \\ k_{eff} &= \sum_{i=0}^N k_i \times f_i + k_e \times \left(1 - \sum_{i=0}^N f_i\right) \end{aligned} \quad (2.19)$$

où  $n_i$  et  $k_i$  correspondent aux indices réel et imaginaire de l'espèce  $i$ . Sur le bras de référence, la puissance du faisceau laser diminue telle que :

$$P_{ref} = P_0 \times T_1 \times R_2 \times \exp\left(-\frac{4\pi k_e d_{tot}}{\lambda}\right) \quad (2.20)$$

où  $P_0$  est la puissance en sortie de laser,  $T_1$  et  $R_2$  respectivement les coefficients de transmission et de réflexion de  $BS_1$  et  $BS_2$ , et  $\lambda$  la longueur d'onde (en  $\mu\text{m}$ ). Sur le bras de mesure cependant, l'introduction de l'espèce à analyser implique que la puissance diminue telle que :

$$P_{mes} = P_0 \times T_2 \times R_1 \times \exp\left(-\frac{4\pi k_{eff} d_{tot}}{\lambda}\right) \quad (2.21)$$

Finalement, l'équation permettant de calculer la puissance des interférences est la suivante :

$$\begin{aligned} P_{int} &= P_{mes} + P_{ref} + 2\sqrt{P_{mes}P_{ref}} \times \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}(n_{eff} - n_e)d_{tot} + \Phi_{sup}\right) \\ &= P_{mes} + P_{ref} + 2\sqrt{P_{mes}P_{ref}} \times \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}\Delta n d_{esp} + \Phi_{sup}\right) \end{aligned} \quad (2.22)$$

où  $\Delta n = |n_{esp} - n_e|$  et  $\Phi_{sup}$  est un éventuel déphasage initial supplémentaire. Dans le cas généralisé de  $N$  espèces, l'Eq.2.22 devient :

$$P_{int} = P_{mes} + P_{ref} + 2\sqrt{P_{mes}P_{ref}} \times \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}\left(\sum_{i=0}^N n_i f_i - n_e \sum_{i=0}^N f_i\right)d_{tot} + \Phi_{sup}\right) \quad (2.23)$$

dans la plupart des travaux précédents, les gens négligent la diminution de volume du solvant dû à l'introduction d'analyte, ce qui mène à ce modèle.

### III.1.2 Echantillons biologiques hydratés : modèle classique

Les échantillons biologiques sont des milieux complexes dont le modèle analytique constitue un sujet d'étude à part entière. Ici, l'objectif est de différencier cette catégorie d'échantillons des MP dans l'eau. Une première approche consiste à s'intéresser aux modèles analytiques habituellement décrits pour les échantillons tels que les solutions aqueuses. En effet, les cellules constituant les tissus, lorsqu'ils sont hydratés, peuvent être comparées à des solutions aqueuses contenant protéines, ADN, acides nucléiques, glucides et autres molécules. Dans la plupart des travaux précédents, la diminution de volume du solvant due à l'introduction d'analyte est négligée. Les équations décrivant l'absorption du faisceau par l'un et l'autre des bras sont amenées telles que :

$$\begin{aligned} I_{ref} &= I_0 RT \times 10^{-A_0} \\ I_s &= I_0 RT \times 10^{-(A_0+A)} \end{aligned} \quad (2.24)$$

où  $I_0$  est l'intensité initiale en sortie du laser,  $R$  et  $T$  les coefficients de réflexion et de transmission des BS,  $A_0$  l'absorbance de l'échantillon de référence, et  $A$  l'absorbance de la solution par rapport à la référence. Ces équations laissent à penser que pour un même volume sondé dans l'échantillon de référence et de mesure, la quantité d'eau est inchangée, qu'il y ait ou non la présence d'analyte et quelque soit la concentration de celui-ci. Dans certains cas, on peut négliger la variation de volume d'eau causée par l'introduction d'espèces biochimiques, et le modèle analytique de tissus non déshydratés ou *in vivo* pourrait alors se décrire de la même manière. Par analogie avec les Eq.2.18, les indices effectifs de l'échantillon biologique (ou de la solution) peuvent s'écrire :

$$\begin{aligned} n_{eff} &= \beta'_{esp}(c) + n_e \\ k_{eff} &= \beta''_{esp}(c) + k_e \end{aligned} \quad (2.25)$$

$\beta'_{esp}(c)$  et  $\beta''_{esp}(c)$  sont des coefficients dépendants de la concentration  $c$  tels que [105] :

$$\begin{aligned} \beta'_{esp} &= n_\infty + \frac{N_A \alpha'}{2\varepsilon_0} \times c \\ \beta''_{esp} &= \frac{N_A \alpha''}{2\varepsilon_0} \times c \end{aligned} \quad (2.26)$$

où  $N_A$  est le nombre d'Avogadro<sup>7</sup>,  $\alpha'$  et  $\alpha''$  les parties réelle et imaginaires de la polarisabilité.  $n_\infty$  est l'indice réel de l'espèce dans les régions transparentes entre l'IR et le visible (ou entre l'IR et l'UV) [96].

Dans le cas de la présence de  $N$  espèces dans l'eau, les Eq.2.25 deviennent :

$$\begin{aligned} n_{eff} &= \sum_{i=0}^N \beta'_i(c_i) + n_e \\ k_{eff} &= \sum_{i=0}^N \beta''_i(c_i) + k_e \end{aligned} \quad (2.27)$$

Le modèle *classique* peut alors être utilisé pour décrire les interférences acquises en sortie du MZI. La puissance du faisceau de référence  $P_{ref}$  ne change pas par rapport au modèle *couches*

7.  $N_A = 6.02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$

(voir Eq.2.20). Le faisceau constituant le bras de mesure du MZI, quant à lui, subit une diminution de puissance dû à la fois à l'eau et à la concentration des espèces d'intérêt selon l'indice effectif  $k_{eff}$  de l'Eq.2.27. En sortie du MZI, la puissance des interférences acquises dans le cas du modèle *classique* est telle que :

$$\begin{aligned} P_{int} &= P_{mes} + P_{ref} + 2\sqrt{P_{mes}P_{ref}} \times \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}(n_{eff} - n_e)d_{tot} + \Phi_{sup}\right) \\ &= P_{mes} + P_{ref} + 2\sqrt{P_{mes}P_{ref}} \times \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}\beta'(c)d_{tot} + \Phi_{sup}\right) \end{aligned} \quad (2.28)$$

Si  $N$  espèces  $i$  sont présentes dans l'eau, l'Eq.2.28 devient :

$$P_{int} = P_{mes} + P_{ref} + 2\sqrt{P_{mes}P_{ref}} \times \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda} \sum_{i=0}^N \beta'_i(c_i)d_{tot} + \Phi_{sup}\right) \quad (2.29)$$

L'Eq.2.28 montre que pour le modèle *classique*, les variations de phase sont dues à l'espèce d'intérêt seule, puisque l'échantillon mesuré et l'échantillon de référence contiennent tous deux une quantité égale d'eau.

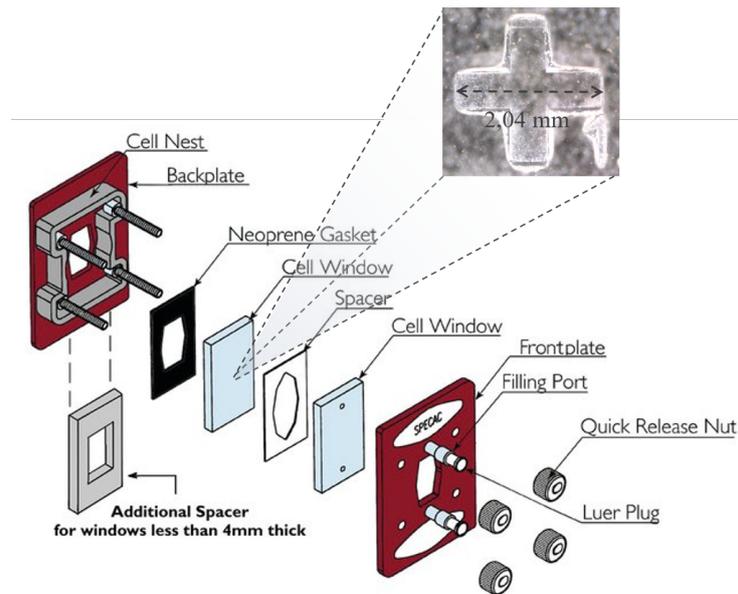
Au cours de cette thèse, nous n'avons pas analysé d'échantillons biologiques. Cependant, ce modèle servira pour le Chap.4, afin de comparer les limites de détection pour différentes sortes d'échantillons hydratés.

Le modèle *couches* et le modèle *classique* décrits peuvent être utilisés dans le cas d'échantillons d'épaisseur totale fixe. Ceci est rendu possible grâce à des cuves microfluidiques dont l'assemblage permet de contrôler l'épaisseur.

### III.2 Les cuves microfluidiques

Pour placer des échantillons dans l'eau, l'utilisation de cuves est nécessaire. Habituellement utilisées pour contenir des solutions à analyser au spectromètre FTIR, les cuves microfluidiques sont le contenant idéal pour notre application. Une vue éclatée des cuves microfluidiques utilisées est donnée Fig.2.25 (Z804088, Sigma Aldrich).

Les cuves sont constituées de deux fenêtres transparentes aux IR et d'un spacer en polytétrafluoroéthylène (PTFE) d'une épaisseur de 50  $\mu\text{m}$ . L'une des deux fenêtres dispose de deux trous, permettant l'injection de l'eau dans la cuve. Deux plaques ainsi qu'un joint en néoprène assurent une fermeture hermétique de la cuve grâce à des vis de serrage. Le choix du matériau pour les fenêtres s'est porté sur le fluorure de calcium ( $\text{CaF}_2$ ), couramment utilisé en spectroscopie IR. En effet, en comparaison du fluorure de barium ( $\text{BaF}_2$ ) ou encore du ZnSe (utilisé pour les lentilles) qui transmettent également les rayons IR, le  $\text{CaF}_2$  comporte plusieurs avantages. En effet, le  $\text{CaF}_2$  a une résistance plus importante à de nombreux solvants, acides et bases couramment utilisés en laboratoire, ce qui le rend compatible avec de nombreux échantillons. Le  $\text{CaF}_2$  est d'autant plus compatible avec notre application qu'il n'est pas soluble dans l'eau, contrairement au  $\text{BaF}_2$ , qui risque d'être dégradé après une exposition prolongée à un environnement aqueux. En effet, la solubilité dans l'eau du  $\text{BaF}_2$  est de  $1.65 \text{ gL}^{-1}$  (à  $25^\circ\text{C}$ ) contre  $0.016 \text{ gL}^{-1}$  (à  $20^\circ\text{C}$ ) pour le  $\text{CaF}_2$ .



**FIGURE 2.25** – Vue éclatée des cuves microfluidiques. Image d'une croix de résine prise au microscope optique.

Ces différents critères ont donc mené au choix des fenêtres en  $\text{CaF}_2$ , sur lesquelles seront déposées, par différents procédés, les espèces chimiques étalons.

Des supports ont été réalisés sur Solidworks et en impression 3D pour placer les cuves microfluidiques contenant les échantillons sur un ensemble de deux plate-formes permettant une translation transversale (en  $x$ ) et axiale (en  $z$ ). La translation en  $z$  permet un réglage de la position de l'échantillon à la focale de la première lentille du système d'imagerie ( $L_{1,2}$ ), tandis que la translation en  $x$  permet de déplacer l'échantillon pour placer la zone à imager en face du faisceau laser.

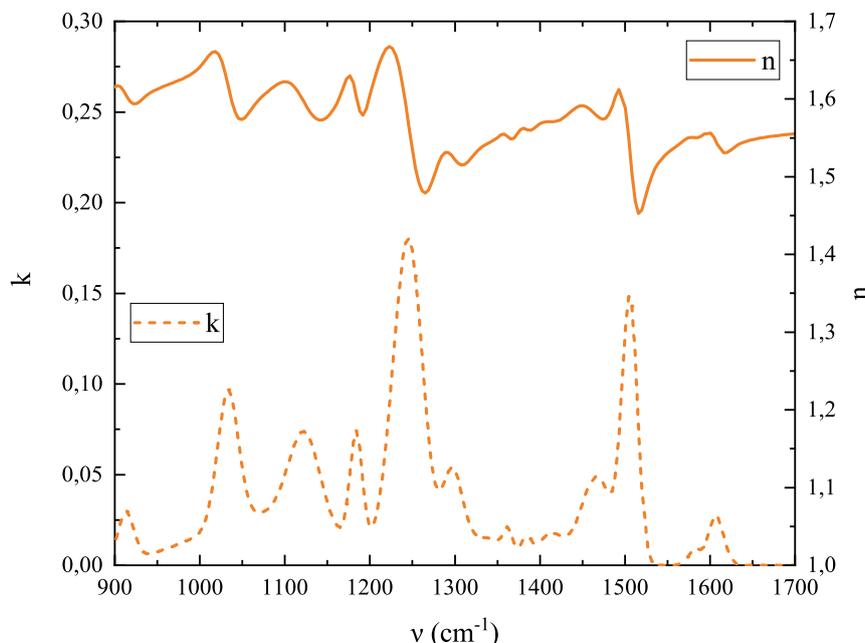
Ces cuves assurent à la fois une bonne conservation de l'échantillon hydraté grâce à son système de fermeture hermétique, ainsi qu'un contrôle de l'épaisseur avec une précision micrométrique, ce qui a permis lors des expériences menées durant cette thèse d'appliquer le modèle *couches* et ainsi de retrouver les indices spécifiques de l'espèce introduite dans l'eau.

### III.3 La photorésine SU8 dans l'eau

#### III.3.1 Choix de la résine

Les cuves microfluidiques décrites précédemment doivent contenir, en plus de l'eau, l'espèce d'intérêt à analyser. Pour l'élaboration des échantillons, plusieurs critères doivent être respectés. Les mesures que nous voulons réaliser consistent en l'acquisition d'images interférométriques dans l'IR, sur lesquelles un traitement d'images permettra de récupérer le saut de phase spécifique à l'espèce d'intérêt. Ainsi, le critère principal devant être respecté par l'espèce étalon est bien entendu une réponse spectrale dans l'IR, plus particulièrement dans le MIR, aux longueurs d'onde accessibles par le laser MIRcat et situées dans la fenêtre d'acquisition de l'imageur ATTO320. De plus, l'espèce étant placée dans un milieu aqueux, elle doit être

non soluble dans l'eau. Aussi, pour réaliser des images et faciliter leur traitement, nous devons avoir la possibilité de fabriquer des échantillons avec des motifs simples. Enfin, la concentration doit être connue, ou l'épaisseur contrôlable, pour pouvoir comparer les résultats obtenus avec la théorie. Ainsi, la première espèce chimique ayant été choisie est la photorésine SU-8, qui remplit tous ces critères.



**FIGURE 2.26** – Indices de réfraction réel (en trait plein) et imaginaire (en pointillés) de la photorésine SU-8 mesurés par ellipsométrie.

La photorésine SU-8 est un matériau photosensible utilisé en lithographie, notamment en microfluidique et d'autres applications nécessitant la création de structures en trois dimensions à l'échelle micrométrique. Le spectromètre FTIR disponible au laboratoire a permis dans un premier temps de mesurer la réponse spectrale de la résine SU-8.

Les relations de Kramers Kronig permettent seulement d'obtenir les variations de l'indice réel  $n$ , mais pas de connaître sa valeur moyenne  $n_\infty$ , autrement dit sa hauteur par rapport à l'indice de l'eau. Un premier échantillon de résine déposée sur une plaque de silicium a été mesuré à l'ellipsomètre, ce qui a alors confirmé et complété les mesures déjà effectuées au spectromètre FTIR, donnant alors accès à la fois aux indices  $n$  et  $k$  de la photorésine SU-8. Les variations des parties réelle et imaginaire de l'indice de réfraction complexe obtenues sont présentées Fig.2.26. Sur celle-ci, on remarque que la photorésine SU-8 possède des pics d'absorption importants (et donc des sauts de phase correspondants) dans la gamme de longueurs d'onde couverte par le laser. L'indice réel obtenu par ellipsométrie se situe autour de  $n = 1.58$  pour le pic principal à  $1250 \text{ cm}^{-1}$ . Par la suite, nous verrons que les mesures FTIR permettent de connaître l'indice  $k$  avec une meilleure précision que l'ellipsomètre. C'est pourquoi nous appliquerons les relations de Kramers Kronig aux mesures faites au FTIR. Cependant, les relations de Kramers Kronig permettent uniquement de remonter aux variations d'indice à la résonance. La valeur de l'indice réel sera donc ajustée à celle mesurée à l'ellipsomètre.

### III.3.2 Fabrication des échantillons

Une fois l'espèce choisie, le dépôt de résine SU-8 a été réalisé. La fabrication des échantillons consiste à créer par photolithographie un motif simple de différentes épaisseurs de résine inférieures à l'épaisseur autorisée par les cuves microfluidiques, c'est-à-dire 50  $\mu\text{m}$ . L'objectif est, au mieux, d'atteindre des épaisseurs de l'ordre du micromètre afin d'avoir au moins un facteur 10 entre les épaisseurs de la couche d'eau et de résine. Puisque le motif doit se trouver à l'intérieur des cuves, le dépôt de SU-8 a été réalisé sur une des deux fenêtres de  $\text{CaF}_2$ . Habituellement, le procédé s'effectue sur des wafers de silicium. Un premier test de dépôt de résine directement sur une des lames de  $\text{CaF}_2$  ne s'est pas avéré concluant, car les deux matériaux n'adhéraient pas l'un à l'autre. Le  $\text{CaF}_2$  possède en effet une faible énergie de surface (0.47  $\text{J}/\text{m}^2$ ) [106], si bien que la plupart des polymères n'adhèrent pas à celui-ci. Nous avons donc eu l'idée de réaliser un pré-dépôt d'une fine couche de silice ( $\text{SiO}_2$ ), ce qui, après recherches, est une méthode qui a été réalisée dans une seule référence bibliographique [107]. La photolithographie sur substrat de  $\text{CaF}_2$  n'a été que très rarement expérimentée, et lorsque c'est le cas, notamment pour des applications de microfluidique dans l'IR, le procédé exact de fabrication n'est que très peu explicité [108]. D'autres difficultés ont été rencontrées lors des premiers procédés tests. La forme rectangulaire des fenêtres ainsi que leur épaisseur de 4 mm limitent l'étalement par spin coating à une vitesse de rotation de 3600 rpm pendant 20 secondes maximum. Passé cette limite, la fenêtre de  $\text{CaF}_2$  est éjectée de la tournette, se fragilise ou casse. Aussi, le  $\text{CaF}_2$ , en comparaison avec le silicium couramment utilisé comme substrat en lithographie, possède une conductivité thermique bien plus faible et un coefficient de dilatation thermique plus important, si bien qu'il résiste très difficilement aux chocs thermiques. Il faut donc nettoyer le substrat non pas sur une plaque chauffante (200°C), mais par plasma d'oxygène.

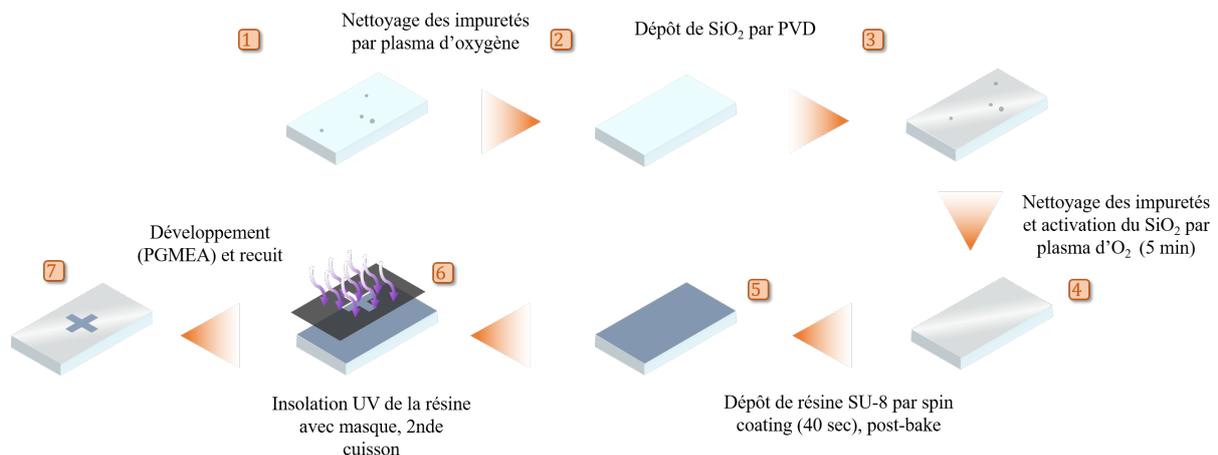


FIGURE 2.27 – Protocole de fabrication des échantillons de résine SU-8 sur les fenêtres de  $\text{CaF}_2$ .

Les étapes du procédé de fabrication de l'échantillon sont les suivantes :

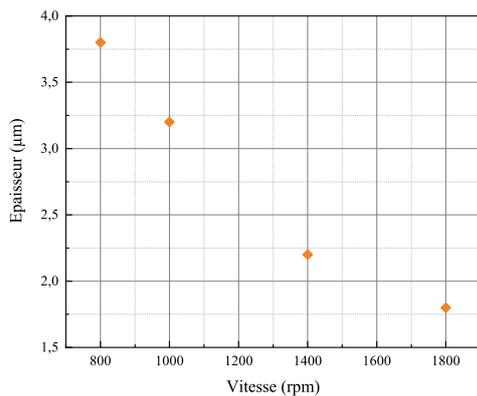
- Avant le dépôt de  $\text{SiO}_2$ , le substrat doit être soigneusement nettoyé pour éliminer toute contamination et garantir une adhérence optimale de la couche. Le nettoyage est réalisé par plasma d'oxygène. Dans le plasma, les molécules d'oxygène se dissocient en atomes et en ions d'oxygène hautement réactifs. Ces espèces réactives, telles que les ions oxy-

gène ( $O^+$ ) et les radicaux d'oxygène ( $O$ ), sont capables de réagir chimiquement avec les contaminants présents à la surface des matériaux. Le plasma d'oxygène généré réagit avec les contaminants organiques et inorganiques présents à la surface du matériau. Les réactions chimiques qui se produisent conduisent à la formation de produits gazeux volatils et de composés solides qui peuvent être facilement évacués de la chambre de plasma à l'aide d'une pompe à vide. Le plasma permet également d'activer chimiquement la surface du substrat avant le dépôt. Cela permet d'améliorer l'adhérence de la couche de  $SiO_2$  au substrat à l'étape suivante.

- Une fois le substrat nettoyé une première fois, le dépôt physique en phase vapeur (Physical Vapor Deposition, PVD) peut être réalisé. Dans une chambre sous vide, des cibles de  $SiO_2$  solide sont chauffées pour provoquer l'évaporation des atomes de  $SiO_2$ , créant ainsi un flux de vapeur de  $SiO_2$  se déposant sur le substrat refroidi. Lorsque les atomes de  $SiO_2$  entrent en contact avec le substrat, ils se condensent et forment une couche solide de  $SiO_2$  sur la surface. La vitesse d'évaporation du matériau de la cible et la durée du dépôt sont contrôlées pour obtenir l'épaisseur souhaitée de la couche de  $SiO_2$ . Dans notre cas, un dépôt d'une couche de 115 nm est réalisé. Une fois le dépôt terminé, le substrat est refroidi pour stabiliser la couche de  $SiO_2$ .
- Un second nettoyage par plasma  $O_2$  est réalisé pendant une durée de 5 minutes avant la suite du procédé.
- L'échantillon est ensuite placé sur une tournette pour l'étalement de la résine. La résine est déposée à l'aide d'une seringue sur le substrat, puis un pré-étalement est réalisé (vitesse de 500 rpm, accélération de 100 rpm/s, pendant 10 s) pour que la résine recouvre tout le substrat. Ensuite, le second étalement permet d'obtenir une épaisseur plus ou moins fine. Durant 40 s et avec une accélération de 100 rpm/s, les vitesses d'étalement pour nos quatre échantillons sont de 800, 1000, 1400 et 1800 rpm.
- Ensuite, la couche de résine est séchée sur une plaque chauffante 5 min à 65 °C, puis 15 min à 95 °C, avec des rampes de 15 min entre chaque température.
- Puis, le masque du motif désiré est placé sur l'échantillon et la résine photosensible est insolée par une lampe UV durant 45 s.
- Une seconde cuisson pour stabiliser et améliorer la définition des motifs créés lors de l'insolation UV est réalisée, avec les mêmes paramètres que la précédente.
- Vient ensuite l'étape de développement de la résine : l'échantillon est plongé dans un premier bain de PGMEA (propylène glycol monométhyl ether acetate), puis dans un second plus propre, avant d'être rincé à l'isopropanol.
- Enfin, on effectue un recuit de 2 heures à 135 °C.

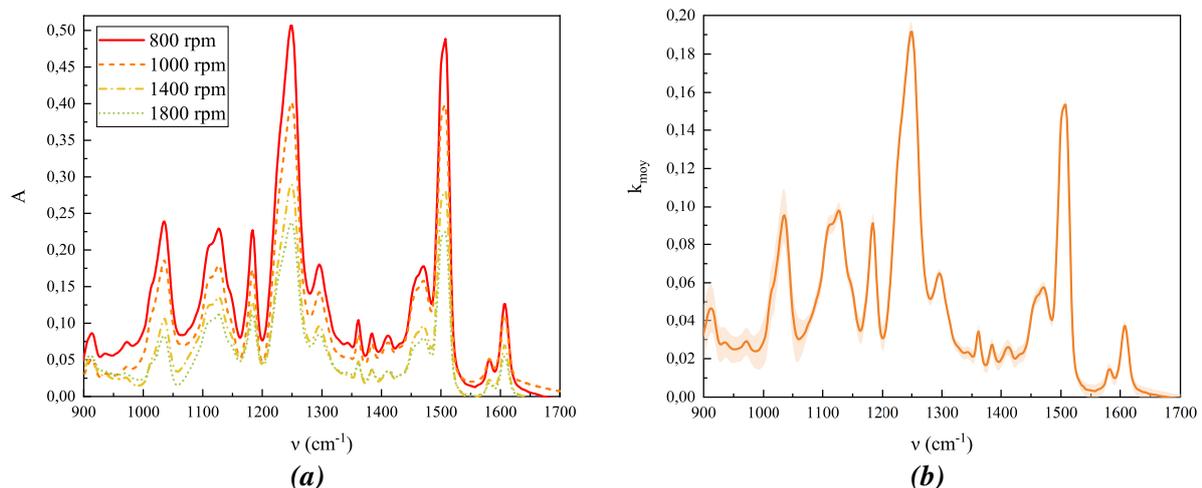
### III.3.3 *Caractérisation des échantillons obtenus*

Les quatre vitesses de rotation de la tournette ont permis d'obtenir des échantillons de quatre épaisseurs différentes. Celles-ci ont été mesurées au profilomètre Dektak. La Fig.2.28 représente l'évolution de l'épaisseur de la couche de résine en fonction de la vitesse de la tournette lors de l'étape d'étalement. Les spectres d'absorbance des quatre échantillons ont ensuite été mesurés au spectromètre FTIR (Bruker Invenio R) (voir Fig.2.29.a). Puis, connaissant les épaisseurs de chacun des échantillons, l'indice  $k$  a pu être calculé.



**FIGURE 2.28** – Evolution de l'épaisseur de résine en fonction de la vitesse de rotation de la tournette lors de l'étape d'étalement.

De légères différences entre les spectres d'absorbance impliquent que les indices  $k$  trouvés ne sont pas parfaitement identiques. Ceci peut être dû à des défauts (poussières, défauts de surface, ajustement de la zone de mesure). C'est donc la moyenne de ces quatre spectres d'indice qui sera comparée au spectre de l'ellipsomètre sur la Fig.2.30. Comme expliqué précédemment, les mesures à l'ellipsomètre permettent de connaître la valeur moyenne de l'indice de réfraction  $n$ , en plus de ses variations.



**FIGURE 2.29** – (a) Spectres d'absorbance des quatre échantillons de résine mesurés au spectromètre FTIR. (b) Indice de réfraction imaginaire moyen calculé à partir des quatre échantillons de résine SU-8. L'écart type sur les quatre mesures est représenté par la bande plus claire autour de la valeur moyenne.

Pour obtenir l'indice de réfraction réel correspondant aux variations de l'indice d'absorption mesuré au FTIR, les relations de Kramers Kronig sont appliquées sur l'indice  $k_{moy}$  de la résine. Ceci permet seulement de récupérer les variations de l'indice  $n$ , mais pas sa valeur globale. L'amplitude de l'indice  $n_{FTIR}$  retrouvé après application des relations de Kramers Kronig est alors ajustée au niveau de celle mesurée par ellipsométrie. Ainsi, la Fig.2.30 permet de comparer les deux méthodes de mesure. On remarque que les variations sont plus précises au FTIR, car le pas utilisé est de  $4 \text{ cm}^{-1}$  contre  $8 \text{ cm}^{-1}$  pour l'ellipsomètre. Aussi, certains pics, notamment celui à  $1120 \text{ cm}^{-1}$ , ont une hauteur différente entre les deux méthodes de mesure. Ceci peut s'expliquer par le fait que la mesure ellipsométrique a été réalisée sur un échantillon différent de ceux mesurés au FTIR, et donc par des inhomogénéités de la résine entre les zones analysées par l'une et l'autre méthode.

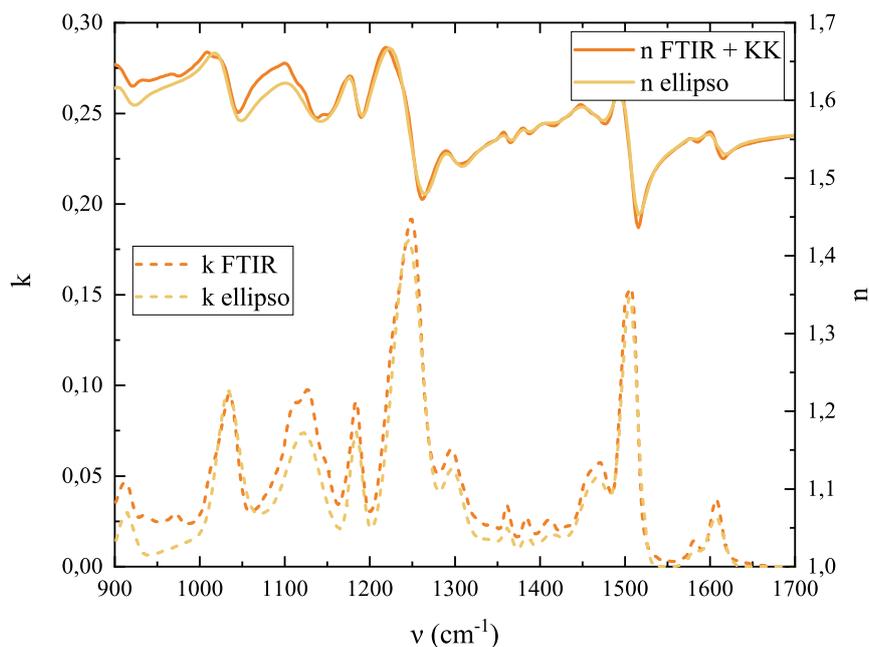


FIGURE 2.30 – Superposition des indices de réfraction  $n$  et  $k$  mesurés par ellipsométrie et au FTIR.

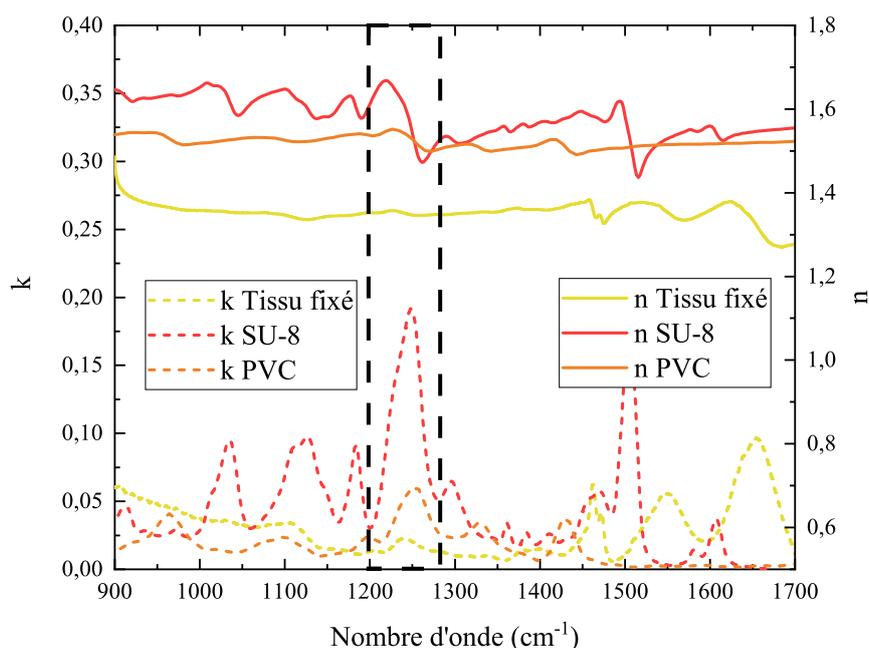


FIGURE 2.31 – Parties réelle  $n$  et imaginaire  $k$  des indices de réfraction du PVC [39], d'un tissu de biopsie fixé en paraffine, et de la résine SU-8 dans l'IR. Zone d'étude encadrée en pointillés noirs.

La précision spectrale des mesures FTIR étant plus importante, le choix a été fait de les garder par la suite comme valeurs comparatives avec les résultats expérimentaux.

Les mesures expérimentales sur la résine SU-8 seront effectuées sur son pic le plus important, situé à une longueur d'onde centrale de  $1250 \text{ cm}^{-1}$ . En effet, celui-ci présente plusieurs avantages. Il est situé dans la zone spectrale couverte par l'ATTO320 mais également par le QCL 3 qui présente la puissance la plus importante. Ainsi, la couche d'eau pourra être traversée et imagée. Aussi, ce pic est situé dans la même zone spectrale que le pic de l'ADN dans le

cas du tissu, et celui de la déformation angulaire (ou rocking) de la liaison C-H du PVC [109], respectivement situés à  $1240\text{ cm}^{-1}$  et  $1253\text{ cm}^{-1}$ . Ce pic de la photorésine SU-8 correspond à la vibration de d'élongation (ou stretching) asymétrique de la liaison C-O-C dans le cycle époxy de la molécule [110]. Ce pic de la résine est alors un bon candidat pour de premières mesures et acquisitions d'images, et permettra d'avoir un aperçu de la faisabilité d'éventuelles mesures futures sur des MP ou même des tissus.

## IV Conclusion du chapitre

Le montage interférométrique construit durant cette thèse est un MZI, sur lequel est intégré un système de lentilles permettant de réaliser de l'imagerie de phase. La source IR utilisée est un laser QCL MIRcat, dont deux des caractéristiques (diamètre et décalage possible du faisceau sur l'image) ont mené à l'ajout d'un expanseur de faisceau sur le banc construit. Le MZI nécessite d'être aligné précisément de façon à obtenir des franges d'interférences de type teintes plates. Les images sont obtenues directement sur une matrice de micro-bolomètres ATTO320, permettant une résolution spatiale de  $12\text{ }\mu\text{m}$  et dont la dynamique est optimisable grâce à l'ajustement de certains paramètres d'entrée du circuit électrique constituant les pixels. Grâce à la source QCL à haute brillance et à l'imageur IR, des échantillons contenant de l'eau peuvent être placés sur les bras du MZI dans des cuves microfluidiques. Le choix de l'espèce d'intérêt à introduire dans l'eau s'est porté sur de la photo-résine SU-8. La fabrication des échantillons a également nécessité la mise en place de protocoles spécifiques. Afin de modéliser mathématiquement ces nouveaux échantillons, un modèle analytique a été élaboré. Il s'agit du modèle *couches*, où chacune des espèces présentes dans l'échantillon est modélisée par une couche d'une épaisseur proportionnelle à la fraction qu'elle représente dans la totalité de l'échantillon. Le chapitre suivant expose alors les différents protocoles de mesure et résultats expérimentaux obtenus grâce à notre MZI sur ces espèces d'intérêt en milieu aqueux, et les compare à la théorie suivant le modèle analytique développé.



# Résultats expérimentaux

# 3

---

## *Contenu du chapitre*

---

<b>I</b>	<b>Introduction</b>	<b>86</b>
<b>II</b>	<b>Mesures d'absorption directe</b>	<b>86</b>
II.1	Protocole expérimental	86
II.2	Traitement des images	88
II.3	Résultats et discussion	90
<b>III</b>	<b>Mesures interférométriques</b>	<b>91</b>
III.1	Méthode 1 : Interférométrie à décalage de phase à 4 images	91
III.1.1	Rappel du principe de mesure	91
III.1.2	Adaptation de la méthode de mesure aux difficultés expérimentales	92
III.1.3	Protocole expérimental	93
III.1.4	Traitement des images	95
III.1.5	Résultats et discussion	97
III.2	Méthode 2 : imagerie de phase améliorée	100
III.2.1	Correction du front d'onde du faisceau	100
III.2.2	Protocole expérimental	101
III.2.3	Traitement des images	102
III.2.4	Résultats et discussion	103
<b>IV</b>	<b>Conclusion du chapitre</b>	<b>106</b>

---

## I Introduction

Dans ce troisième chapitre seront exposés les résultats expérimentaux obtenus au cours de cette thèse sur les différents échantillons. Premièrement, le banc de mesure a été utilisé en configuration absorption, puis, deux méthodes de mesures interférométriques ont été réalisées. Pour chacun de ces trois cas, le protocole expérimental est détaillé, ainsi que les programmes Python d'acquisition, et le traitement des images pour l'obtention des courbes d'absorbance et de phase. Ces résultats sont ensuite analysés.

## II Mesures d'absorption directe

Les premières mesures réalisées sur le banc interférométrique construit sont des mesures d'absorption directe. Celles-ci permettent de s'assurer que l'absorbance d'une espèce chimique placée dans les cuves de 50  $\mu\text{m}$  d'eau peut être mesurée sans difficulté particulière sur les bras du MZI, et de comparer les performances de la technique d'absorption par rapport à l'interférométrie.

### II.1 Protocole expérimental

Pour l'absorbance directe, un seul bras du MZI est utilisé. Le faisceau sur le second bras est coupé par un shutter. La préparation de l'échantillon se fait selon les étapes suivantes :

- nettoyage des fenêtres de  $\text{CaF}_2$  à l'éthanol, à l'aide d'un chiffon optique, puis à la soufflette,
- nettoyage des tubes microfluidiques à la soufflette, pour éviter les poussières à l'intérieur de ceux-ci, assurer une bonne circulation de l'eau et ainsi éviter les bulles d'air,
- placement de la première fenêtre dans la cuve, la face avec la résine orientée vers ce qui constituera l'intérieur de la cuve une fois tous les éléments en place,
- placement du spacer en PTFE de 50  $\mu\text{m}$  sur la première fenêtre,
- placement de la seconde fenêtre en  $\text{CaF}_2$  sur le spacer,
- fermeture de la cuve grâce aux vis prévues à cet effet sur la face avant,
- raccordement des tubes microfluidiques à la cuve,
- raccordement de la seringue remplie d'eau à l'un des tubes microfluidique,
- injection de l'eau dans la cuve jusqu'à ce que l'eau sorte par le second tube, ne pas hésiter à appuyer plus fortement sur le piston de la seringue afin de chasser les éventuelles bulles d'air présentes dans la cuve,
- bouchage de l'extrémité du second tube.

Une fois l'échantillon prêt, il est inséré sur le bras de mesure du MZI. Pour placer l'échantillon de façon à imager la croix de résine SU-8, le laser est allumé et accordé au nombre d'onde central du pic d'absorption à mesurer, ici  $1250\text{ cm}^{-1}$  à une puissance permettant de traverser l'eau, sans saturer le détecteur. Grâce à l'image obtenue sur le logiciel FullScale de l'ATTO320, un réglage suivant les axes  $x$  et  $y$  du montage permet de placer la croix de résine au centre de l'image, apparaissant sombre à cette longueur d'onde par rapport au faisceau. Le dernier réglage à effectuer consiste à ajuster l'emplacement de la résine à la focale de la lentille  $L_1$ , afin

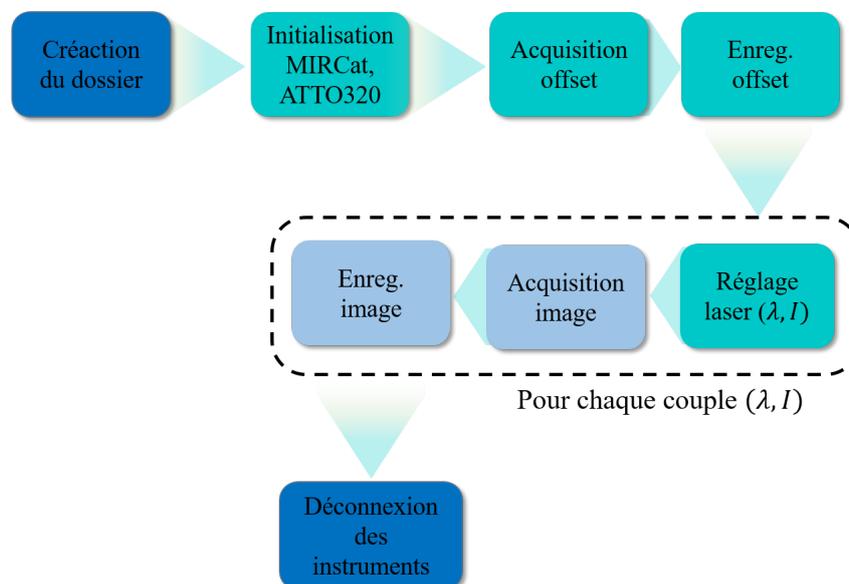
d'obtenir une image nette de la croix de résine sur le détecteur.

L'échantillon étant placé, le programme Python servant à la mesure en absorption peut être lancé. A la fin de cette mesure, lorsque les images ont été acquises à toutes les longueurs d'onde, l'échantillon peut être décalé sur une zone sans résine, dans l'eau seule, et le programme Python est lancé une seconde fois.

Ce programme Python réalise les mesures de la façon suivante :

- création du fichier d'enregistrement des images,
- initialisation et armement du laser,
- initialisation du détecteur ATTO320,
- pour chaque longueur d'onde :
  - . acquisition et enregistrement d'une image d'offset (laser éteint) dans le dossier créé,
  - . réglage du laser à la longueur d'onde et au courant associés,
  - . acquisition et enregistrement successifs de 50 images dans le dossier créé,
- déconnexion du laser et du détecteur.

Le schéma Fig.3.1 résume la succession des étapes de ce programme Python.



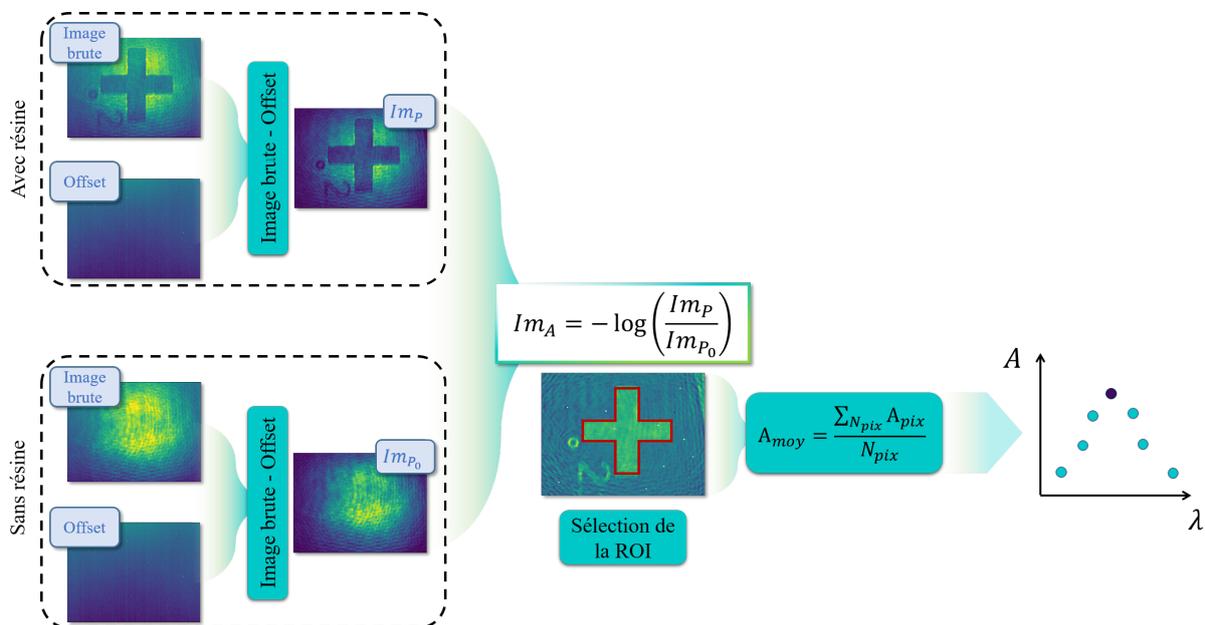
**FIGURE 3.1** – Schématisation des étapes du programme Python utilisé pour les mesures d'absorbance.

Pour tester la reproductibilité des mesures, trois grandes séries de mesures sont réalisées, à partir de l'étape d'initialisation des instruments. Durant ces trois séries de mesures, 50 images sont acquises successivement, pour rendre compte des dérives de puissance dans le temps.

Lorsque ces mesures avec et sans résine ont été effectuées, les images peuvent être traitées afin de récupérer les courbes d'absorbance de la résine.

## II.2 Traitement des images

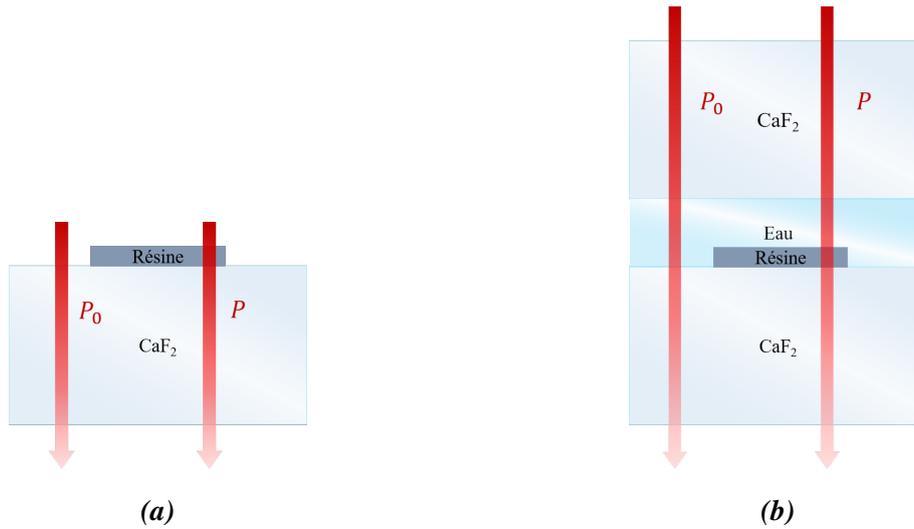
La première étape du traitement d'images consiste à retirer l'offset à chaque image avec et sans la croix de résine, ce qui est l'équivalent de la NUC un point (voir Chap.2, Sec.II.3.2). L'image avec résine ( $Im_P$ ) et l'image de référence ( $Im_{P_0}$ ) obtenues permettent de calculer l'image d'absorbance résultante  $Im_A$ . La formule  $A = -\log\left(\frac{P}{P_0}\right)$  est en fait appliquée à chaque pixel. Pour tracer une courbe d'absorbance à comparer avec l'absorbance connue de la résine mesurée au FTIR, nous avons choisi de calculer la valeur moyenne de l'absorbance sur toute la zone où se trouve la résine. Pour cela, une région d'intérêt (Region Of Interest, ROI) est sélectionnée manuellement sur l'image  $Im_A$ . Toutes ces étapes sont réalisées pour chaque longueur d'onde, ce qui permet de tracer la courbe d'absorbance de la zone où se trouve la résine. La Fig.3.2 résume schématiquement ce traitement d'images.



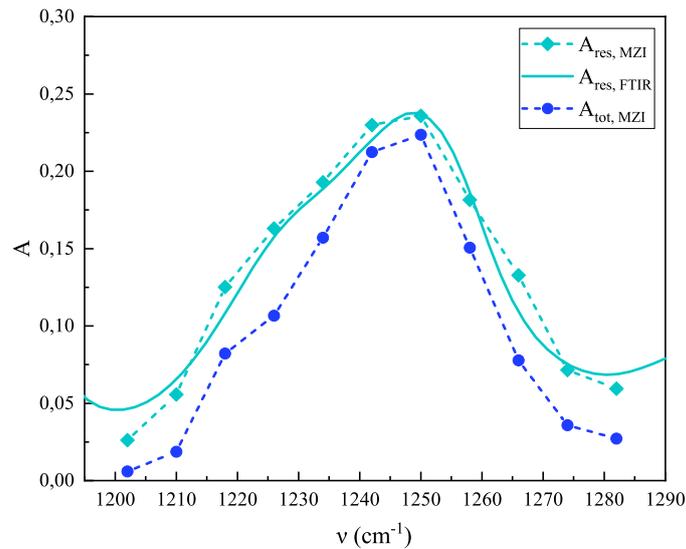
**FIGURE 3.2** – Schématisation du traitement d'images utilisé pour l'obtention des courbes d'absorbance. La ROI est indiquée en rouge sur la croix de résine.

Pour comparer les courbes d'absorbance de la résine mesurées sur un bras du MZI aux courbes obtenues au FTIR sans eau, un calcul est nécessaire du fait du modèle *couches*. En effet, lors de la mesure au FTIR, la référence est simplement prise sur le substrat où se trouve la résine, en l'occurrence, la fenêtre de  $\text{CaF}_2$ . Dans le cas des mesures d'absorbance sur le MZI, la couche de résine est à l'intérieur de la cuve, et la référence est en fait le solvant dans lequel elle se trouve, l'eau (voir Fig.3.3).

Pour le calcul de l'absorbance  $A_{res}$  de la couche de résine dans l'eau placée sur le bras de mesure du MZI, il faut prendre en compte le modèle *couches*. En effet, contrairement à une mesure au FTIR sans eau, la mesure d'absorbance sur le MZI implique que l'épaisseur de résine  $d_{res}$  remplace la même épaisseur d'eau dans les 50  $\mu\text{m}$  totaux.



**FIGURE 3.3** – Représentations en coupe des échantillons traversés par le faisceau laser lors de la mesure de référence (en dehors de la résine,  $P_0$ ) et de la mesure avec résine ( $P$ ) dans le cas de l'absorbance. (a) Cas du FTIR. (b) Cas du MZI.



**FIGURE 3.4** – Comparaison des absorbances  $A_{tot,MZI}$ ,  $A_{res,MZI}$  et  $A_{res,FTIR}$  sur l'échantillon de  $1.8 \mu\text{m}$ .

Ainsi, l'absorbance totale mesurée par le MZI est telle que :

$$A_{tot,MZI} = -\log\left(\frac{P}{P_0}\right) = \frac{4\pi(k_{res} - k_e)}{\lambda \ln(10)} d_{res} \quad (3.1)$$

C'est en fait l'écart de coefficient d'extinction  $k$  entre l'eau et la résine qui contribue à l'absorbance calculée. Avec le FTIR, l'absorbance mesurée est celle de la couche de résine seule :

$$A_{res,FTIR} = -\log\left(\frac{P}{P_0}\right) = \frac{4\pi k_{res}}{\lambda \ln(10)} d_{res} \quad (3.2)$$

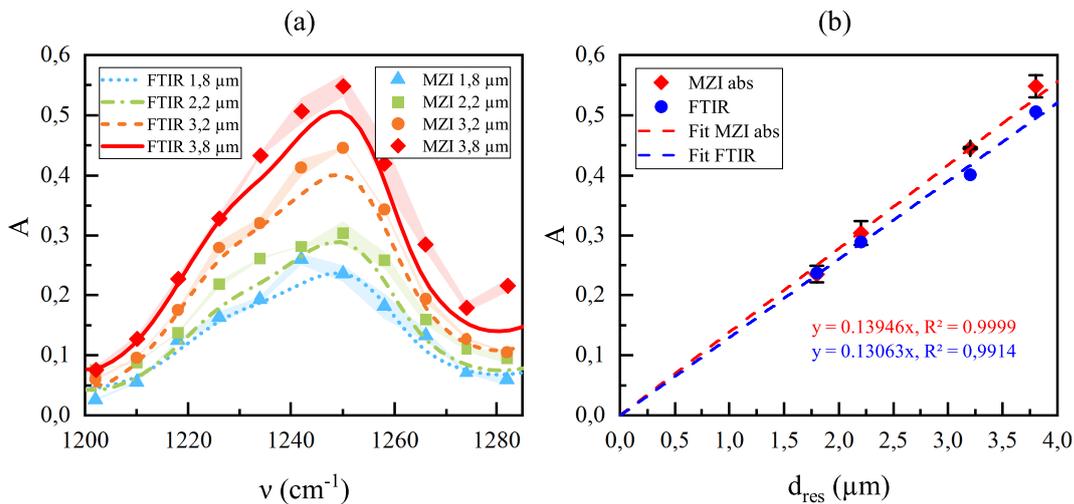
Pour comparer les mesures effectuées sur le MZI avec celles du FTIR, l'indice  $k_e$  de l'eau étant connu, l'absorbance de la couche de résine seule mesurée au MZI est calculée telle que :

$$A_{res,MZI} = A_{tot,MZI} + \frac{4\pi k_e}{\lambda \ln(10)} d_{res} \quad (3.3)$$

La Fig.3.4 montre le graphe de l'absorbance  $A_{tot,MZI}$  (en bleu foncé) en comparaison de l'absorbance  $A_{res,MZI}$  (en bleu clair) calculée en retirant la contribution de l'indice de l'eau (voir Eq.3.3) sur l'épaisseur de résine. L'écart entre les deux courbes correspond à l'absorbance de l'eau sur une épaisseur égale à la couche de résine.

### II.3 Résultats et discussion

Les résultats obtenus en absorption directe sur un bras du MZI sont présentés sur la Fig.3.5.a. Les mesures ont été effectuées sur chacun des quatre échantillons (1.8  $\mu\text{m}$ , 2.2  $\mu\text{m}$ , 3.2  $\mu\text{m}$  et 3.8  $\mu\text{m}$  d'épaisseur de résine SU-8 dans 50  $\mu\text{m}$  d'eau déminéralisée).



**FIGURE 3.5** – (a) Absorbance en fonction du nombre d'onde mesurée avec un bras du MZI pour les quatre échantillons de résine SU-8, comparée aux mesures FTIR. (b) Absorbance en fonction de l'épaisseur au centre du pic ( $\nu = 1250 \text{ cm}^{-1}$ ) dans le cas du FTIR et du MZI. La largeur des zones colorées correspond à l'incertitude issue de la reproductibilité des mesures.

Les absorbances obtenues au FTIR et sur le MZI avec les couches de résine de la plus épaisse à la moins épaisse sont respectivement représentées en rouge, orange, vert et bleu. Les mesures sur le MZI sont bien spécifiques à l'espèce mesurée, tout comme sur le spectromètre FTIR, car la longueur d'onde centrale du pic d'absorption à  $1250 \text{ cm}^{-1}$  est bien respectée. L'incertitude présente sur les courbes MZI est la déviation standard sur  $50 \times 3$  mesures par longueur d'onde. En effet, au début de chacune des 3 séries principales, le laser est allumé puis réglé à la première longueur d'onde, à la deuxième, et ainsi de suite jusqu'à la dernière longueur d'onde. A chaque longueur d'onde, 50 images sont acquises successivement, sans éteindre le laser. A la fin de chacune de ces séries, le laser est éteint. L'incertitude traduit donc la reproductibilité de la mesure mais prend également en compte les fluctuations temporelles de la puissance laser.

Le point central sur chacune des courbes présentées est la moyenne des valeurs d'absorbance sur ce total de 150 mesures. Sur la Fig.3.5.b, les valeurs d'absorbance au centre du pic ont été relevées pour chaque échantillon afin de vérifier la linéarité de l'absorbance avec l'épaisseur de la couche de résine traversée. Pour les deux méthodes de mesure, le fit donne une pente d'environ 0.1, ce qui signifie que l'absorbance augmente d'une valeur de 0.1 par micromètre de résine. Cette information permet de remonter à l'indice  $k_{res}$  de la résine SU-8 grâce à l'Eq.3.2.

	pente	$k_{res}$
MZI	0.139	0.204
FTIR	0.131	0.192

**TABLE 3.1** – Indice  $k_{res}$  calculé à partir de la linéarité de l'absorbance pour les mesures FTIR et MZI.

Les valeurs obtenues sont très proches entre les mesures FTIR et celles obtenues au MZI, avec une différence de 6 % entre les deux indices calculés. Le coefficient de régression  $R^2$  est supérieur à 0.99 pour chacune des méthodes, ce qui montre une bonne linéarité de l'absorbance en fonction de l'épaisseur. Dans les deux cas, la valeur mesurée est de l'ordre de 0.2, qui est la valeur de  $k$  ayant été obtenue à l'ellipsomètre à cette longueur d'onde.

Les mesures d'absorbance réalisées permettent de s'assurer que le laser délivre la bonne longueur d'onde, et que les distorsions spectrales (intensité vs sensibilité) côté source et détecteurs n'influencent pas la mesure. La contribution de l'absorption des échantillons et donc la signature spectrale de la résine sera bien retranscrite dans les mesures interférométriques.

### III Mesures interférométriques

Au cours de cette thèse, deux méthodes de mesure ont été réalisées. La première méthode utilisée durant cette thèse est l'interférométrie à décalage de phase, que l'on appellera méthode PSI, décrite au Chap.1. Cependant, les données récoltées étant des images, celles-ci présentent des artefacts optiques tels que des anneaux de diffraction parasites ou encore une phase non homogène due à la forme du faisceau gaussien. Ces difficultés rencontrées lors des premières mesures ont conduit à la réalisation d'une seconde méthode de mesure de phase, cette fois-ci avec l'acquisition d'images de référence dans l'eau seule, afin d'améliorer le traitement d'images et donc les courbes expérimentales obtenues.

#### III.1 Méthode 1 : Interférométrie à décalage de phase à 4 images

##### III.1.1 Rappel du principe de mesure

Le principe de l'interférométrie à décalage de phase est décrit au Chap.1, Sec.III.1.1. La Fig.3.6 est un résumé de cette méthode adaptée à notre situation. Cette méthode de mesure PSI consiste, dans notre cas, à bouger le miroir  $M_2$  en diagonale à quatre positions successives grâce au contrôleur piezo-électrique, afin d'introduire une différence de marche et donc un déphasage supplémentaire entre les deux bras du MZI. Les quatre images présentent donc des valeurs de niveau de gris différentes en fonction de la zone observée. Dans l'eau, et dans le cas où le déphasage initial  $\Delta l_i$  est nul, l'image à  $\alpha = 0$  présente des niveaux de gris correspondants à

une frange claire, tandis que l'image à  $\alpha = \pi$  présente des niveaux de gris correspondants à une frange sombre. Pour les deux autres déphasages à  $\alpha = \pi/2$  et  $\alpha = 3\pi/2$ , les niveaux de gris doivent avoir une valeur intermédiaire entre la frange sombre et claire. Dans une zone de résine, il y a déjà un déphasage dû à la présence de celle-ci. Par exemple, en frange sombre à  $\alpha = 0$ , la croix de résine apparaîtra plus ou moins claire en fonction de son épaisseur et de la longueur d'onde. Au contraire, dans le cas d'une frange claire dans l'eau, la résine apparaîtra plus sombre. A chaque longueur d'onde étudiée, une image de phase peut être calculée telle que :

$$\Phi = \arctan\left(\frac{P_{3\pi/2} - P_{\pi/2}}{P_0 - P_\pi}\right) \quad (3.4)$$

où  $P_\alpha$  est la puissance (ou le niveau de gris) de chaque pixel dans l'image correspondante au déphasage introduit  $\alpha$ .

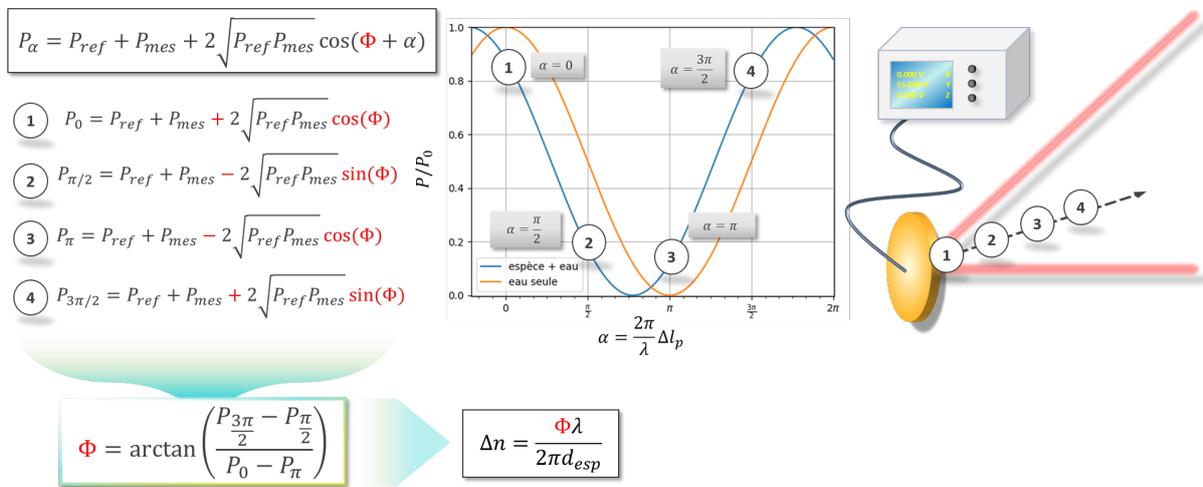
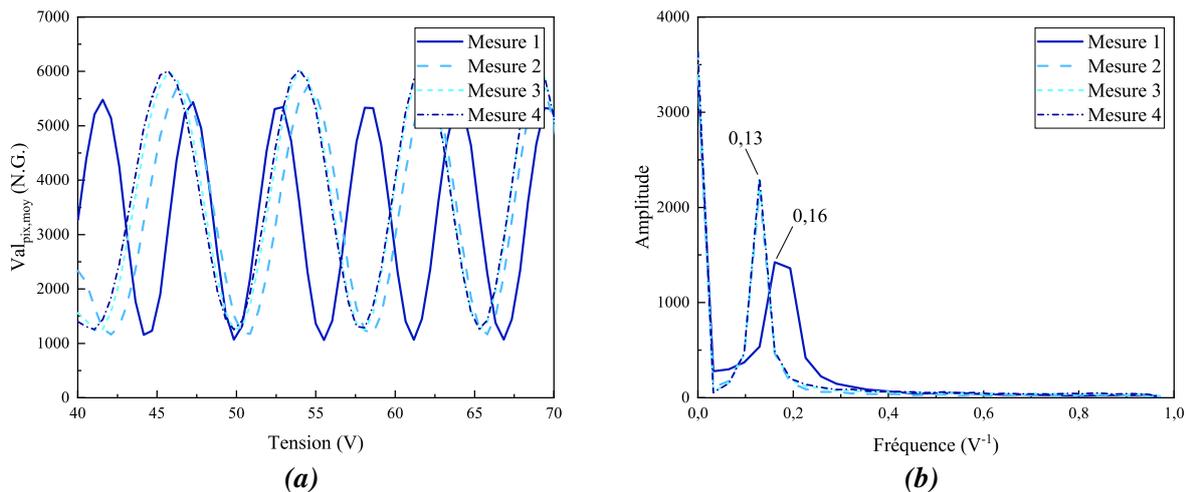


FIGURE 3.6 – Principe de la méthode de mesure interférométrique à décalage de phase à 4 images.

### III.1.2 Adaptation de la méthode de mesure aux difficultés expérimentales

Sur le principe de la méthode PSI décrite ci-dessus, quatre images suffisent pour déterminer le déphasage absolu à chaque longueur d'onde. Quatre tensions devraient donc être envoyées au contrôleur piezo-électrique, correspondantes aux quatre déphasages  $\alpha$  introduits entre les deux bras par le déplacement du miroir  $M_2$ . Cependant, la caractérisation du contrôleur piezo-électrique a révélé que les oscillations de la teinte plate en fonction de la tension appliquée ne présentent pas toujours la même période, et qu'une dérive du déphasage initial  $\Delta l_i$  est possible. C'est ce que la Fig.3.7 illustre. La Fig.3.7.a a été obtenue de la façon suivante. A une seule longueur d'onde (ici  $1250\text{ cm}^{-1}$ ), et sans échantillon sur aucun des deux bras, la tension appliquée sur le contrôleur piezo-électrique varie de 40 V à 70 V, avec un pas de 0.5 V, ce qui correspond à une course d'environ  $30\ \mu\text{m}$ . A chaque tension (et donc chaque déphasage correspondant), une image de la teinte plate est acquise sur la matrice ATTO320. Les oscillations sont obtenues en réalisant la moyenne des niveaux de gris dans la ROI du faisceau gaussien. A chaque tension correspond donc une valeur  $Val_{pix,moy}$  des niveaux de gris, ce qui permet de visualiser les oscillations de la teinte plate en fonction de la tension appliquée. Quatre balayages successifs ont été effectués. On distingue sans difficulté que la première mesure a une période

d'oscillation plus faible que les suivantes, ce qui est confirmé par la Fig.3.7.b. En effet, la TF indique que la première mesure a une fréquence d'oscillation de 0.16 périodes par volt, puis qu'à partir de la seconde mesure, la fréquence d'oscillation se stabilise autour de 0.13 périodes par volt. Sur la Fig.3.7.a, on remarque cependant une faible différence de périodicité notamment entre la seconde mesure et les deux dernières. Cela montre que le déplacement réel du piezo en fonction de la tension appliquée varie d'une acquisition à l'autre. Aussi, les oscillations sont décalées les unes par rapport aux autres. En effet, la première commence au niveau d'une frange intermédiaire sur une pente positive, la seconde est sur une pente négative de la sinusoïde entre une frange intermédiaire et une frange sombre, et les deux dernières commencent au niveau d'une frange sombre. Ceci traduit qu'un déphasage est introduit entre chaque mesure, et que la position absolue du miroir n'est donc pas reproductible. Chaque mesure prend donc en compte un déphasage initial  $\Phi_{init}$ , introduit à la fois par le contrôleur piezo-électrique, mais également par une éventuelle différence d'épaisseur entre les couches d'eau des deux cuves microfluidiques (incertitude due au serrage, mais aussi par une incertitude pouvant exister sur l'épaisseur du spacer en PTFE, non renseignée par le constructeur cependant). Dans une mesure idéale, le réglage d'un déphasage initial nul exigerait en interférométrie des stabilités mécaniques de l'ordre du micromètre, ce qui n'est jamais atteint. Le déphasage initial n'est donc pas corrigé et est toujours présent dans les mesures.

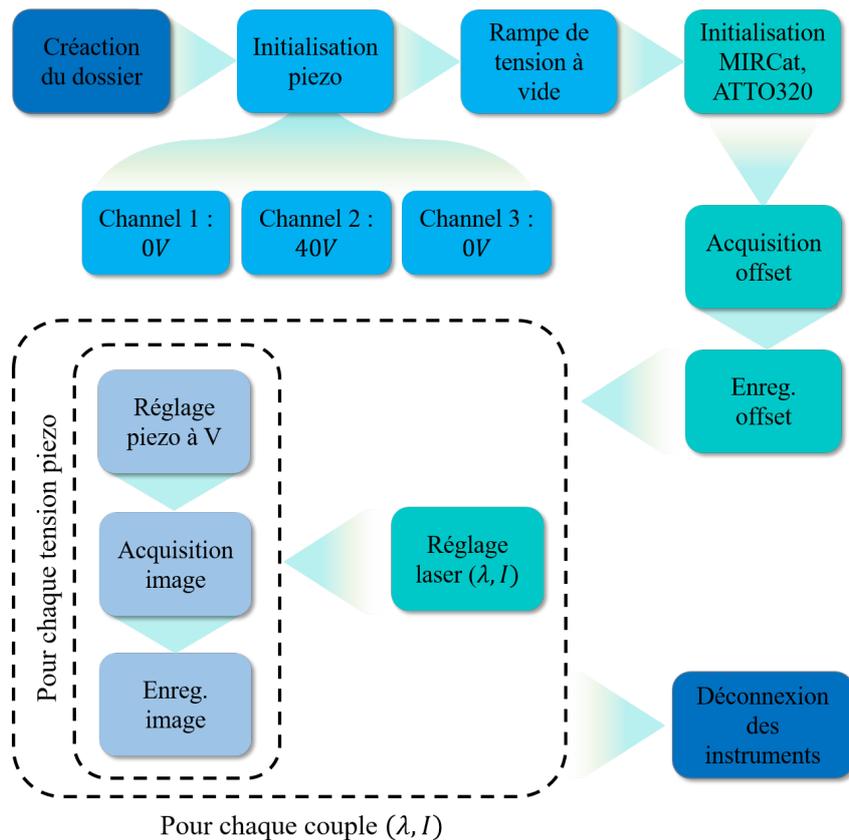


**FIGURE 3.7** – (a) Oscillations de la valeur moyenne de la teinte plate en fonction de la tension du contrôleur piezo-électrique à  $1250 \text{ cm}^{-1}$ . (b) TF des 4 mesures.

Par mesure de précaution par rapport à la périodicité légèrement variable des oscillations de teinte plate par rapport à la tension du contrôleur piezo-électrique, on préférera acquérir un nombre plus important d'images pour tracer une sinusoïde et sélectionner nous-même les images correspondantes aux quatre déphasages (voir détails du traitement d'images III.1.4).

### III.1.3 Protocole expérimental

En interférométrie, les deux bras du MZI sont utilisés : un pour l'échantillon de mesure contenant l'eau et l'espèce à analyser, l'autre pour l'échantillon de référence avec l'eau seule. Le protocole de préparation de l'échantillon et son ajustement sur le bras de mesure est similaire à celui détaillé en Sec.II.1. Une fois les échantillons placés sur le banc interférométrique, le programme Python commandant le laser, le contrôleur piezo-électrique et l'imageur ATTO320 est



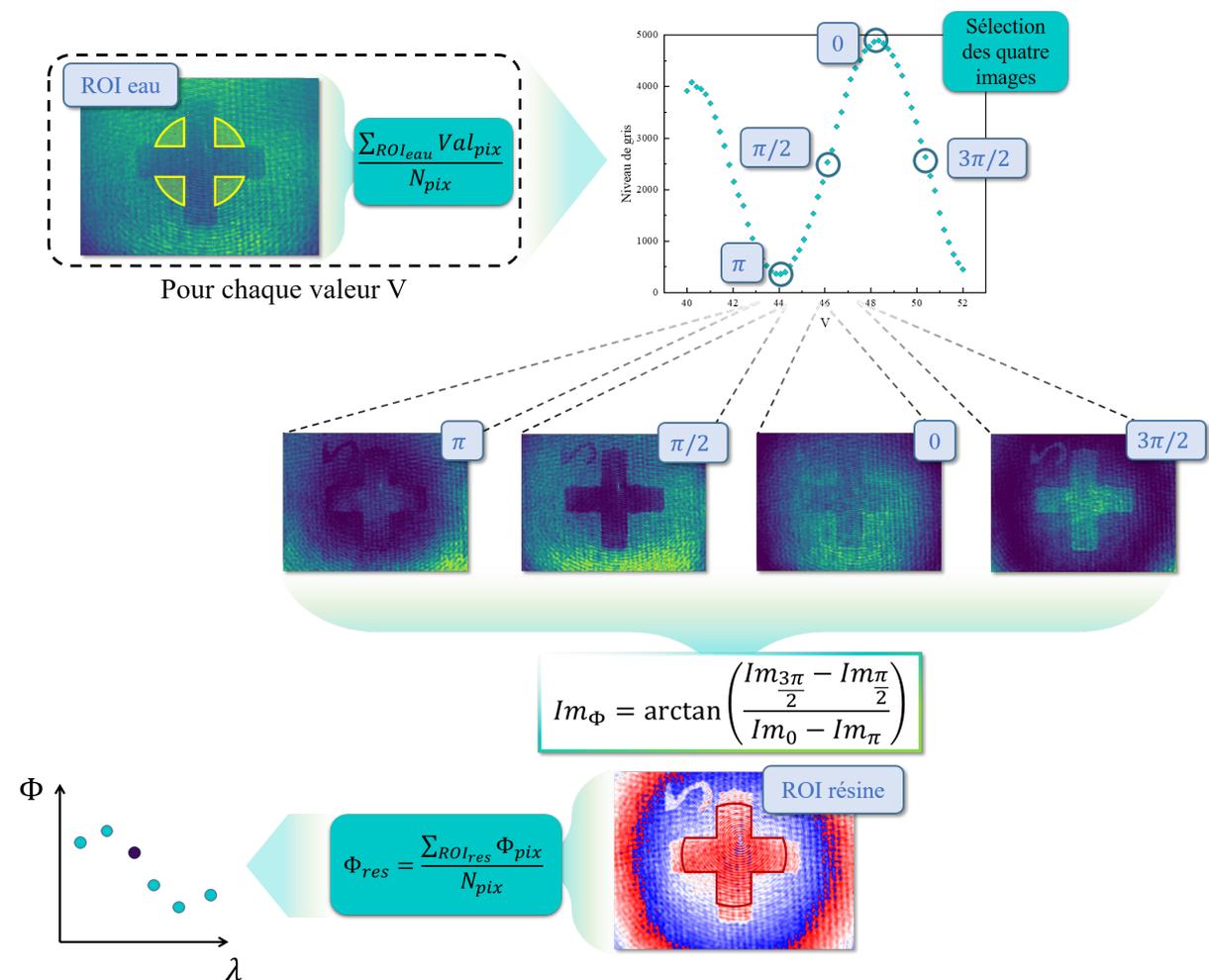
**FIGURE 3.8** – Schématisation des étapes du programme Python utilisé pour les mesures PSI.

lancé. Le programme réalise les mesures tel qu’indiqué sur le schéma Fig.3.8. Les axes 1 et 3 correspondent aux réglages du contrôleur piezo-électrique les translations dans le plan parallèle à la surface du miroir  $M_2$ , et sont fixés à 0. L’axe 2, quant à lui, correspond à la translation selon la normale à la surface du miroir, permettant d’introduire un déphasage entre les deux voies du MZI. L’axe 2 est volontairement réglé initialement à une valeur de 40 V, permettant ainsi d’effectuer une course à la fois en avant et en arrière, sur une distance égale d’environ  $70 \mu\text{m}$ . Au début du programme, une image d’offset est acquise, laser éteint, comme lors de la méthode d’absorption. Cet offset (rayonnement de l’environnement et échauffement interne du détecteur) est soustrait à chacune des quatre images lors du traitement d’images.

La différence avec les mesures en absorbance réside dans le fait qu’à chaque longueur d’onde, le contrôleur piezo-électrique effectue un scan sur 60 valeurs de tension avec un pas de 0.2 V (environ  $0.2 \mu\text{m}$ ). Ainsi, à chaque longueur d’onde, 60 images à 60 déphasages différents sont acquises. Le miroir parcourt donc  $12 \mu\text{m}$  en diagonale entre la première et la dernière image, ce qui correspond approximativement à une différence de marche de  $12 \times \sqrt{2} = 17 \mu\text{m}$  entre les deux voies du MZI. Les valeurs moyennes des pixels sur la ROI de la surface sur faisceau laser permettront de former, pour chaque longueur d’onde, une sinusoïde en fonction de la tension (ou du déphasage). Le balayage permet de disposer sur la sinusoïde d’au moins une période dans laquelle seront ensuite sélectionnées les quatre images aux quatre déphasages espacés les uns des autres de  $\pi/2$ .

## III.1.4 Traitement des images

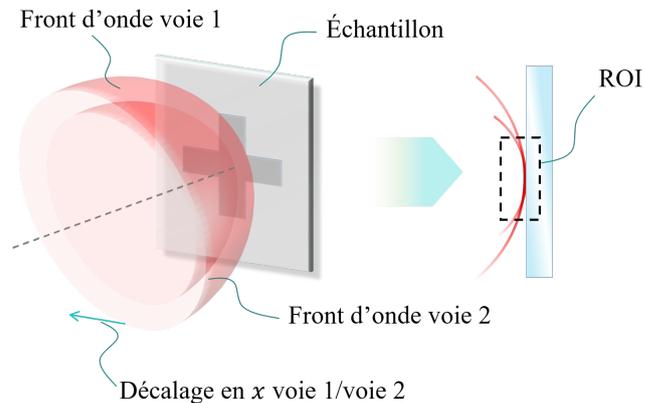
Une fois que toutes les images ont été acquises à toutes les longueurs d'onde d'intérêt du pic étudié, elles peuvent être traitées afin d'obtenir les courbes de déphasage, de différence de marche ou de différence d'indice. Pour cela, une première étape consiste à sélectionner les différentes ROI qui serviront au calcul de la phase : la croix de résine et une zone d'eau contenue dans un cercle autour de celle-ci. Les images présentent un profil bombé, dû à la différence entre deux fronts d'onde divergents qui sont pris à des distances différentes du focus (voir Chap.2, Sec.II.2.2). Le déphasage introduit par le piezo induit également un décalage des voies l'une par rapport à l'autre en  $x$ . Les ROI sont donc sélectionnées au centre de l'image, où les fronts d'onde des deux voies induisent le déphasage moyen le plus faible. La Fig.3.10 illustre ceci.



**FIGURE 3.9** – Schématisation du traitement d'images utilisé pour l'obtention des courbes de phase. Les ROI dans l'eau et dans la résine sont respectivement représentées en jaune et en rouge sur la première et dernière image.

La ROI dans l'eau seule est utilisée pour tracer la sinusoïde dans laquelle seront sélectionnées les quatre images, au maximum, minimum, et valeurs intermédiaires. Comme expliqué précédemment, pour tracer la sinusoïde où seront sélectionnées les quatre images, la moyenne des valeurs de niveau de gris dans la ROI de l'eau est calculée pour chaque image correspondante à une valeur de tension. On obtient ainsi une courbe de niveau de gris en fonction de la tension

(donc en fonction du déphasage introduit par la translation du miroir  $M_2$ ). Le programme Python permet de sélectionner les points de la courbe les plus proches d'un déphasage en frange sombre, claire, et intermédiaire. Les indices de ces points correspondent aux indices des images contenues dans la liste des 60 images. Ainsi, les quatre images correspondantes à ces indices sont récupérées et utilisées pour la suite du programme.



**FIGURE 3.10** – Schéma illustrant la différence de rayon des fronts d'onde arrivant sur l'échantillon, et le décalage en  $x$ , justifiant le choix de la ROI au centre de l'image.

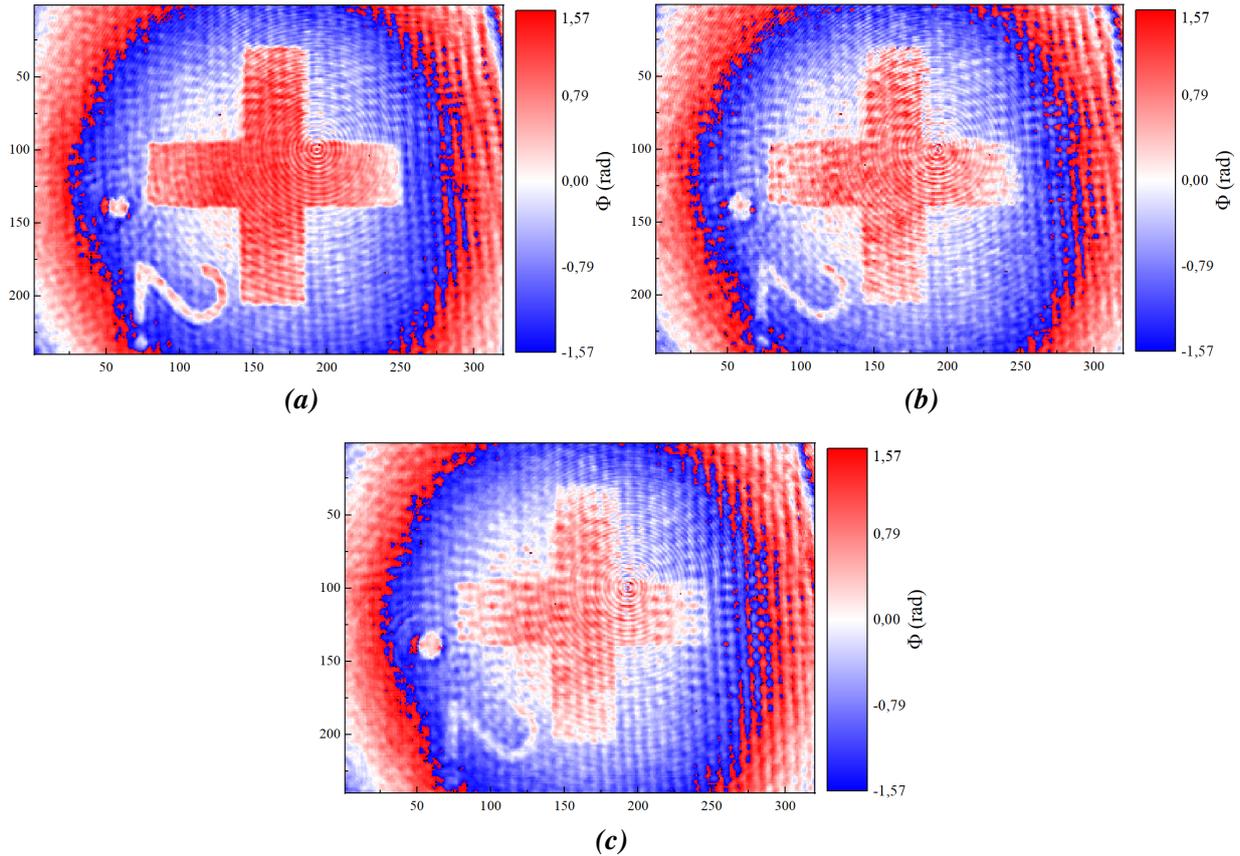
Sur la Fig. 3.9, on distingue facilement sur les quatre images que le déphasage dans l'eau correspond bien aux déphasages attendus. En effet, un déphasage de  $\pi$  correspond, dans la zone d'eau autour de la croix de résine, à la frange la plus sombre, tandis que la résine ressort plus claire. À l'inverse, un déphasage nul implique des valeurs de niveau de gris dans l'eau plus claires que sur les autres images, qui contraste avec la croix de résine plus sombre. Les deux dernières images, à  $\alpha = \pi/2$  et  $\alpha = 3\pi/2$ , présentent des valeurs de niveau de gris intermédiaires au niveau de l'eau, tandis que dans la résine, les valeurs correspondent respectivement à une frange sombre et une frange claire. On peut ainsi intuitivement que la couche de résine observée ici induit un déphasage entre 0 et  $\pi/2$  par rapport à l'eau, rien qu'en observant les quatre images. Aussi, on remarque ici l'évolution circulaire de la teinte plate en fonction du déphasage. Spatialement, les fronts d'onde sphériques de rayons différents sur le bras de référence et de mesure impliquent en effet une évolution de la frange par le point central du faisceau, en plus de l'évolution de la valeur des niveaux de gris. Ainsi, sur l'image à  $\alpha = \pi$  par exemple, la frange sombre ne l'est que sur une certaine surface depuis le centre de l'image, jusqu'à devenir claire sur les bords. Ceci se répercute aussi sur la zone avec résine, où l'on remarque que les extrémités de la croix apparaissent sombre sur le fond de frange claire, à l'inverse du centre. On retrouve donc ici le phénomène décrit sur la Fig. 3.10 justifiant le choix des ROI au centre des images.

Ces quatre images sont ensuite utilisées pour calculer une image de phase résultante, d'après l'Eq. 3.4. La phase  $\Phi$  est calculée pour chaque pixel. Une image de phase est ainsi obtenue. Dans cette image de phase, une ROI dans la résine est sélectionnée, en ne prenant en compte que la zone au centre de l'image pour les raisons exposées précédemment. Enfin, dans cette ROI de résine, les valeurs des pixels sont moyennées afin d'obtenir une valeur de phase unique. Nous avons vu à la Sec. III.1.2 que le banc présentait un déphasage initial présent de base entre les deux bras (optiques, incertitude sur l'épaisseur des cuves). Mais puisque les quatre images

sont sélectionnées sur la même sinusoïde, le simple fait qu'elles soient espacées de  $\pi/2$  suffit à retrouver uniquement le déphasage dû à la résine. Ainsi, l'image de phase a toujours une valeur de zéro dans l'eau seule, du moins au centre du profil bombé de l'image.

Toutes ces étapes sont répétées à chaque longueur d'onde, ce qui permet de tracer les courbes du saut de phase spécifique à la résine.

### III.1.5 Résultats et discussion



**FIGURE 3.11** – Images de phase obtenues pour l'échantillon de  $3.8 \mu\text{m}$  à (a)  $1218 \text{ cm}^{-1}$ , (b)  $1250 \text{ cm}^{-1}$ , (c)  $1266 \text{ cm}^{-1}$ .

La Fig.3.11 représente trois images de phase à trois longueurs d'onde différentes pour une même épaisseur de résine (ici  $3.8 \mu\text{m}$ ). Les longueurs d'onde choisies sont les longueurs d'onde spécifiques du saut de phase.  $1218 \text{ cm}^{-1}$  est la longueur d'onde au plus haut du saut d'indice de réfraction réel  $n_{res}$ ,  $1266 \text{ cm}^{-1}$  celle au plus bas du saut d'indice, et  $1250 \text{ cm}^{-1}$  est celle qui se situe au niveau du maximum du pic d'absorption, dans la pente du saut d'indice. Chaque pixel de l'image de phase a une valeur telle que :

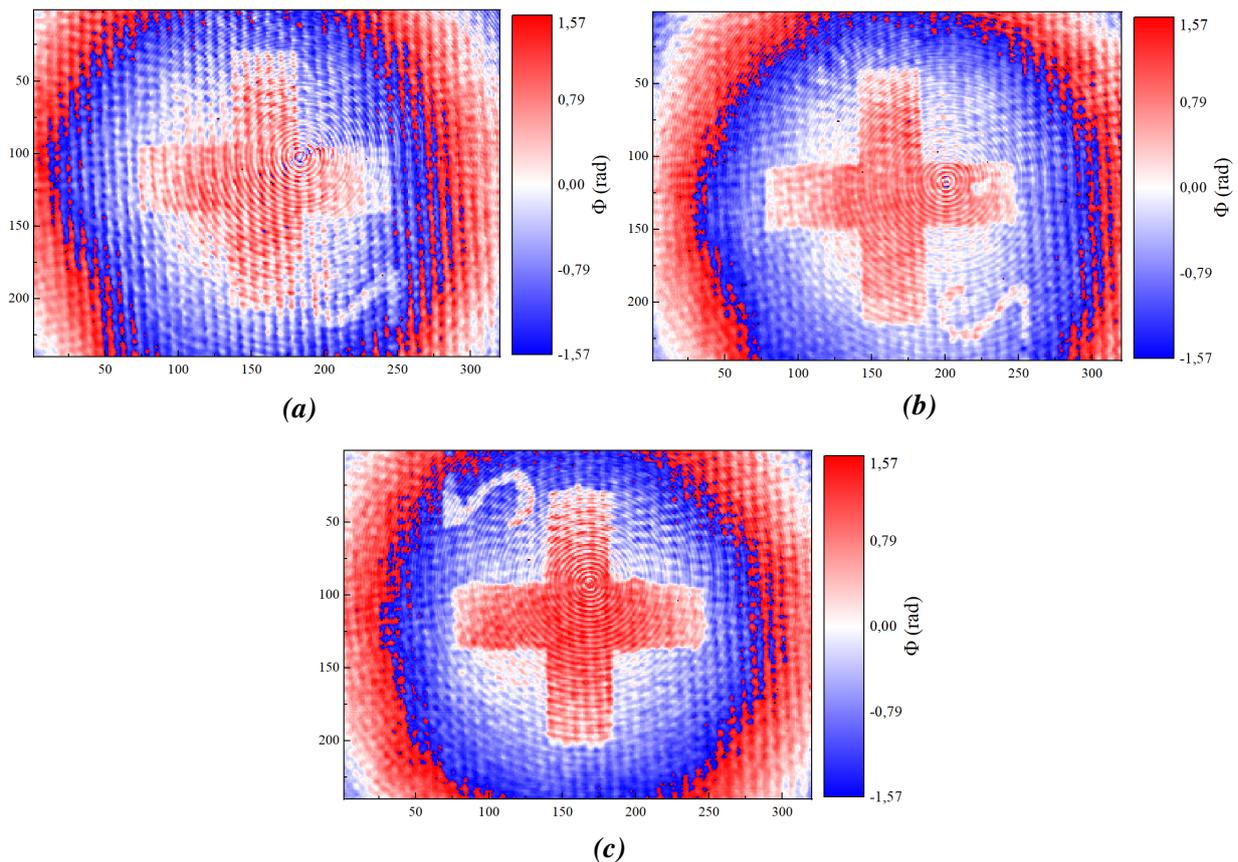
$$\Phi = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta n d_{res} \quad (3.5)$$

où  $\Delta n$  est la différence d'indice entre l'eau et la résine.

Premièrement, on remarque le profil bombé de la zone autour de la résine qui est dû à la forme des fronts d'onde sphériques. Au centre de la teinte plate, au niveau de la ROI dans l'eau, le déphasage a une valeur moyenne proche de zéro, modulo  $2\pi$ . C'est bien ce qu'on s'attend à voir puisque les quatre images de départ sont prises sur une même sinusoïde, comme expliqué plus haut. Les indices de la résine par rapport à ceux de l'eau sont résumés dans le Tab.3.2 ci-dessous. Pour rappel, l'indice  $n_{res}$  de la résine est calculé par les relations de Kramers Kronig appliquées aux mesures FTIR sur la résine,  $n_e$  est l'indice de l'eau connu de la littérature [111].  $\Phi$  est obtenu à partir de l'Eq.3.5, avec  $d_{res} = 3.8 \mu\text{m}$  l'épaisseur connue de la résine, mesurée préalablement au profilomètre.

	$n_{res}$	$n_e$	$\Delta n$	$\Phi$	$\Phi_{mes}$
$1218 \text{ cm}^{-1}$	1.67	1.29	0.38	1.1	1.05
$1250 \text{ cm}^{-1}$	1.54	1.29	0.25	0.75	0.74
$1266 \text{ cm}^{-1}$	1.48	1.29	0.19	0.57	0.54

**TABLE 3.2** – Tableau récapitulatif des valeurs du calcul de la phase sur l'échantillon de  $3.8 \mu\text{m}$  pour comparaison avec la Fig.3.11.



**FIGURE 3.12** – Images de phase obtenues à  $1218 \text{ cm}^{-1}$  pour les échantillons de (a)  $1.8 \mu\text{m}$ , (b)  $2.2 \mu\text{m}$ , (c)  $3.2 \mu\text{m}$ .

Les valeurs de phase mesurées  $\Phi_{mes}$  sont les valeurs moyennes de la phase dans la ROI de résine sur les images. La différence la plus importante avec les valeurs calculées est de 5.5 %,

à  $1266 \text{ cm}^{-1}$ . Les écarts trouvés par rapport aux valeurs des mesures FTIR (dans l'hypothèse où celles-ci s'approchent au mieux des valeurs réelles) sont dus aux inhomogénéités de valeurs même au sein de la ROI, du fait des variations spatiales de puissance, comme les anneaux de diffraction par exemple et les inhomogénéités variables du faisceau laser d'une image à une autre. De plus, il est impossible d'avoir une valeur de phase dans l'eau exactement égale à zéro dans la ROI, car la carte de phase initiale n'est pas plane.

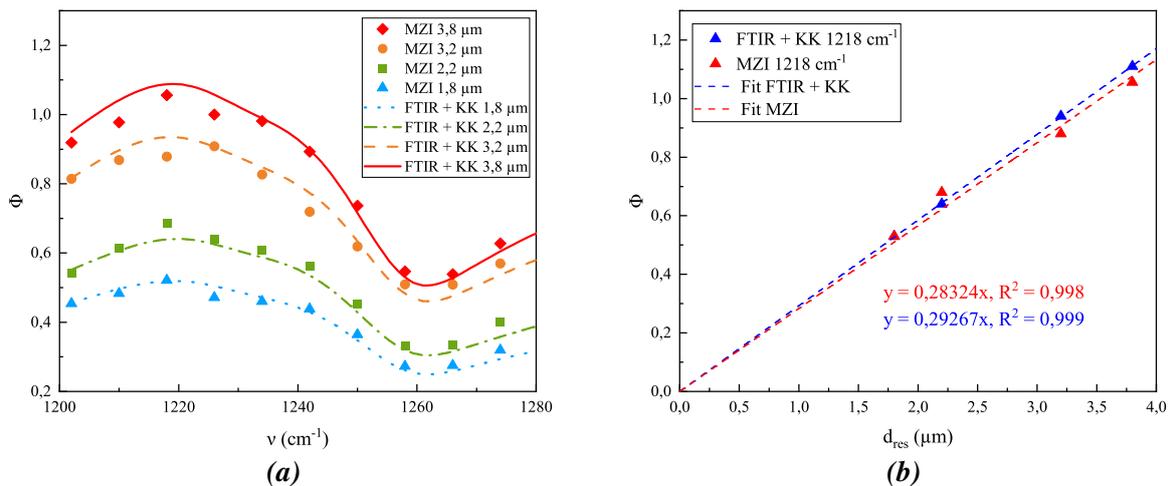
Sur la Fig.3.12 sont représentées les images de phase obtenues pour la longueur d'onde au maximum du saut d'indice, là où  $\Delta n$  est le plus important ( $1218 \text{ cm}^{-1}$ ), cette fois-ci pour chacun des trois autres échantillons. Le Tab.3.3 résume les valeurs de phase obtenues pour chaque échantillon.

	1.8 $\mu\text{m}$	2.2 $\mu\text{m}$	3.2 $\mu\text{m}$	3.8 $\mu\text{m}$
$\Phi$	0.52	0.64	0.93	1.1
$\Phi_{mes}$	0.52	0.68	0.88	1.05

**TABLE 3.3** – Tableau récapitulatif des valeurs du calcul de la phase à  $1218 \text{ cm}^{-1}$  pour comparaison avec la Fig.3.12.

Les valeurs de phase sont également cohérentes avec les calculs. On retrouve bien l'augmentation de phase dans la croix de résine lorsque l'épaisseur augmente, conformément à l'Eq.3.5. On trouve une différence entre les calculs et les images d'un maximum de 6.2 % (pour l'échantillon de 2.2  $\mu\text{m}$ ). Ces différences sont dues aux mêmes raisons que précédemment.

Des images de phase similaires ont été obtenues pour chaque longueur d'onde et chaque épaisseur de résine, sur lesquelles le même traitement a été effectué. La Fig.3.13.a a été obtenue en calculant la moyenne les valeurs de  $\Phi$  dans la ROI de résine à partir des images de phase. Comme en absorption, la Fig.3.13.b montre la linéarité de la phase par rapport à l'épaisseur de l'échantillon, tracée au nombre d'onde  $1218 \text{ cm}^{-1}$  spécifique du saut d'indice de la résine.



**FIGURE 3.13** – (a) Courbes de déphasage obtenues avec le MZI à partir de chaque échantillon, comparées aux courbes mesurées au FTIR. (b) Déphasage à  $1218 \text{ cm}^{-1}$  en fonction de l'épaisseur.

En moyenne, on remarque qu'il y a une bonne concordance entre les valeurs expérimentales

des mesures au MZI et celles de la mesure FTIR auxquelles ont été appliquées les relations de Kramers Kronig. En effet, les valeurs obtenues au MZI suivent le saut de phase spécifique de l'espèce. Des disparités sont tout de même présentes et peuvent être dues au traitement d'image, qui, comme nous l'avons déjà évoqué, prend en compte la moyenne des valeurs de phase sur des images non homogènes spatialement. Ces non homogénéités sont dues par exemple au laser n'étant pas parfaitement stable dans le temps, aux artefacts créés par la succession des différents éléments du banc interférométrique, pouvant créer des anneaux de diffraction, et à la position des lentilles  $L_{1,2}$  qui peuvent ne pas être exactement centrées par rapport à  $L_3$ . Les pentes des courbes linéaires du déphasage en fonction de l'épaisseur à  $1218\text{ cm}^{-1}$  ont une différence de 3% entre la mesure FTIR et la méthode interférométrique utilisée ici, ce qui est deux fois plus faible qu'avec la mesure d'absorbance. Bien que cela aille dans le sens d'une meilleure sensibilité de l'interférométrie, ces chiffres ne sont pas significatifs et restent à confirmer avec davantage de mesures. Néanmoins, ceci permet de confirmer expérimentalement qu'il y a bien une linéarité du déphasage avec l'épaisseur de résine traversée et qu'elle est mesurable sur notre banc interférométrique et notre traitement d'images avec cette première méthode PSI. Finalement, on retrouve bien, grâce à la méthode PSI, la spécificité de l'espèce d'intérêt introduite dans l'eau.

Suite à ces premières mesures, une seconde méthode a permis d'homogénéiser les images de phase, en effectuant cette fois-ci une mesure supplémentaire dans l'eau seule constituant une image de fond, comparable à celle utilisée lors de la mesure d'absorbance.

## III.2 Méthode 2 : imagerie de phase améliorée

### III.2.1 Correction du front d'onde du faisceau

Comme expliqué préalablement, l'interférométrie ne nécessite pas de mesure de référence comme c'est le cas pour l'absorbance. Cependant, dans notre cas, l'acquisition d'images implique que les variations spatiales dues notamment aux fronts d'onde sphériques du faisceau sont prises en compte dans le calcul de la phase, ce qui constitue une incertitude supplémentaire, que nous essayons de réduire par la sélection des ROI au centre des images (voir Sec.III.1.4).

La Fig.3.14 compare les profils des images de phase obtenues avec et sans soustraction d'image de fond. L'image de phase (a) a été calculée à partir de quatre images avec la méthode PSI décrite Sec.III.1. Ses profils horizontal et vertical sont bombés, du fait de la forme sphérique différente entre les deux fronts d'onde du faisceau expansé. L'image de phase (b) a été calculée quant à elle en soustrayant une image de phase dans l'eau seule à l'image de phase avec la croix de résine. On remarque alors un profil plus plat. Les valeurs de phase utilisées lors du traitement d'images sont donc plus homogènes que sans soustraction du fond bombé. Dans la méthode que nous allons décrire ici, il y aura donc deux mesures de phase successives, avec et sans espèce d'intérêt au centre de l'image.

La seconde différence avec la méthode PSI précédente réside dans le calcul de la phase. En effet, la phase sera ici calculée en utilisant l'intégralité des données acquises (la méthode précédente n'utilisait que 4 images sur 60). Ainsi, aucune donnée n'est acquise inutilement.

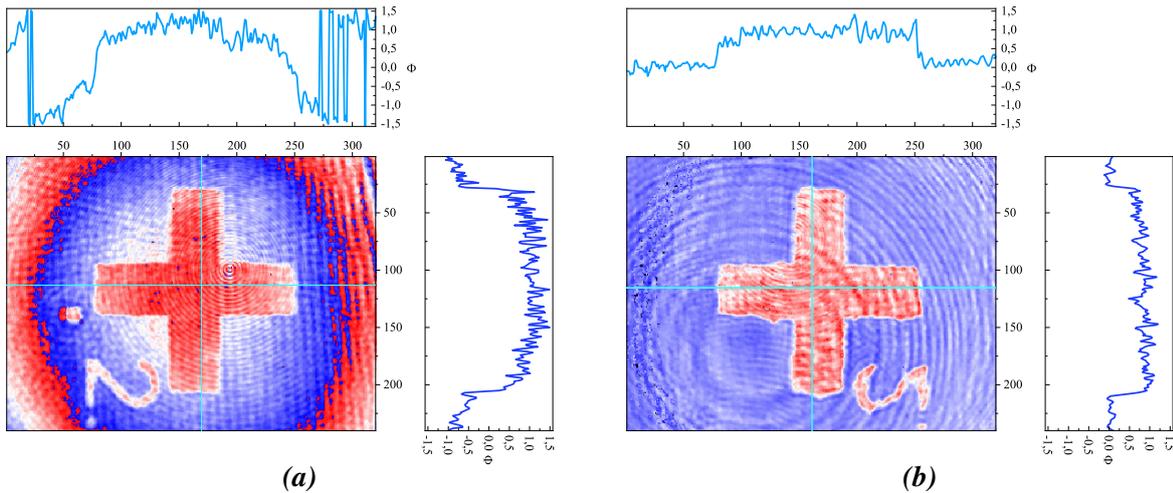


FIGURE 3.14 – Profils d’une image de phase (a) sans, (b) avec soustraction du background dans l’eau seule.

### III.2.2 Protocole expérimental

Premièrement, l’échantillon de référence et de mesure sont placés sur les deux bras du MZI. Le protocole de préparation des échantillons est le même que celui présenté en Sec.II.1.

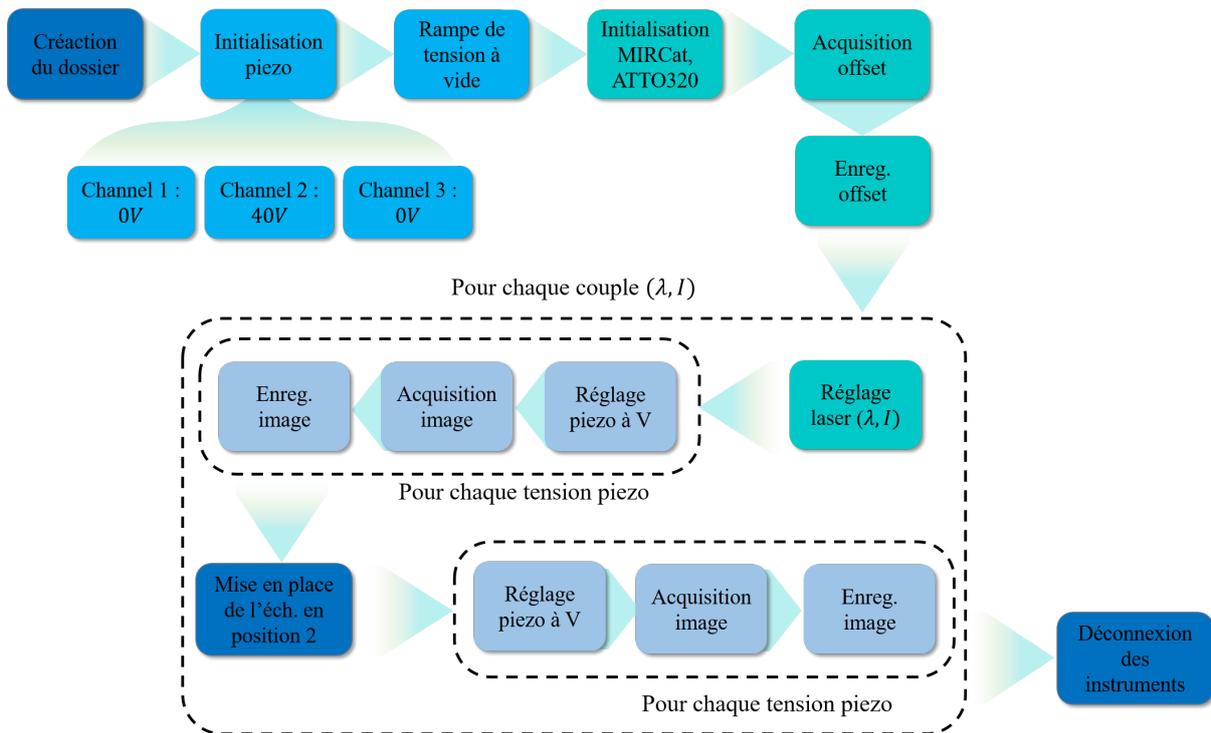
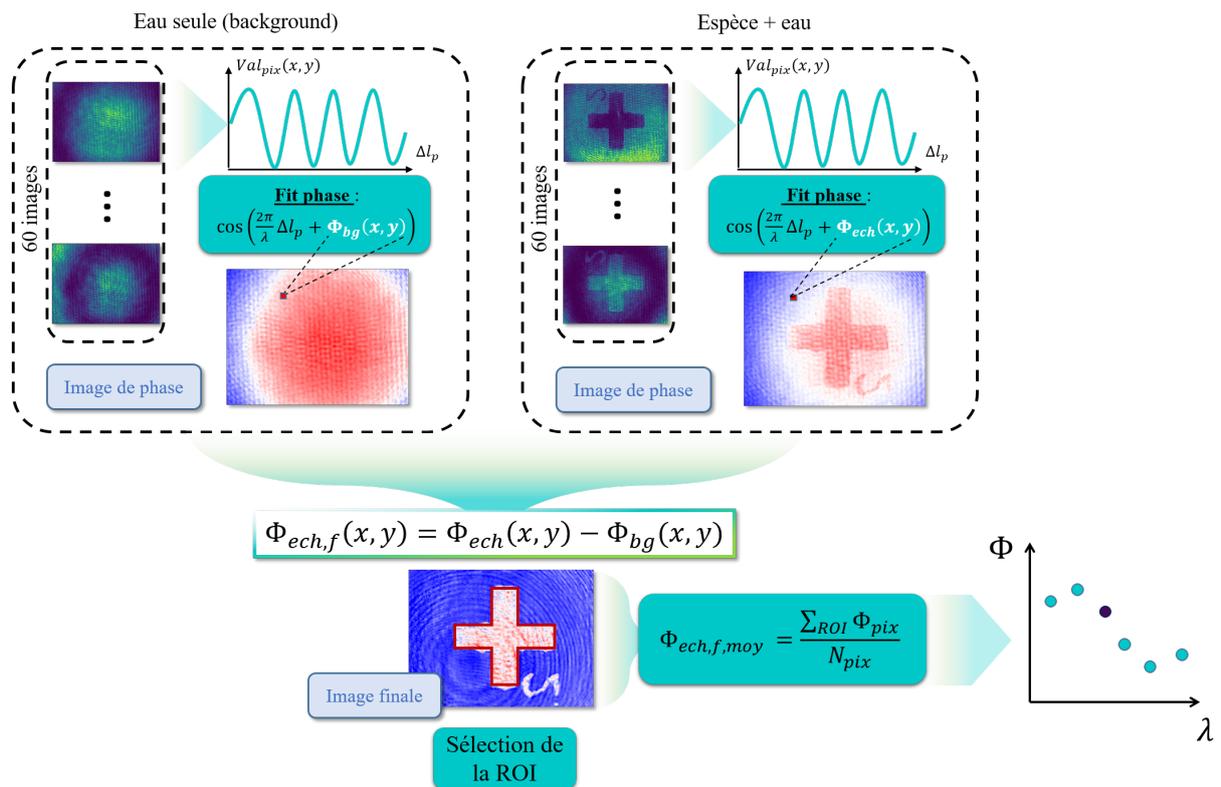


FIGURE 3.15 – Schématisation des étapes du programme Python utilisé pour les mesures de phase.

Une fois que les échantillons sont placés sur le banc, le programme Python peut être lancé. La différence avec celui utilisé pour la méthode PSI précédente et présenté en Sec.III.1.3 est que deux scans en tension sont cette fois réalisés : l’un dans une zone d’eau seule, l’autre avec l’objet d’intérêt au centre de l’image. L’on pourrait se dire que la manière la plus pratique de réaliser la

mesure serait de lancer deux fois le programme Python de la première méthode, pour réaliser un premier scan sur toutes les longueurs d'onde avec l'objet d'intérêt au centre de l'image, puis un second avec l'eau seule. Cependant, ceci implique qu'entre la mesure de référence dans l'eau seule et la mesure avec l'objet, le laser est re-réglé à la longueur d'onde voulue. Or, nous avons vu au Chap.2, Sec.II.2 que le laser MIRcat utilisé pouvait parfois présenter des différences de puissance et de forme de faisceau d'une mesure à l'autre pour une même longueur d'onde et un même courant. Pour éviter ceci et optimiser au mieux les résultats, il est alors préférable de ne pas toucher au réglage laser entre la mesure dans l'eau seule et la mesure avec l'objet d'intérêt. Ainsi, à chaque longueur d'onde et courant associé, 60 images aux 60 tensions (avec un pas de 0.2 V) du contrôleur piezo-électrique sont acquises pour la première position de l'échantillon, puis celui-ci est déplacé horizontalement afin de centrer l'image sur la seconde position. Le second scan en tension peut alors être réalisé. Ceci est répété à toutes les longueurs d'onde avant d'éteindre les instruments du banc. Par soucis de temps, nous avons choisi de translater l'échantillon manuellement, ce qui nécessite d'effectuer la sélection de la ROI de la croix de résine pour chaque longueur d'onde, pour minimiser les incertitudes liées à la position de la croix.

### III.2.3 Traitement des images



**FIGURE 3.16** – Schématisation du traitement d'images utilisé pour l'obtention des courbes de phase avec image de référence. La ROI est représentée en rouge autour de la croix de résine sur l'image finale.

Pour chaque longueur d'onde, 120 images sont acquises : 60 dans une zone de l'échantillon de mesure avec l'eau seule, 60 autres dans la zone centrée sur l'objet à imager, en effectuant un

balayage de la position du miroir  $M_2$  grâce au contrôleur piezo-électrique. L'offset pris avant l'allumage du laser est retiré à chacune des images. Puis, comme schématisé sur la Fig.3.16, un fit sinusoidal est réalisé pour chacun des pixels. En effet, les 60 images témoignent de l'évolution spatiale de la teinte plate en fonction de la tension, et donc de la différence de marche  $\Delta l_p$  introduite par la translation du miroir  $M_2$  en diagonale. Ainsi, la valeur  $Val_{pix}$  d'un pixel varie d'une image à l'autre, formant alors une sinusoïde. Celle-ci est de la forme :

$$Val_{pix}(V) = Val_{pix,0} + A \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda} \times c \times V + \Phi\right) \quad (3.6)$$

où  $V$  est la tension appliquée,  $Val_{pix,0}$  la valeur moyenne de la sinusoïde,  $A$  l'amplitude,  $c$  un coefficient (en  $\mu\text{m V}^{-1}$ ) et  $\Phi$  la phase que nous voulons trouver.

Ce fit est réalisé sur chacun des pixels de l'image, ce qui permet trouver la valeur de  $\Phi_{bg}$  dans le cas de l'image de référence, et la valeur de  $\Phi_{ech}$  dans le cas de l'image avec l'espèce que l'objet que l'on souhaite imager. Deux images de phase sont ainsi obtenues. Les deux présentent un profil bombé dû à la forme du faisceau gaussien. Pour obtenir l'image de phase finale (plus plate) où les variations spatiales sont moindres, la soustraction suivante est réalisée sur chaque pixel en position  $(x, y)$  :

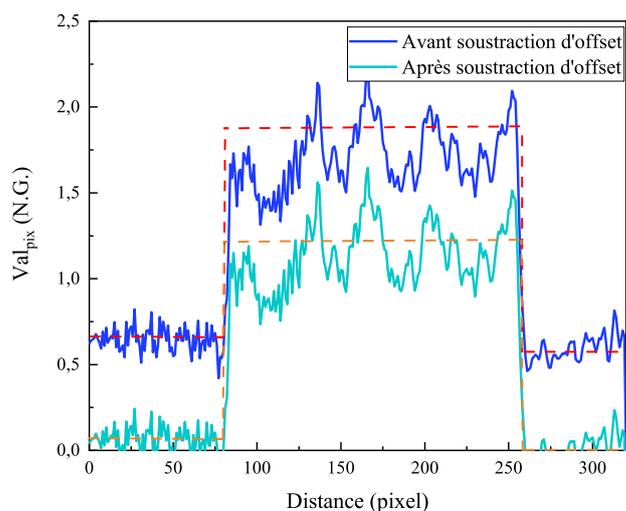
$$\Phi_{ech,f}(x, y) = \Phi_{ech}(x, y) - \Phi_{bg}(x, y) \quad (3.7)$$

Dans cette méthode, comme la mesure dans l'eau seule et dans la résine sont faites durant deux balayages distincts avec le piezo (dont position absolue n'est pas contrôlée), on s'attend à un décalage global de la phase entre les deux images. Ce déphasage constitue un offset, il faut donc soustraire sa valeur à toute l'image finale. Ceci abaisse donc le niveau de l'eau à une valeur nulle et celui de la croix à une valeur plus faible (voir Fig.3.17). Enfin, sur l'image finale, le traitement est similaire à celui réalisé sur l'image de phase dans la première méthode (voir Sec.III.1.4). Sur l'image finale, nous sélectionnons la zone correspondant à la résine, puis la valeur moyenne sur cette zone est utilisée pour tracer la dépendance de l'indice en fonction de la longueur d'onde. La différence ici est que, au vu des valeurs plus homogènes dans les ROI de l'eau et de l'espèce, toute la croix de résine peut être sélectionnée.

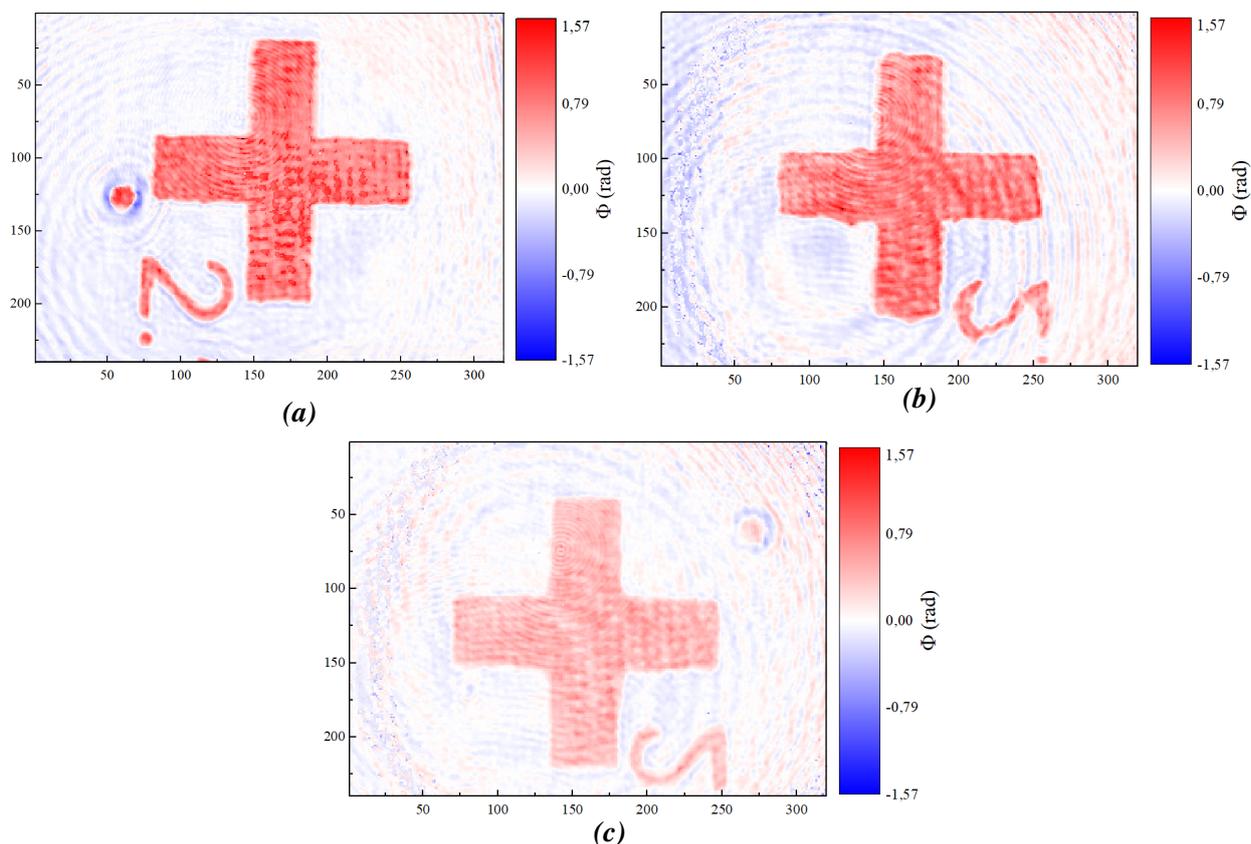
### III.2.4 Résultats et discussion

La Fig.3.18 représente les trois images finales de phase obtenues sur les différents échantillons, à  $1240 \text{ cm}^{-1}$ . Elles sont donc, comme expliqué précédemment, le résultat de la soustraction de deux images de phase avec et sans résine. En comparaison avec les images de la Fig.3.11, celles-ci n'ont plus l'effet bombé des fronts d'onde sphériques. C'était effectivement le résultat attendu grâce à la soustraction de l'image sans résine. Cependant, on distingue des franges circulaires sur l'image. Durant l'expérience, il a été remarqué que lorsque l'échantillon est déplacé, ces franges défilent. Il y a très peu de chance qu'elles soient identiques entre l'image avec et sans résine, si bien que la soustraction des deux les fait apparaître sur l'image finale. Après vérification, ces franges sont le résultat de réflexions successives entre les surfaces de la fenêtre de  $\text{CaF}_2$  et la surface de la lentille  $L_3$ . Comme pour la méthode précédente, la cohérence des valeurs de phase relevées sur les images est vérifiée dans le Tab.3.4, sachant que les indices de la résine et de l'eau à  $1240 \text{ cm}^{-1}$  sont respectivement de 1.6 et 1.29.

1. Notons que l'échantillon de  $2.2 \mu\text{m}$  a malencontreusement été cassé, il n'apparaîtra donc pas dans cette section.



**FIGURE 3.17** – Profils de phase au centre de la croix de résine pour l'échantillon de  $3.8\ \mu\text{m}$  à  $1210\ \text{cm}^{-1}$  avant et après soustraction de l'offset de phase dans l'eau.



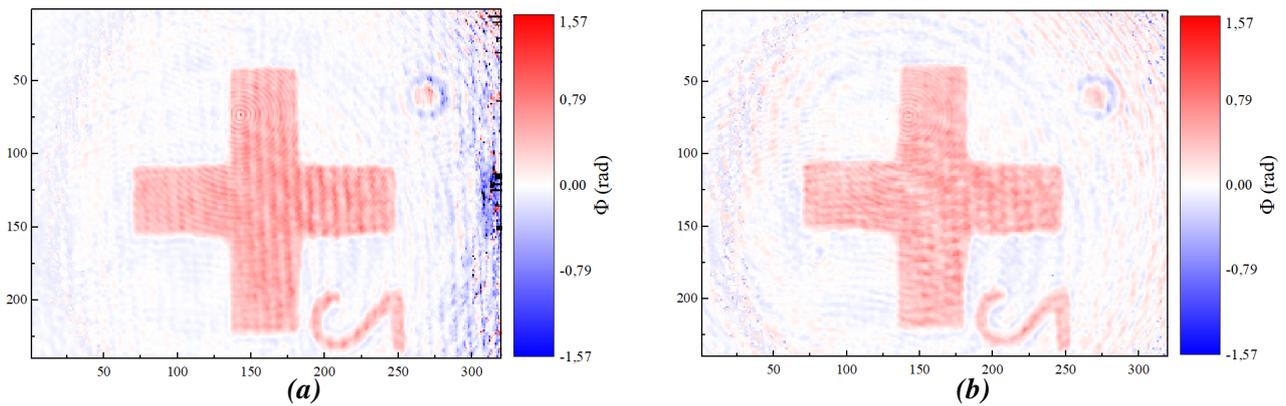
**FIGURE 3.18** – Images de phase obtenues à  $1240\ \text{cm}^{-1}$  pour les échantillons de (a)  $3.8\ \mu\text{m}$ , (b)  $3.2\ \mu\text{m}$ , (c)  $1.8\ \mu\text{m}$

En tenant compte du réajustement de l'image complète de sorte à avoir une phase nulle dans l'eau, les valeurs relevées sur les images sont cohérentes avec celles présentées dans le Tab.3.4, avec un écart maximal avec la mesure FTIR de 9 %, pour l'échantillon de  $3.8\ \mu\text{m}$ . Comme

	1.8 $\mu\text{m}$	3.2 $\mu\text{m}$	3.8 $\mu\text{m}$
$\Phi$	0.43	0.77	0.91
$\Phi_{mes}$	0.42	0.8	1

**TABLE 3.4** – Tableau récapitulatif des valeurs du calcul de la phase à  $1240\text{ cm}^{-1}$  pour comparaison avec la Fig.3.18.

on s’y attend, à une même longueur d’onde, le déphasage augmente avec l’épaisseur de résine. Voyons maintenant ce qu’il en est d’un même échantillon à des longueurs d’onde différentes.



**FIGURE 3.19** – Images de phase obtenues pour l’échantillon de  $1.8\text{ }\mu\text{m}$  à (a)  $1230\text{ cm}^{-1}$ , (b)  $1270\text{ cm}^{-1}$ .

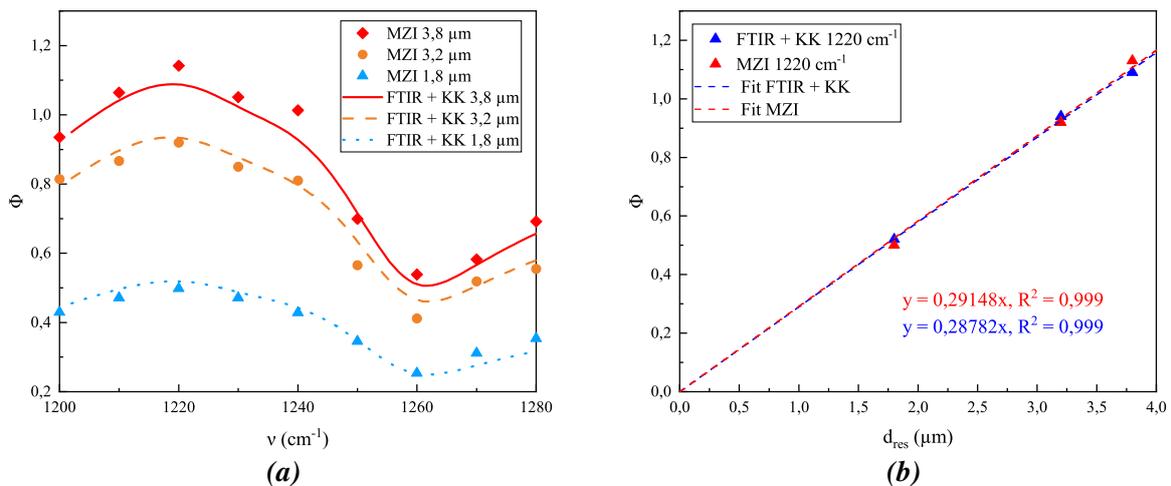
La Fig.3.19 représente les images de l’échantillon de  $1.8\text{ }\mu\text{m}$  de résine dans l’eau acquises à deux longueurs d’ondes du saut de phase :  $1230\text{ cm}^{-1}$  et  $1270\text{ cm}^{-1}$ . Ici encore, le modèle *couches* implique que c’est la différence d’indice entre l’eau et la résine qui est pris en compte dans le déphasage. Ainsi, la résine apparaît plus contrastée sur l’image (a) que sur l’image (b), du fait de l’allure du saut d’indice de la résine par rapport à celui de l’eau qui lui, reste quasiment constant sur la gamme spectrale étudiée. Le Tab.3.5 résume les valeurs théoriques de phase (calculées à partir des mesures FTIR) devant être retrouvées sur les images et les compare avec les valeurs calculées après traitement d’images des mesures faites sur le MZI.

	$n_{res}$	$n_e$	$\Delta n$	$\Phi$	$\Phi_{mes}$
$1230\text{ cm}^{-1}$	1.64	1.29	0.35	0.49	0.47
$1240\text{ cm}^{-1}$	1.6	1.29	0.31	0.43	0.43
$1270\text{ cm}^{-1}$	1.49	1.29	0.2	0.29	0.3

**TABLE 3.5** – Tableau récapitulatif des valeurs du calcul de la phase sur l’échantillon de  $1.8\text{ }\mu\text{m}$  pour comparaison avec la Fig.3.19.

Des images de phase similaires sont réalisées pour chacun des trois échantillons, à 9 longueurs d’onde, de  $1200\text{ cm}^{-1}$  à  $1280\text{ cm}^{-1}$ . Chaque image est traitée par le programme Python de traitement d’image décrit en Sec.III.2.3. Après la sélection de la ROI de la croix de résine sur les images finales et le calcul de la phase moyenne, les courbes de déphasage sont connues pour chacun des échantillons. L’allure des trois courbes correspondent de nouveau à la courbe

théorique tirée des mesures FTIR, même si des écarts subsistent. Ces écarts sont dus aux défauts encore présents sur l'image, notamment les franges circulaires qui faussent la valeur moyenne dans l'eau et donc la valeur de phase finale. De même que pour la méthode précédente, on trace le déphasage en fonction de l'épaisseur sur la Fig.3.20.b au nombre d'onde spécifique autour de la résonance (au maximum du saut d'indice de la résine)  $1220\text{ cm}^{-1}$ . Cette fois-ci, la différence entre les pentes des fits linéaires des mesures MZI et FTIR est seulement de 1.3 %, ce qui est presque trois fois moins qu'avec la méthode PSI sans image de référence. Finalement, les mesures effectuées et le traitement d'images permettent bien de retrouver le saut d'indice spécifique de la résine, et une linéarité du déphasage avec l'épaisseur de résine.



**FIGURE 3.20** – (a) Courbes de déphasage obtenues avec le MZI à partir de chaque échantillon, comparées aux courbes mesurées au FTIR. (b) Déphasage à  $1220\text{ cm}^{-1}$  en fonction de l'épaisseur.

Malgré des décalages des courbes subsistants, cette méthode est donc plus précise que la méthode précédente grâce à l'aplanissement du profil bombé à l'aide d'une mesure de référence. Elle permet de s'affranchir de la carte de phase due au montage et ainsi d'avoir une vraie image de l'objet, ce qui constitue un réel avantage. La sélection de la ROI n'est donc plus limitée au centre de l'image, et peut se faire n'importe où sur celle-ci.

## IV Conclusion du chapitre

Le MZI construit a permis de réaliser des mesures interférométriques sur les quatre échantillons de résine fabriqués. Premièrement, des mesures d'absorption ont été réalisées sur un seul des bras du MZI. Ces mesures ont permis de s'assurer du bon fonctionnement du laser et du détecteur ensemble. Les mesures d'absorption montrent une linéarité de l'absorbance en fonction de l'épaisseur avec une différence de 6 % entre la mesure FTIR et la mesure au MZI.

Puis, deux méthodes interférométriques ont été effectuées. L'interférométrie ne nécessite théoriquement pas de mesure de référence, contrairement à l'absorption. Nous avons donc commencé par effectuer la première méthode dite PSI, en l'adaptant cependant aux difficultés rencontrées avec le contrôleur piezo-électrique. Cependant, sur les images de phase résultantes, la teinte plate a un profil bombé du fait des fronts d'onde sphériques légèrement différents sur les deux

voies du MZI. La ROI du traitement d'images est donc limitée à une zone centrale sur l'image. Cependant, les courbes d'indice obtenues montrent déjà une meilleure linéarité avec l'épaisseur qu'en absorbance, avec une différence de 3 % par rapport aux mesures FTIR.

La deuxième méthode est une amélioration de la première et consiste quant à elle à soustraire une image de la teinte plate dans l'eau seule à l'image avec résine, afin d'aplanir le profil de l'image de phase résultante. Les images de phase sont obtenues cette fois-ci en fittant sur chaque pixel les sinusoides d'un scan complet du piezo. Le profil étant plat, la ROI peut donc cette fois prendre en compte l'intégralité de la zone de l'objet à analyser, qui n'est plus impacté par la carte de phase initiale. Cette méthode permet de tracer des courbes de saut de phase impliquant une différence de linéarité de 1.3 % avec les valeurs des mesures FTIR. Ceci confirme l'amélioration de la mesure de phase grâce à l'introduction d'une image de référence.

Malgré les biais expérimentaux rencontrés, les deux méthodes interférométriques présentent une meilleure correspondance avec les courbes FTIR par rapport à l'absorption. La seconde méthode est d'autant plus avantageuse, et comparable à l'absorption, puisqu'elle consiste à réaliser une image de référence permettant d'aplanir le profil de l'image finale. Ainsi, l'interférométrie permet d'atteindre une différence de linéarité avec les mesures FTIR presque 6 fois inférieure au cas de l'absorption. Des mesures supplémentaires seraient à réaliser pour confirmer l'hypothèse d'un réel avantage de l'interférométrie par rapport à l'absorption. Cependant, la cohérence des mesures effectuées avec les mesures de référence prouve qu'il est possible d'obtenir la phase, et donc l'indice d'un échantillon spatialement résolu avec notre montage d'imagerie interférométrique dans l'IR.

D'autres méthodes de mesure pourraient être envisagées. Par exemple, associer les deux méthodes précédentes consisterait à réaliser quatre images avec et sans espèce d'intérêt, obtenir ainsi une image finale de phase pour les deux cas, et soustraire la référence à l'image avec l'espèce. Dans l'hypothèse où le pas du contrôleur piezo-électrique serait parfaitement contrôlé, cette méthode permettrait à la fois de réaliser moins d'images et d'aplanir la phase finale. Pour aller plus loin, on pourrait imaginer ne faire la mesure de référence qu'une seule fois. En effet, comme la non-planéité de la phase est due au montage, elle ne devrait pas changer d'un échantillon à l'autre, en supposant que le focus sur la résine implique une variation négligeable du rayon du front d'onde sur l'échantillon par rapport à celui sur la référence. Ceci permettrait de décrire le profil bombé avec un fit sphérique, et d'utiliser ce modèle en le soustrayant aux cartes de phase trouvées avec l'échantillon. On obtiendrait alors une image de phase corrigée à une constante additive près. Cette constante serait alors un offset à remettre à zéro dans les zones avec l'eau seule. Cela permettrait d'appliquer un protocole simplifié pour des échantillons futurs.

Pour conclure, nous pouvons dire que la principale difficulté ayant orienté les choix des méthodes de mesures et le traitement des données est le fait de réaliser des images. En effet, sur le MZI construit, les différents optiques et notamment le système d'imagerie et le grandissement du faisceau introduisent des artefacts spatiaux qu'il faut corriger au mieux pour minimiser l'incertitude de mesure.

Les échantillons de résine fabriqués et analysés ont une épaisseur ne descendant pas en dessous

de  $1.8 \mu\text{m}$ . Quelle est alors l'épaisseur minimale détectable par notre système? Les éléments de réflexion permettant d'y répondre sont alors présentés au quatrième et dernier chapitre.

# Étude photométrique et limite de détection

## Contenu du chapitre

<b>I</b>	<b>Introduction</b>	<b>110</b>
<b>II</b>	<b>Analyse théorique et mesure du bruit</b>	<b>110</b>
II.1	Estimation des bruits des différentes sources	110
II.1.1	Bruit indépendant du signal : NEP du détecteur	111
II.1.2	Rappels sur le rayonnement du corps noir	112
II.1.3	Estimation de la puissance et du bruit photonique du laser	113
II.1.4	Estimation du rayonnement de fond	115
II.1.5	Contribution des cuves d'eau	116
II.1.6	Bilan des sources théoriques de bruit	117
II.2	Mesure de bruit du banc interférométrique	118
II.2.1	Protocole de mesure	118
II.2.2	Résultats et comparaison à l'étude théorique	119
<b>III</b>	<b>Limite de détection du système</b>	<b>124</b>
III.1	Définition de la limite de détection	125
III.2	Calcul de la limite de détection	125
III.3	Sensibilité de chaque méthode de mesure	127
III.4	Limite de détection dans le cas de différents échantillons	128
III.4.1	Limite de détection dans le cas de la résine SU-8	129
III.5	Limite de détection dans le cas de microplastiques : PVC, PMMA, PE	133
III.6	Limite de détection dans le cas de tissus hydratés	138
<b>IV</b>	<b>Conclusion du chapitre</b>	<b>142</b>

# I Introduction

Dans l'optique d'utiliser notre système interférométrique sur des échantillons futurs, par exemple des prélèvements de MP dans l'environnement ou des échantillons biologiques *in vivo*, il est intéressant d'établir quelles sont les plus petites fractions (épaisseur ou concentration) d'espèce d'intérêt que notre banc permettrait de détecter. Cette LOD peut être calculée grâce à deux paramètres : le bruit mesuré et la sensibilité des méthodes d'analyse. Pour connaître et comparer les ordres de grandeur des LOD en interférométrie et en absorption, des mesures de bruit doivent premièrement être réalisées sur le banc, avant d'être introduites dans le calcul de la LOD. Cette étude de LOD sera alors réalisée pour différentes espèces de polymères (PVC, PMMA, PE) ainsi que pour un échantillon hypothétique de tissu. Ceci permettra de comparer les méthodes interférométriques avec l'absorption, et d'en conclure si l'interférométrie présente un réel avantage par rapport à l'absorption.

## II Analyse théorique et mesure du bruit

Lors de la construction d'un banc optique pour une application précise, il est nécessaire d'avoir une idée de toutes les sources pouvant interagir avec le détecteur et de leur puissance associée. Ainsi, nous pourrions savoir quelles sont les sources principales de photons IR. Le fait de travailler dans l'IR implique que le détecteur est exposé à tous les rayonnements IR de sa gamme spectrale présents dans son environnement, en plus du signal utile. Dans cette section, la contribution en puissance de chaque source IR possible sera évaluée théoriquement, et comparée à la NEP connue du détecteur utilisé. Ceci permettra de réaliser un bilan photométrique théorique. Cependant, certaines sources de bruit sont mal connues, c'est pour cela que dans un second temps, nous réaliserons des mesures de bruit directement sur le banc optique.

### II.1 Estimation des bruits des différentes sources

En plus des bruits intrinsèques au détecteur contribuant à la valeur de la NEP, le système de mesure interférométrique de Mach Zehnder n'étant pas isolé de l'extérieur, plusieurs sources de rayonnements IR doivent être considérées et certaines peuvent alors constituer un offset à soustraire lors du traitement d'images, pour ne garder que le signal utile. Les principales sources IR pouvant avoir une influence sur le signal mesuré sont les suivantes :

- Dans notre contexte d'utilisation du détecteur, la source laser MIRcat devrait être la source la plus importante de photons IR. Nous calculerons sa puissance incidente sur un pixel du détecteur, ainsi que le bruit de photons associé. En plus du bruit de photons, les QCLs possèdent un bruit lié aux fluctuations d'intensité, se situant généralement autour de 2% [69].
- Le rayonnement de l'environnement à température ambiante (individu dans la pièce, ou toute autre source pouvant émettre un rayonnement dans l'IR, plus précisément dans la gamme spectrale du détecteur), sont également des sources à prendre en compte. Nous calculerons à quelle puissance incidente cela correspond et la comparerons à notre cas spécifique d'utilisation du détecteur.
- Enfin, l'eau contenue dans les cuves microfluidiques constituant les échantillons absorbe fortement les rayonnements EM (sauf la partie du visible). Elle peut donc être considérée

comme un corps noir, qui sous l'effet de l'agitation thermique due à l'absorption des photons IR, ré-émet des rayonnements EM.

### *II.1.1 Bruit indépendant du signal : NEP du détecteur*

Au Chap.2, Sec.II.3.2, la méthode de mesure de la NETD et le calcul de la NEP associée sont détaillés. Les valeurs sont mesurées par le constructeur à 50 mK, ce qui correspond à 10 pW. Cette NEP est la somme quadratique des différents bruits pouvant se superposer au signal utile. Dans un détecteur bolométrique, tout ce qui crée une variation de température par apport d'énergie est susceptible d'être une source de bruit, d'autant plus si le détecteur n'est pas refroidi. Les principales sources de bruit d'un détecteur non refroidi sont le bruit de phonons, le bruit Johnson, le bruit  $1/f$  et le bruit de la chaîne de mesure [112].

Les phonons sont des quanta d'énergie thermique se propageant comme des ondes dans les matériaux solides. Lorsqu'un matériau est chauffé, les atomes qui le composent vibrent. Ces vibrations se propagent à travers la matière sous forme de phonons. Plus l'énergie thermique est élevée, plus les phonons transportent d'énergie et plus les vibrations sont intenses. Dans un détecteur bolométrique, le bruit de phonons est lié aux fluctuations de chaleur entre le thermomètre et le thermostat, et dépend de la température du détecteur et de la conductance thermique du matériau absorbeur (voir Chap.2, Sec.II.3.2, Fig.2.14).

Le bruit Johnson est un bruit blanc (indépendant de la fréquence) électronique qui se produit naturellement dans tout conducteur électrique en raison du mouvement brownien des électrons. Dans un bolomètre, le bruit Johnson se traduit par des fluctuations aléatoires du courant électrique à travers le détecteur, ce qui peut perturber la mesure précise de la variation de température induite par l'absorption de photons. Il dépend de la température et de la résistance électrique du bolomètre.

Le bruit  $1/f$  observé dans les bolomètres, est une fluctuation de bruit électrique qui augmente à mesure que la fréquence du signal mesuré diminue. Il est souvent causé par les irrégularités et les défauts dans le matériau qui constitue la résistance variable du bolomètre. Ces défauts provoquent des fluctuations lentes de la résistance électrique à travers le matériau, ce qui se traduit par des variations lentes de courant ou de tension électrique, et donc par un bruit qui augmente aux basses fréquences, d'où le nom  $1/f$ .

Le bruit de la chaîne de mesure provient quant à lui des bruits en tension et en courant des composants électroniques constituant le bolomètre. Il est donc nécessaire de choisir une électronique faible bruit pour limiter son impact.

Les différents bruits listés ci-dessus peuvent être évalués expérimentalement par des méthodes de mesure spécifiques que nous ne détaillerons pas ici. Cependant, ils contribuent tous à la valeur de la NEP.

Le bruit de photons des sources IR environnantes et du détecteur lui-même fait théoriquement partie des sources de bruits possibles, cependant il est généralement négligeable lorsqu'il s'agit d'un détecteur non refroidi. Lors de l'étude photométrique, nous le calculerons tout de même

pour estimer son ordre de grandeur et le comparer aux autres composantes du bruit et à celui mesuré expérimentalement. Le bruit de photons suit une loi statistique de Poisson, où l'écart type est égal à  $\sqrt{N_{ph}}$  (où  $N_{ph}$  est le nombre de photons moyen reçu par un pixel).

L'étude photométrique permet alors d'évaluer les contributions en puissance des différentes sources IR, et de les comparer à cette NEP afin d'évaluer la valeur du SNR.

### II.1.2 Rappels sur le rayonnement du corps noir

L'étude photométrique se base sur la théorie de la luminance du corps noir. Quelques rappels sont donc nécessaires avant de poursuivre les calculs théoriques dans les sections suivantes.

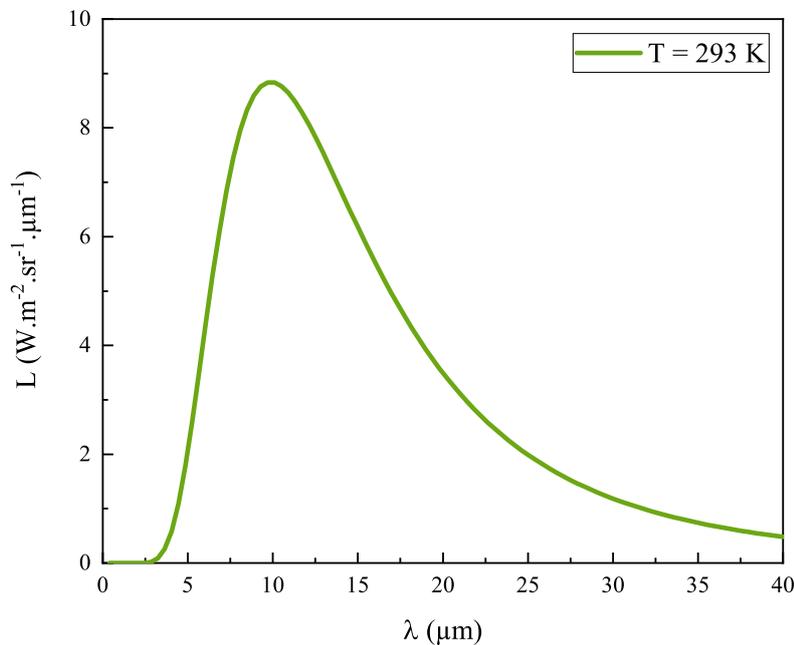


FIGURE 4.1 – Luminance spectrique du corps noir à température ambiante.

Un corps noir est un objet physique idéal, absorbant l'intégralité du spectre EM, sans la diffuser, ni la réfléchir. Cette absorption crée une agitation thermique au sein du corps noir, qui sera ré-émise sous forme de rayonnement EM continu, dont la longueur d'onde principale d'émission dépendra de la température à laquelle est chauffé le corps noir. Aux très grandes températures ( $> 3000\text{ K}$ ), un corps noir émettra un rayonnement continu avec une luminance maximale dans le visible (c'est par exemple le cas du Soleil ou des filaments de tungstène dans les premières ampoules). A des températures plus faibles, comme la température ambiante, un corps noir émettra un rayonnement majoritaire dans l'IR. C'est le cas des êtres vivants, de l'eau ou même des objets à température ambiante. Le rayonnement du corps noir en fonction de la température  $T$  et de la longueur d'onde  $\lambda$  est décrit par sa luminance spectrale  $\left[\frac{dL}{d\lambda}\right]_{CN}^T$ , selon la loi de Planck [113] :

$$\left[\frac{dL}{d\lambda}\right]_{CN}^T = \frac{2hc^2}{\lambda^5} \frac{1}{e^{hc/\lambda k_B T} - 1} \quad (4.1)$$

où  $h$  est la constante de Planck<sup>1</sup>,  $k_B$  la constante de Boltzmann<sup>2</sup> et  $c$  la vitesse de la lumière<sup>3</sup>. La Fig.4.1 montre le spectre de luminance d'un corps noir à température ambiante, où l'on voit que l'essentiel de sa puissance rayonnée se situe autour de  $10\ \mu\text{m}$ , donc dans le MIR.

Chaque objet possède une émissivité spectrale directionnelle  $\varepsilon(\lambda, \theta, \psi)$  qui correspond à sa capacité à émettre un rayonnement thermique dans la direction  $(\theta, \psi)$  à une température donnée en comparaison du rayonnement d'un corps noir parfait à la même température. Ainsi, sa luminance intrinsèque s'exprime telle que :

$$\left[ \frac{dL}{d\lambda} \right]_X^T(\theta, \psi) = \varepsilon(\lambda, \theta, \psi) \times \left[ \frac{dL}{d\lambda} \right]_{CN}^T \quad (4.2)$$

On considère que le détecteur IR ATTO320 peut capter de façon égale les rayonnements IR entre  $8\ \mu\text{m}$  et  $12\ \mu\text{m}$ . Il intègre donc les rayonnements des objets sur cette plage de longueur d'onde. Ainsi, pour connaître la luminance perçue par le détecteur, il suffit d'intégrer la luminance spectrale de celui-ci entre  $8\ \mu\text{m}$  et  $12\ \mu\text{m}$ . Ce calcul sera utilisé pour la contribution de l'eau mais aussi pour comparer la puissance laser incidente à la puissance reçue dans le cas d'un détecteur utilisé en conditions classiques, c'est à dire devant une scène constituée d'objets émettant des rayonnements à différentes longueurs d'onde.

### II.1.3 Estimation de la puissance et du bruit photonique du laser

La source laser devrait être, lors des mesures avec notre utilisation particulière du détecteur, la source principale de photons IR. Contrairement au corps noir, il émet une lumière monochromatique. Dans le Chap.2, Sec.II.2.2, nous avons vu que le faisceau laser était expansé de telle façon qu'il atteigne un diamètre final  $D_f$  de l'ordre de  $10\ \text{mm}$  en sortie du MZI. L'objectif est de déterminer la puissance que reçoit un pixel micro-bolométrique de  $12\ \mu\text{m}$  par  $12\ \mu\text{m}$ . Pour cela, nous pouvons utiliser la puissance mesurée au PM en sortie du montage interférométrique. Le faisceau laser possède une répartition spatiale gaussienne de son intensité qui s'écrit :

$$I(r) = I_0 e^{-2r^2/w^2} \quad (4.3)$$

où  $I_0$  est l'intensité au centre de la gaussienne,  $r$  le rayon et  $w$  le waist du faisceau, ici  $w = 5\ \text{mm}$  après expansion.

Le calcul de la puissance reçue par un pixel se fait sur un pixel situé au centre du détecteur, là où se situent les échantillons. Ainsi, on fait donc l'hypothèse simplificatrice que le pixel reçoit l'intensité  $I_0$ , qu'il s'agit de calibrer par la mesure au PM. La puissance  $P_{pm}$  mesurée par le PM est le résultat de l'intégration de cette intensité sur la surface  $S_{pm}$  du PM. Celui-ci est circulaire et a un diamètre de  $10\ \text{mm}$  (rayon  $R$ ). Alors :

$$P_{pm} = \iint_{S_{pm}} I(r) r dr d\theta = \int_{r=0}^R \int_{\theta=0}^{2\pi} I_0 e^{-2r^2/w^2} r dr d\theta = 2\pi I_0 \int_{r=0}^R r e^{-2r^2/w^2} dr \quad (4.4)$$

---

1.  $h = 6.62 \times 10^{-34}\ \text{J s}$   
 2.  $k_B = 1.38 \times 10^{-23}\ \text{J K}^{-1}$   
 3.  $c = 2.99 \times 10^8\ \text{m s}^{-1}$

En posant comme changement de variable  $a = 2/w^2$ , on obtient :

$$P_{pm} = 2\pi I_0 \int_{r=0}^R r e^{-ar^2} dr = 2\pi I_0 \left[ -\frac{1}{2a} e^{-ar^2} \right]_0^R = \pi I_0 \frac{1}{2a} (1 - e^{-aR^2}) \quad (4.5)$$

Finalement, la puissance d'un faisceau gaussien intégré par un PM de rayon  $R$  est :

$$P_{pm} = \frac{\pi}{2} I_0 w^2 (1 - e^{-\frac{2R^2}{w^2}}) \quad (4.6)$$

Ce qui, tous calculs faits, donne une intensité au centre de la gaussienne telle que :

$$I_0 = \frac{P_{pm}}{3.39 \times 10^{-5}} [\text{W m}^{-2}] \quad (4.7)$$

Sachant qu'un pixel a une surface  $S_{pix} = (12 \times 10^{-6})^2 \text{m}^2$ , on peut calculer la puissance  $P_{pix}$  reçue par un pixel au centre de la gaussienne. Ainsi :

$$P_{pix} = I_0 \times S_{pix} [\text{W}] \quad (4.8)$$

En frange claire, où le bruit de photons est le plus important, le PM donne en moyenne une puissance en sortie du MZI  $P_{pm}$  pouvant atteindre 1.5 mW, ce qui correspond, en appliquant les Eq.4.7 et 4.8, à une puissance incidente maximale sur un pixel de l'ordre de 6 nW.

Pour connaître le bruit de photons associé à la puissance laser incidente sur un pixel, on utilise la définition de l'énergie du photon appliquée à son flux :

$$N_{ph} = P_{pix} \frac{\lambda}{hc} \tau_{int} \quad (4.9)$$

où  $\tau_{int} = 60 \mu\text{s}$  est le temps d'intégration durant lequel les photons sont absorbés par la membrane du détecteur et  $\lambda$  est prise à  $8 \mu\text{m}$ , longueur d'onde autour de laquelle nous travaillons sur le pic de la résine au Chap.2. L'application numérique donne un nombre de photons  $N_{ph} = 1.45 \times 10^7$ . Le bruit de photons du laser suit une loi statistique de Poisson, il correspond donc à la racine du nombre de photons ( $\sigma_{ph} = \sqrt{N_{ph}}$ ). L'écart type des fluctuations laser liées au bruit de photons est donc  $\sigma_{ph} = 3800$ . Ce bruit photonique correspond à des fluctuations de 1.6 pW sur un pixel. C'est moins que la NEP du détecteur, la contribution du bruit photonique du laser au signal mesuré sera donc négligeable.

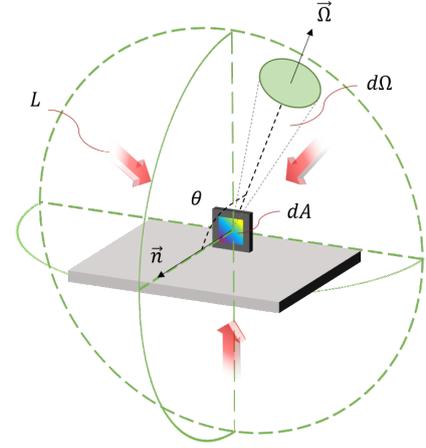
Dans la section suivante, nous allons calculer la puissance incidente sur un pixel dans un contexte d'utilisation passive (sans laser) de la matrice ATTO320, afin de la comparer à la puissance que reçoit un pixel par une source laser monochromatique.

### II.1.4 Estimation du rayonnement de fond

Considérons une scène constituée de plusieurs éléments émettant des rayonnements IR (personne dans la pièce, lampes et halogènes, objets à température ambiante).

Des tables permettent de connaître les émissivités de différents matériaux, notamment des métaux, des peintures et revêtements, souvent rencontrés dans le domaine de la défense où les caméras IR sont généralement utilisées. On trouve dans ces tables des émissivités de 0.98 pour la peau humaine ou encore de 0.95 pour les plastiques et 0.89 pour le bois, qui sont des éléments du quotidien pouvant être présent sur une scène à température ambiante. Pour simplifier les calculs, on arrondit les émissivités à 1, ce qui revient à calculer la luminance d'un corps noir (voir Eq.4.2). Ainsi, on peut calculer la luminance émise par l'ensemble des éléments de la scène observée :

$$L = \int_{\lambda=8\mu\text{m}}^{\lambda=12\mu\text{m}} \left[ \frac{dL}{d\lambda} \right]_{CN}^{T=293K} d\lambda \quad (4.10)$$



**FIGURE 4.2** – Eclairage du détecteur par une source lambertienne sur le demi-espace.

Tous calculs faits, on trouve une luminance  $L = 35 \text{ W m}^{-2} \text{ sr}^{-1}$ .

On peut ensuite calculer l'éclairage correspondant, en considérant que tous les objets éclairant le détecteur sont lambertiens (dont la luminance est identique dans toutes les directions) et sont contenus dans le demi-espace. La Fig.4.2 schématise la luminance de l'environnement provenant du demi-espace devant le détecteur. Alors, l'éclairage est égal à :

$$\begin{aligned} E &= \iint L \cos \theta d\Omega \\ &= \int_0^{2\pi} d\psi \int_0^{\pi/2} L \cos \theta \sin \theta d\theta \\ &= \pi \times L \end{aligned} \quad (4.11)$$

où  $d\Omega$  est l'angle solide d'où provient l'éclairage élémentaire  $dE = L \cos \theta d\Omega$ . L'application numérique donne finalement un éclairage  $E = 110 \text{ W m}^{-2}$ . La puissance reçue par un pixel de surface  $S_{pix}$  se calcule telle que :

$$P_{pix} = E \times S_{pix} \quad (4.12)$$

On trouve alors que dans le cas d'une scène constituée d'objets lambertiens situés dans le demi-espace en face du détecteur, la puissance reçue par un pixel est de l'ordre de 10 nW. Le nombre de photons correspondant sur le temps d'intégration se calcule de nouveau grâce à l'Eq.4.9 en prenant  $\lambda = 10\mu\text{m}$  la longueur d'onde principale d'émission du rayonnement IR par le corps noir. Ainsi,  $N_{ph,bg} = 3.02 \times 10^7$  et  $\sigma_{ph,bg} = 5500 = 1.8 \text{ pW}$ . Ce bruit a certainement été surestimé, sachant que nous avons considéré une luminance d'objets d'émissivité égale à 1 et

provenant de l'intégralité du demi-espace. De plus, nous avons considéré un détecteur absorbant parfaitement les photons quelle que soit la longueur d'onde, ce qui n'est pas le cas dans la réalité. La puissance reçue par un pixel est surestimée mais l'ordre de grandeur trouvé reste cohérent, puisqu'il s'agit du contexte d'utilisation habituel de ce détecteur. Rappelons également qu'ici, les rayonnements proviennent de toutes les directions du demi-espace, contrairement au cas du laser pour lequel la lumière provient seulement de la direction d'émission, perpendiculairement à la surface du détecteur.

### II.1.5 Contribution des cuves d'eau

L'un des éléments du banc le plus susceptible d'avoir un rayonnement important est l'eau, avec une émissivité de 0.96, que l'on considèrera dans les calculs comme égale à 1. En effet, l'eau est directement imagée sur le détecteur et absorbe une grande partie du spectre EM, sauf dans la zone du visible<sup>4</sup>, ce qui crée une agitation thermique des molécules. Elle peut donc être considérée comme un corps noir émettant un rayonnement IR à température ambiante. Ce rayonnement est alors mesurable par le détecteur ATTO320. Le rayonnement des autres éléments dans le champ de l'imageur est considéré comme négligeable car il s'agit de matériaux à faible émissivité à température ambiante (table optique en acier inoxydable, montures en aluminium...). De plus, le détecteur est placé dans un système d'imagerie, ce qui réduit son champ à l'échantillon qu'il doit imager, qui justement contient de l'eau.

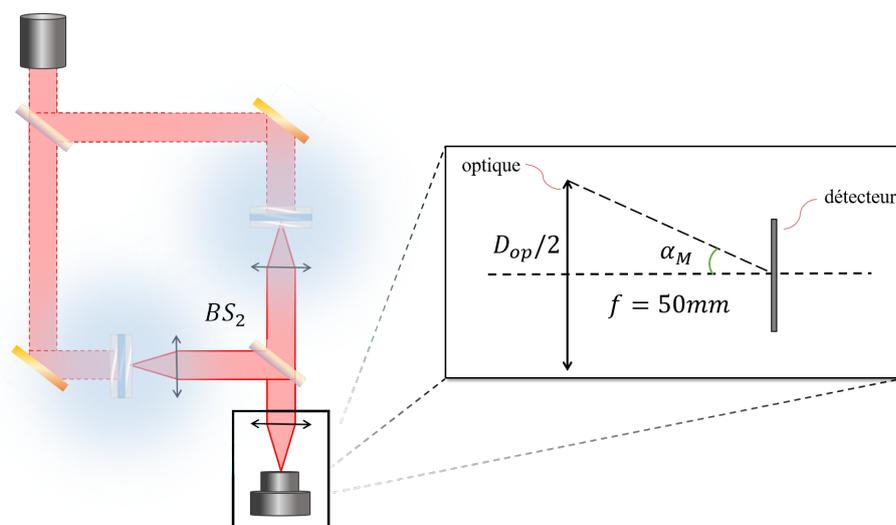


FIGURE 4.3 – Détection du rayonnement de l'eau par la matrice de micro-bolomètres.

L'eau dans les cuves est présente sur les deux bras. Considérons les bras indépendamment l'un de l'autre. Sur chaque bras, l'eau dans les cuves est considérée comme un corps noir émettant un rayonnement IR à température ambiante. Cependant, les optiques présentes sur le banc interagissent avec ce rayonnement IR. En effet, après le passage par la première lentille, nous pouvons considérer que l'eau contenue dans les cuves constitue un objet à l'infini. De plus, il faut prendre en compte l'interaction du rayonnement avec  $BS_2$ , dont les coefficients  $R$  et  $T$  sont respectivement 0.31 et 0.46. Nous cherchons simplement à avoir un ordre de grandeur de la

4. C'est pourquoi l'eau nous apparaît transparente.

puissance optique émise par l'eau des cuves, on prendra les deux coefficients égaux à 0.4. On peut ensuite calculer l'éclairement du détecteur par cet objet à l'infini sur l'axe optique, tel que :

$$E = \left(\frac{n'}{n}\right)^2 \frac{\pi T \mathcal{T}_{op} T L}{4N^2} \quad (4.13)$$

où  $n'$  et  $n$  sont respectivement les indices des milieux objet et image (ici l'air, donc  $n' = n = 1$ ),  $T$  et  $\mathcal{T}_{op}$  les transmittances de l'air et du milieu optique<sup>5</sup>,  $L$  la luminance de l'eau considérée comme un corps noir, et  $N$  est le nombre d'ouverture nominal<sup>6</sup> tel que :

$$N = \frac{1}{2 \sin \alpha_M} \quad (4.14)$$

où l'angle  $\alpha_M$  se calcule en connaissance du diamètre de la lentille  $D_{op} = 2.54$  cm (1 pouce) et de la focale  $f$  (voir Fig.4.3) :

$$\alpha_M = \arctan\left(\frac{D_{op}}{2f}\right) \quad (4.15)$$

En combinant les Eq.4.13 et 4.14 et en simplifiant par les coefficients égaux à 1 on peut écrire :

$$E = \pi T L \sin^2 \alpha_M \quad (4.16)$$

Tous calculs faits, on trouve un éclairement  $E$  égal à  $2.7 \text{ W m}^{-2}$ , ce qui correspond à une puissance  $P_{pix}$  sur un pixel de l'ordre de  $0.38 \text{ nW}$ . L'eau présente dans la cuve sur le second bras contribue également à cette puissance reçue. On peut donc multiplier le résultat par 2, ce qui correspond finalement à une puissance de  $0.77 \text{ nW}$  reçue sur un pixel. Cela équivaut à  $N_{ph,eau} = 2.33 \times 10^6$  et  $\sigma_{ph,eau} = 1530 = 0.5 \text{ pW}$ . Ici encore, même si la contribution des cuves d'eau au signal est négligeable, la puissance reçue a été sur-évaluée. Il est cependant rassurant de constater par le calcul que même avec cette surestimation du rayonnement de l'eau, la puissance correspondante est presque 8 fois plus faible que lorsque le laser est allumé.

### II.1.6 Bilan des sources théoriques de bruit

A l'issue de cette étude photométrique, nous pouvons finalement réaliser un bilan des sources théoriques de bruit afin d'évaluer le bruit total laser allumé  $\sigma_{tot}$ . Ainsi :

$$\begin{aligned} \sigma_{tot} &= \sqrt{NEP_{det}^2 + \sigma_{ph,eau}^2 + \sigma_{int,Laser}^2 + \sigma_{ph,Laser}^2} \\ &= \sqrt{(10 \times 10^{-12})^2 + (0.5 \times 10^{-12})^2 + (1.2 \times 10^{-10})^2 + (1.6 \times 10^{-12})^2} \end{aligned} \quad (4.17)$$

où  $NEP_{det}$  est la NEP du détecteur de  $10 \text{ pW}$  mesurée par le constructeur, dans laquelle est compris le bruit de photons de l'environnement à  $300 \text{ K}$   $\sigma_{ph,bg}$ ,  $\sigma_{ph,eau}$  est le bruit de photons provenant du rayonnement de l'eau,  $\sigma_{int,Laser}$  le bruit provenant de fluctuations d'intensité du laser et  $\sigma_{ph,Laser}$  le bruit de photons de la source laser. Lorsque le laser est à sa puissance maximale de  $6 \text{ nW}$  incidents sur un pixel, si l'on considère des fluctuations de 2% [69],  $\sigma_{int,Laser} = 120 \text{ pW}$  et  $\sigma_{tot} = 120 \text{ pW}$  : les autres bruits sont négligeables et le laser est la source

5. On considère ici pour simplifier que la lentille en ZnSe transmet parfaitement les rayonnements IR de  $8 \mu\text{m}$  à  $16 \mu\text{m}$ .

6. Cas d'un système utilisé pour une conjugaison infini/plan focal image, ce qui est le cas ici.

principale de bruit. Lorsque la puissance provenant du laser reçue par un pixel est négligeable (en frange sombre par exemple),  $\sigma_{tot} = 10 \text{ pW}$  : la détection d'une espèce est en majorité limitée par la NEP du détecteur. Les fluctuations temporelles d'intensité du laser restent cependant mal connues. De plus, un bruit lié à une dérive temporelle du déphasage,  $\sigma_{stab,MZI}$ , peut exister en interférométrie. La seule étude photométrique théorique ne permet donc pas de connaître précisément le bruit total se superposant aux mesures par le système interférométrique. C'est pour cette raison que des mesures de bruit ont été directement réalisées sur celui-ci, et serviront par la suite au calcul de la LOD du système.

## II.2 Mesure de bruit du banc interférométrique

### II.2.1 Protocole de mesure

L'objectif est de mesurer le bruit temporel du système en fonction de la puissance incidente sur un pixel, ceci en configuration interférométrique, mais également en configuration absorption. En effet, des fluctuations liées à une éventuelle dérive de phase peuvent s'ajouter en interférométrie, d'autant plus que le MZI n'est pas isolé de l'extérieur. Un seul nombre d'onde sera étudié pour chaque configuration, les résultats seront ensuite considérés comme valables pour tous les nombres d'onde couverts par le laser et le détecteur. En interférométrie, les mesures seront effectuées à  $1218 \text{ cm}^{-1}$  ( $8.21 \text{ }\mu\text{m}$ ) qui correspond à la longueur d'onde du saut de phase spécifique de la résine SU-8 pour des mesures multispectrales, et se situe dans la gamme spectrale de réponse du détecteur. En absorption, les mesures seront effectuées à  $1250 \text{ cm}^{-1}$  ( $8 \text{ }\mu\text{m}$ , spécifique du pic d'absorption principal de la résine), située plus au bord de la réponse du détecteur, mais toujours exploitable pour estimer le bruit du système. Pour rendre compte des fluctuations temporelles du système en fonction de la puissance laser,  $N = 50$  images sont enregistrées pour une même longueur d'onde, et un même courant de QCL. Le bruit est ensuite calculé et correspond à l'écart type sur les  $N$  mesures tel que [101] :

$$\sigma_{pix} = \sqrt{\frac{N \sum_{i=1}^N Val_{pix,i}^2 - (\sum_{i=1}^N Val_{pix,i})^2}{N(N-1)}} \quad (4.18)$$

où  $Val_{pix,i}$  est la valeur d'un pixel sur l'image  $i$ .

Le logiciel du détecteur ATTO320 permet d'enregistrer les images en niveaux digitaux (Digital Levels, DL) sur 14 bits, c'est à dire avec des valeurs de pixels entre 0 et  $2^{14}$ . Le bruit temporel  $\sigma_{pix}$  s'exprime alors en DL. Cependant, nous souhaitons connaître les fluctuations correspondantes en puissance, il faut donc pouvoir convertir ce bruit en watts. Il est alors nécessaire d'estimer la réponse  $R_{det}$  du détecteur en DL par watt. On doit donc faire varier la puissance de façon contrôlée, et obtenir une valeur correspondante sur l'image en DL. La puissance en sortie du MIRcat ne peut pas être directement contrôlée. En effet, le paramètre permettant d'augmenter la puissance est le courant appliqué aux bornes de chaque QCL. Il faut donc dans un premier temps savoir à quelle puissance (W) correspond chaque courant (mA). Pour cela, un PM est placé en sortie du MZI, à l'emplacement de l'ATTO320, et la courbe de la puissance en sortie de MZI en fonction du courant  $I$  peut être obtenue. On peut calculer la puissance correspondantes sur un pixel au centre du détecteur avec les Eq.4.7 et 4.8. Le PM en sortie du MZI est ensuite remplacé par le détecteur ATTO320 afin de connaître les niveaux

digitaux correspondant à chaque puissance incidente<sup>7</sup>. On peut donc tracer pour tous les pixels de l'image un graphe linéaire  $Val_{pix} = f(P_{pix})$ . La pente de la droite obtenue correspond alors à  $R_{det}$ , qui est le nombre de niveaux digitaux par watts reçus sur un pixel. Connaissant cette réponse, on peut alors convertir les fluctuations de l'Eq.4.18 en watts :

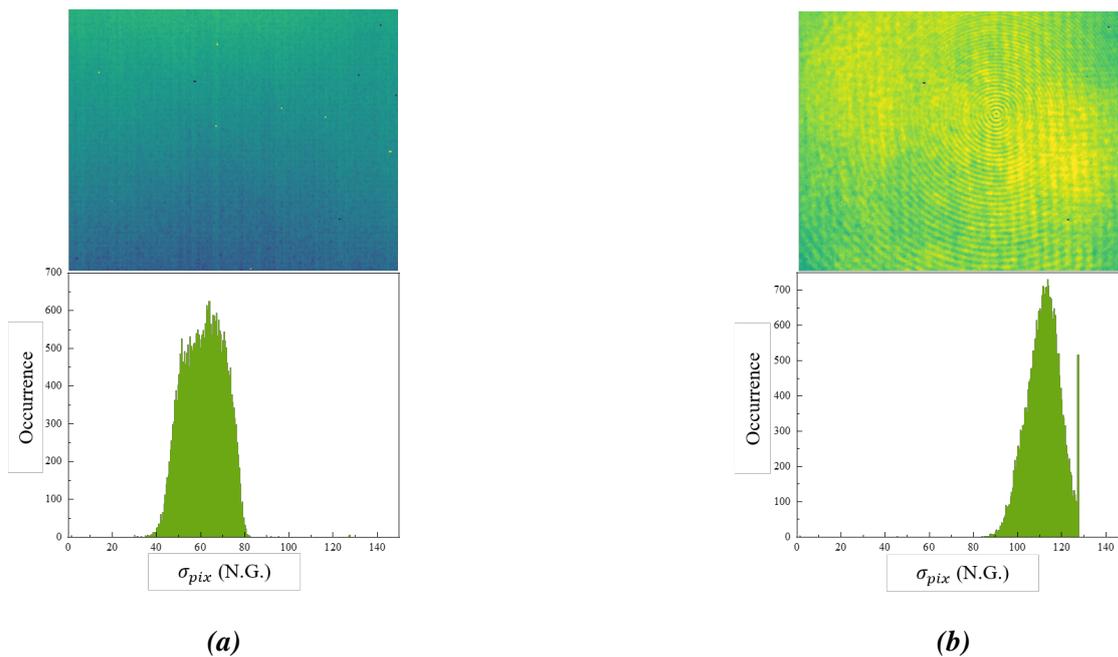
$$\sigma_{pix}[W] = \frac{\sigma_{pix}[DL]}{R_{det}[DL/W]} \quad (4.19)$$

Les courbes pourront alors être comparées à l'étude photométrique réalisée en Sec.II.

## II.2.2 Résultats et comparaison à l'étude théorique

### Mesure du bruit temporel en niveaux digitaux

Afin de mesurer le bruit temporel sur le détecteur, pour chaque courant correspondant à une puissance incidente connue, 50 images sont acquises successivement. A l'aide du programme Python, une image est acquise toutes les 0.5 s environ. L'Eq.4.18 est applicable à chaque pixel du détecteur. On peut alors reconstruire une image témoin à la fois des variations spatiales et temporelles.

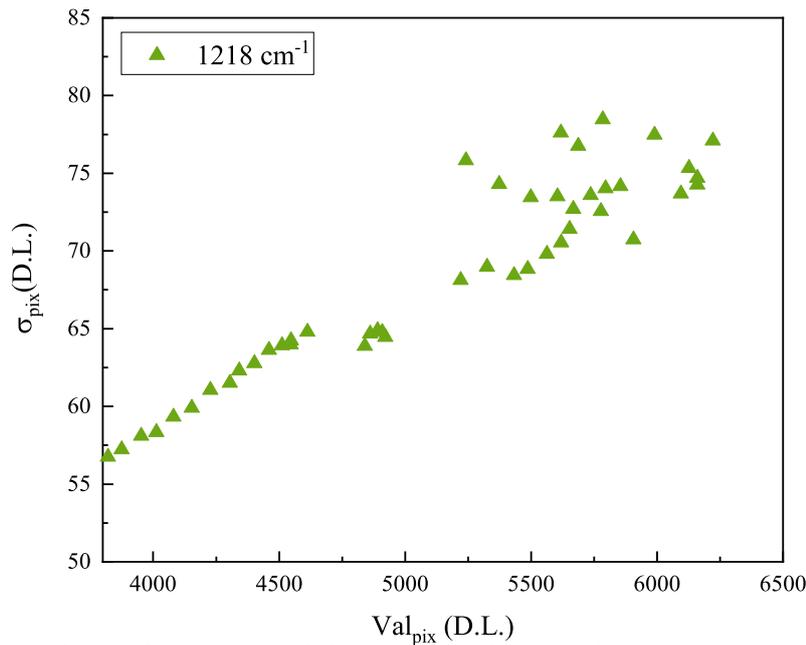


**FIGURE 4.4** – Images des écarts types sur 50 mesures et histogramme correspondants à  $1218 \text{ cm}^{-1}$  (a) sans laser (310 mA) et (b) au courant faisant saturer l'ATTO320 (550 mA).

Sur une image complète, chaque pixel peut voir des fluctuations de puissance différentes. La Fig.4.4 illustre les disparités spatiales des variations de puissance sur l'entièreté de la matrice. On y voit alors les images des écarts types en DL sur 50 mesures laser éteint (a) et à puissance

7. Pour optimiser la concordance des mesures de bruit et de réponse, les deux sont réalisées en même temps. A chaque puissance, on relève à la fois la valeur moyenne des pixels au centre du détecteur (réponse) et l'écart type (bruit temporel) sur les 50 mesures.

saturante (b). On remarque des inhomogénéités spatiales dues aux optiques du système d'imagerie et au faisceau laser imparfait, et on constate également que le bruit temporel augmente avec la puissance incidente. Les histogrammes des valeurs de  $\sigma_{pix}$  montrent l'étalement spatial du bruit temporel. Pour éviter de prendre en compte les disparités spatiales entre les pixels, on choisit d'étudier un seul pixel au centre du détecteur, là où se trouve généralement l'espèce à analyser et où la puissance incidente est la plus importante. Le bruit est donc calculé sur un unique pixel au centre de l'image. Ainsi, on obtient une valeur de bruit pour chaque courant, donc pour chaque puissance laser.



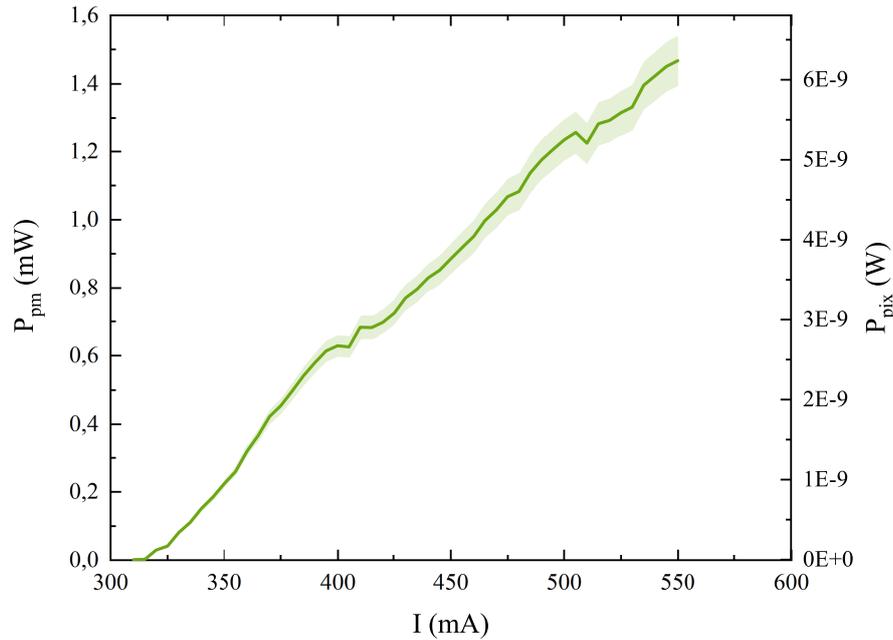
**FIGURE 4.5** – Courbes de bruit temporel d'un pixel en fonction de sa valeur, en configuration interférométrique.

La courbe du bruit de la Fig.4.5 est pour l'instant obtenue en DL. On retrouve, à l'origine de cette courbe, une valeur d'offset à 3800 DL en abscisse avec un écart type à 57 DL en ordonnée. Une fois le laser allumé, le bruit augmente linéairement par rapport aux valeurs des pixels. Pour tenter d'évaluer quelle est la source principale de ce bruit, nous devons d'abord convertir ces valeurs en puissance. Pour cela, on doit évaluer la réponse  $R_{det}$  du détecteur.

### *Calibration et mesure de la réponse du détecteur infrarouge*

La calibration des mesures se fait grâce au PM400, sachant que l'incertitude sur ses mesures de puissance sont données à  $\pm 5\%$  par le constructeur. Le PM est placé en sortie du MZI, à l'emplacement du détecteur IR, et on relève les valeurs de puissance pour chaque commande en courant. On fait débiter les mesures 20 mA avant le courant minimum pour bien distinguer la transition de puissance au niveau du seuil.

La Fig.4.6 est la réponse du laser en puissance en fonction du courant, où  $P_{pm}$  est la puissance donnée par le PM. L'axe des ordonnées de gauche donne la puissance directement relevée sur le PM, tandis que l'axe de droite donne la puissance correspondante sur un unique pixel. La



**FIGURE 4.6** – Puissance mesurée ( $P_{pm}$ ) et puissance correspondante  $P_{pix}$  calculée sur un microbolomètre en fonction du courant du QCL. Mesure effectuée à  $\nu = 1218 \text{ cm}^{-1}$ . L'incertitude de 5 % sur les mesures du PM est représentée en vert clair autour de la courbe principale.

conversion est faite suivant les mêmes calculs qu'en Sec.II.1.3. D'après l'Eq.4.7, un pixel au centre du détecteur reçoit donc la puissance  $P_{pix}$  telle que :

$$\begin{aligned} P_{pix} &= \frac{P_{pm}}{3.39 \times 10^{-5}} \times S_{pix} \\ &= P_{pm} \times 4.25 \times 10^{-6} \end{aligned} \quad (4.20)$$

On veut mesurer la réponse du détecteur sur la gamme de puissances utilisée durant les expériences, c'est à dire du courant seuil à partir duquel le laser émet des photons, jusqu'au courant auquel le détecteur commencera à saturer.

Sur l'intégralité de la matrice ATTO320, chaque pixel peut avoir une réponse différente. Cette variation de la réponse en fonction du pixel choisi est illustrée par la Fig.4.7, représentant la réponse de trois pixels différents pour le même nombre d'onde  $1218 \text{ cm}^{-1}$ . Or, notre objectif est ici d'estimer un ordre de grandeur des variations de puissance sur un pixel. On choisit donc d'utiliser une valeurs moyenne de  $R_{det}$  sur les réponses de dix pixels. Chaque pixel a une réponse linéaire du type  $ax + b$ , avec  $a$  la réponse du détecteur en DL/nW et  $b$  l'origine, qui correspond à la contribution du rayonnement de fond, laser éteint. La valeur à l'origine correspond à l'offset et est située autour de 3000 DL. Lors du changement de puissance du faisceau laser, celui-ci n'étant pas parfaitement homogène spatialement à son arrivée sur le détecteur, la puissance reçue par un unique pixel peut être affectée par les variations spatiales de puissance au cours de la mesure, ce qui peut expliquer pourquoi les courbes ne sont pas parfaitement linéaires. En moyenne (sur 10 pixels), la réponse des bolomètres est de 740 DL par nW. Cette valeur sera utilisée dans la suite pour la conversion du bruit en DL en puissance. Si l'on convertit l'offset en puissance, cela donne une valeur d'environ 5 nW, ce qui est du même ordre de grandeur que le rayonnement de l'environnement à température ambiante que nous avons trouvées

lors de l'étude photométrique, sachant qu'il a été surestimé à 10 nW.

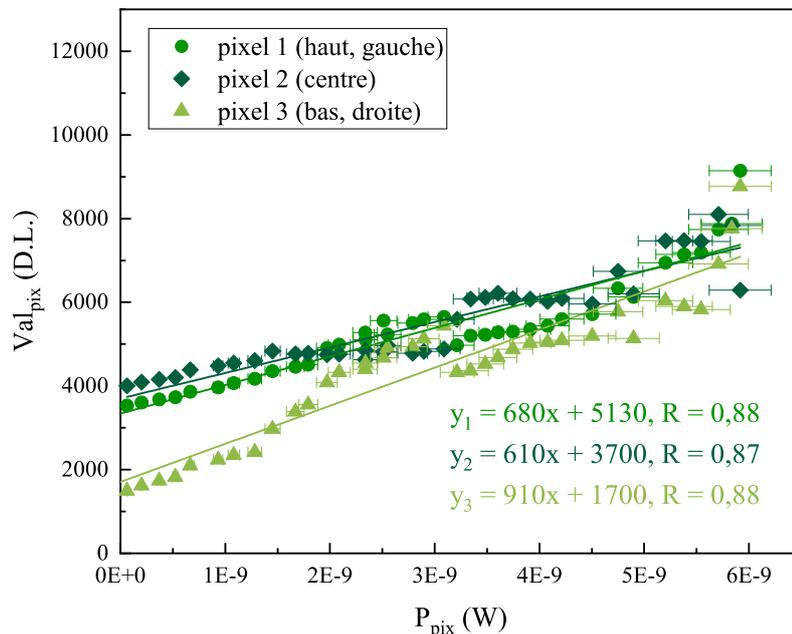


FIGURE 4.7 – Réponse de trois pixels de l'ATTO320 en fonction de la puissance incidente, à 1218 cm<sup>-1</sup>.

### Courbes de bruit finales

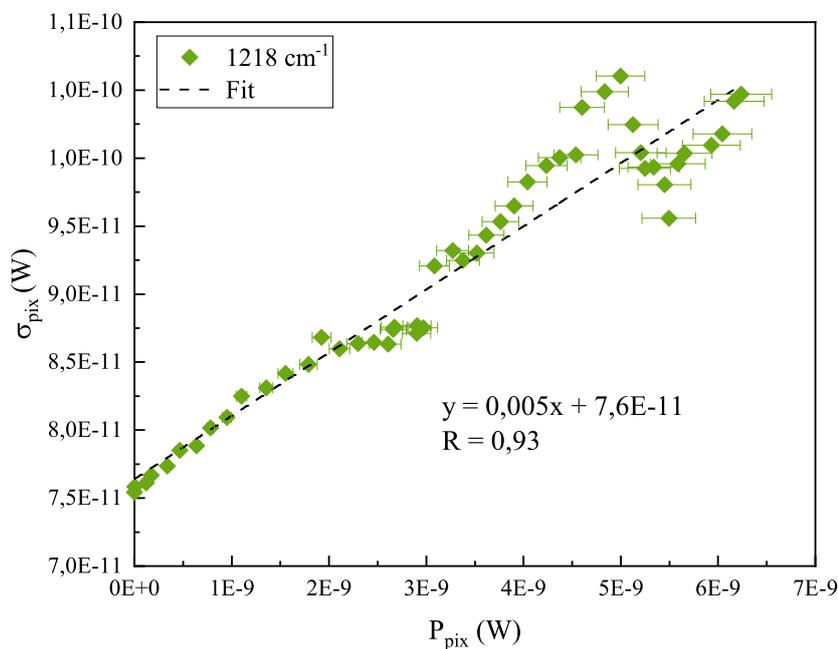
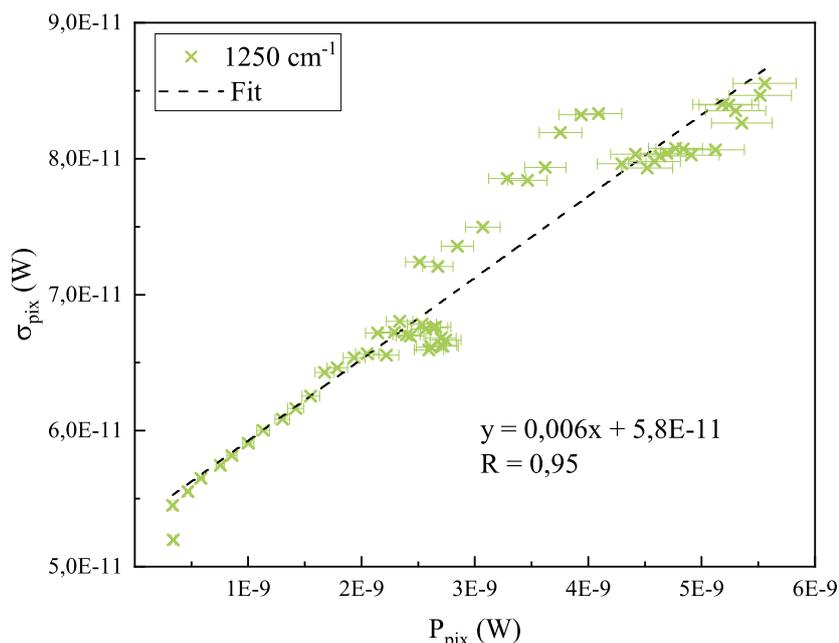


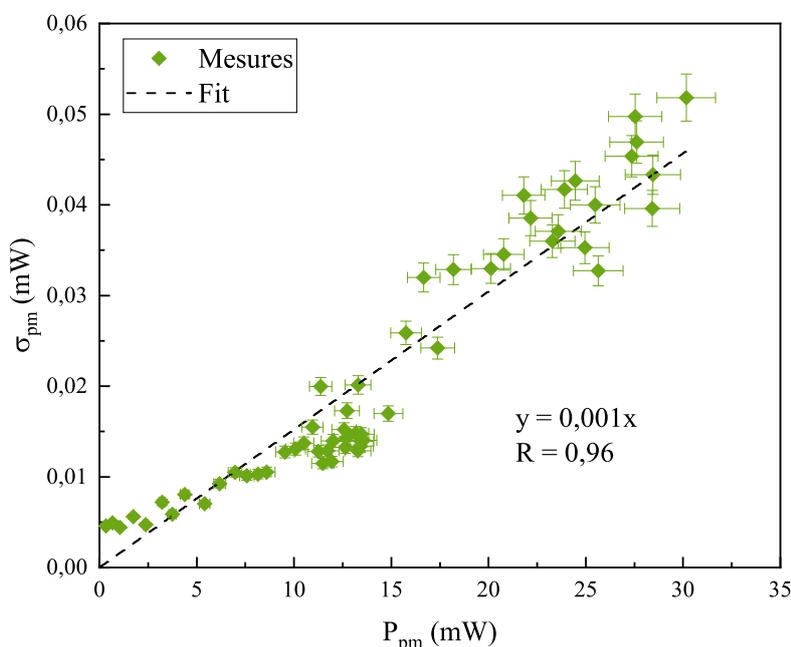
FIGURE 4.8 – Courbe de bruit temporel du système en fonction de la puissance incidente sur un pixel en configuration interférométrie (1218 cm<sup>-1</sup>).

Finalement, grâce à l'Eq.4.19 appliquée à la Fig.4.5, en connaissant la réponse  $R_{det}$  moyenne d'un pixel du détecteur (740 DL/nW), le bruit en puissance peut être calculé et tracé en fonction de la puissance incidente du laser. Les courbes obtenues en configuration interférométrie et absorption sont présentées respectivement sur les Fig.4.8 (à 1218 cm<sup>-1</sup>) et 4.9 (à 1250 cm<sup>-1</sup>).



**FIGURE 4.9** – Courbes de bruit temporel du système en fonction de la puissance incidente sur un pixel en configuration absorption ( $1250 \text{ cm}^{-1}$ ).

Les fits linéaires de ces courbes de bruit seront utilisées par la suite pour le calcul de la LOD.



**FIGURE 4.10** – Bruit temporel du laser (sur 100 mesures) en fonction de sa puissance, mesuré au PM PM400, à  $1218 \text{ cm}^{-1}$ .

A l'origine de ces courbes, on retrouve bien une valeur du bruit sans laser autour de l'ordre de dizaines de pW (76 pW sur la Fig.4.8 et 58 pW sur la Fig.4.9). La NEP du détecteur, sans source laser, est de 10 pW. La différence avec la NEP donnée par le constructeur peut s'expliquer par notre utilisation particulière du détecteur. En effet, en utilisation normale, le détecteur

observe une scène à température ambiante, pour laquelle la NEP est donnée à 10 pW. Dans notre cas, nous observons un faisceau laser en incidence normale sur le détecteur, et nous avons réglé les paramètres de l'ATTO320 de façon à maximiser la dynamique dans ce contexte. Ceci peut alors expliquer un niveau de bruit différent en l'absence de faisceau laser. Nous avons vu dans l'étude photométrique que le bruit photonique du laser était négligeable. Ceci est confirmé par cette courbe de bruit qui n'évolue pas en racine comme le ferait un bruit de photons, mais de façon linéaire. Les pentes des droites ont des valeurs similaires dans les deux configurations, on peut donc en déduire que sur l'échelle de temps des mesures de bruit (25 s par valeur de puissance), la dérive de phase est négligeable, le montage interférométrique peut donc être considéré comme stable. Aussi, les fluctuations temporelles de puissance sont de l'ordre du pourcent, ce qui est du même ordre de grandeur que les 2 % théoriques. Ceci laisse à penser que les variations de puissance sont liées aux fluctuations du laser, d'autant plus que le bruit augmente clairement avec la puissance du laser. Il peut alors être intéressant de mesurer le bruit temporel du laser en sortie de MZI grâce à un PM. C'est ce que représente la Fig.4.10.

La Fig.4.10 est obtenue à  $1218 \text{ cm}^{-1}$  en plaçant le PM en sortie du MZI, sans la présence des échantillons, ni des lentilles, afin de ne prendre en compte que le bruit dû au laser. A chaque puissance du laser, 100 mesures sont réalisées et le bruit correspond à l'écart type sur ces mesures. La courbe obtenue nous permet sans aucun doute de constater une augmentation du bruit avec la puissance laser. Cependant, la pente est plus faible que pour les mesures du bruit temporel des Fig.4.8 et 4.9. Cette différence peut être due au fait que les constantes de temps du PM400 et de l'ATTO320 n'ont pas les mêmes valeurs. D'après les mesures effectuées, nous pouvons dire que la source principale du bruit mesuré provient du laser. Ces courbes de bruit temporel seront utilisées dans la suite de ce chapitre pour calculer la LOD du système dans différents cas de figure. Dans la suite du chapitre, on supposera que le bruit a la même dépendance en fonction de la puissance détectée, bien que la variation de puissance ne soit pas causée par un changement de courant, mais par la traversée des échantillons hydratés par le faisceau laser. De plus, les mesures précédentes ont été réalisées à un seul nombre d'onde. Lors du calcul de la LOD, elles seront utilisées en admettant l'hypothèse que le bruit et la réponse du détecteur à chaque nombre d'onde est du même ordre de grandeur sur toute la gamme spectrale de  $8 \mu\text{m}$  à  $12 \mu\text{m}$  couverte. Les résultats obtenus sont donc considérés comme valides pour calculer la LOD à n'importe quelle autre longueur d'onde, donc pour n'importe quel autre pic spécifique à la résine ou à toute autre espèce d'intérêt.

### III Limite de détection du système

La LOD d'une méthode de mesure est la plus faible quantité d'analyte détectable grâce à celle-ci. C'est un paramètre essentiel permettant d'appréhender et de comparer l'efficacité d'un instrument ou d'une méthode de mesure par rapport à une autre. Cette section détaille les calculs de la LOD du système interférométrique construit afin de la comparer à la LOD de la méthode d'absorption sur le même système.

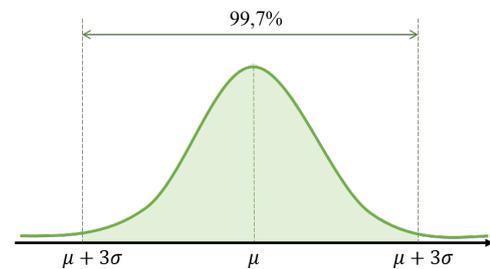
### III.1 Définition de la limite de détection

La LOD du système interférométrique mis en place peut se calculer, et s'écrit telle que [93] :

$$LOD = 3 \times \frac{\sigma}{dP/df|_{f=0}} \quad (4.21)$$

où  $\sigma$  est le bruit en puissance détectée mesuré sur le système, et  $dP/df|_{f=0}$  la sensibilité, autrement dit la variation de puissance induite par l'introduction d'une fraction  $f$  d'espèce d'intérêt. La formule précédente se justifie par l'hypothèse que la distribution des  $N$  valeurs de  $f$  mesurées  $N$  fois par le même système interférométrique suit une loi normale. Pour confirmer cette hypothèse, il faudrait répéter les mesures interférométriques décrites au Chap.3 un nombre suffisant de fois (généralement  $N > 30$ ). On admet alors l'hypothèse précédente, ce qui permet d'utiliser des concepts statistiques tels que l'intervalle de confiance à 3 sigma, également appelé intervalle de confiance à 99.7 %.

Cela signifie que si une distribution est normale, alors 99.7 % des mesures se situent à l'intérieur de trois écarts-types de la moyenne. Autrement dit, une LOD égale à  $x$  signifie que la plus petite fraction d'analyte  $f = x$  détectable a 99.7 % de chances d'être due à la présence d'analyte et non pas à une variation de puissance aléatoire due au bruit du système interférométrique.



**FIGURE 4.11** – Schématisation de l'intervalle de confiance à 3 sigma.

Nous voyons donc dans l'Eq.4.21 qu'il est nécessaire de connaître le bruit du système interférométrique, mais également la sensibilité du système, c'est à dire la variation de puissance induite par l'introduction d'une fraction  $f$  d'analyte dans les 50  $\mu\text{m}$  d'eau. Les sections suivantes montrent le protocole de mesure de bruit effectué sur le MZI construit, ainsi que le calcul de la sensibilité dans les différents cas de figure (interférométrie quelque soit le déphasage, absorption). Ces deux éléments permettront alors d'obtenir la LOD dans différents cas de figures. Les calculs permettront aussi de cartographier la LOD dans le cas de plusieurs espèces chimiques d'intérêt, en fonction de la longueur d'onde et du déphasage initial. Ainsi, les paramètres de mesure optimaux pourront être déterminés pour différentes espèces de polymères de MP mais également dans le cas des tissus hydratés.

### III.2 Calcul de la limite de détection

Dans cette section, le calcul de la LOD est appliqué à différentes méthodes de mesures interférométriques en plus de l'absorption. En effet, en configuration interférométrique, nous distinguerons deux méthodes : l'interférométrie simple, et la méthode PSI. L'interférométrie simple n'a pas été mise en place pour les expériences du Chap.3 et est en réalité difficile à mettre en oeuvre du fait de la maîtrise complexe du contrôleur piezo-électrique utilisé. Cependant, elle est intéressante à étudier puisqu'elle consiste à réaliser une seule image interférométrique à un couple de paramètres donné  $(\alpha, \nu)$ . Il s'agit donc d'une méthode de mesure hypothétique dont

l'étude de la LOD pourrait permettre de mettre en avant l'avantage du degré de liberté supplémentaire lié au déphasage  $\alpha$ . Elle pourrait servir non pas à identifier la nature des molécules, mais plutôt à détecter de petites variations de puissance dues à la présence de faibles concentrations ou épaisseurs d'une molécule connue. La méthode PSI, quant à elle, est la même que celle décrite au Chap.3, Sec.III.1. La Fig.4.12 montre les étapes effectuées pour la détermination de la LOD de notre montage MZI. Pour calculer la LOD, il est nécessaire de connaître le bruit en sortie du MZI, à l'emplacement de l'ATTO320, ce qui a été mesuré en Sec.II.

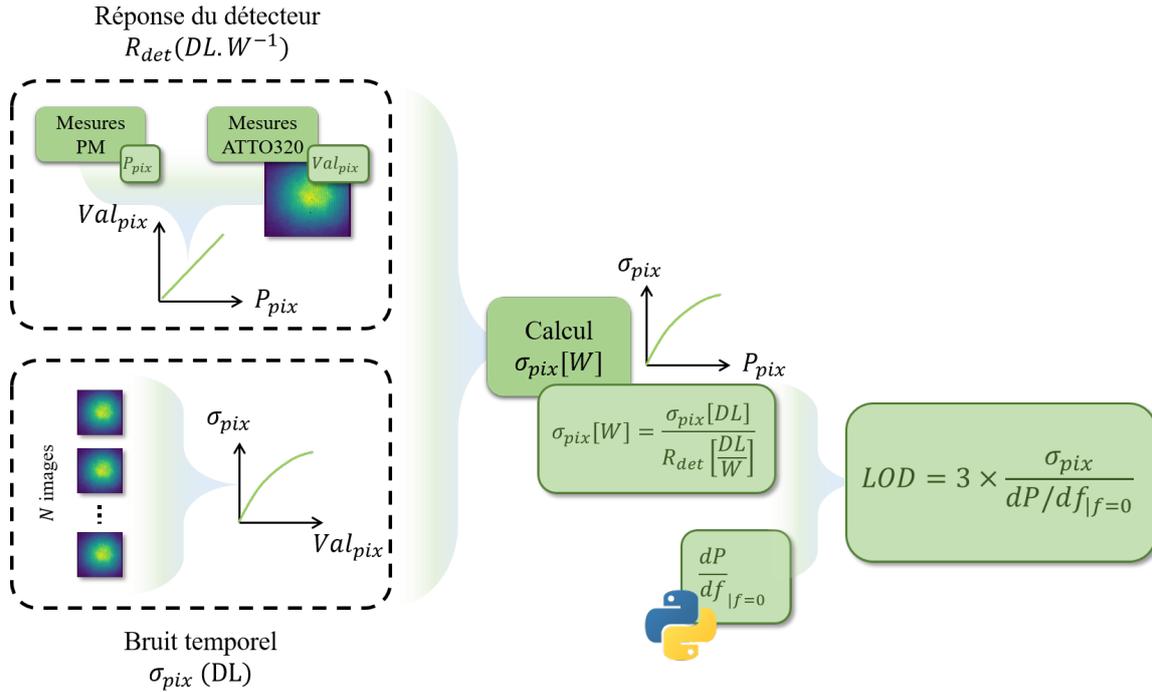


FIGURE 4.12 – Schématisation de la méthode de mesure de LOD du système

Dans le cas de la mesure de phase absolue, le bruit de la méthode PSI suit la même logique que la loi de propagation des incertitudes pour une fonction  $g$  :  $\delta g = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial g}{\partial X_i}\right)^2 \delta X_i^2}$ . Autrement dit, il s'agit de la somme quadratique des contributions de chaque bruit à la grandeur mesurée, ici la phase  $\Phi$ .

Connaissant la formule de la méthode PSI permettant de retrouver la phase (Chap.3 Sec.III.1, Eq.3.4), l'écart type sur la phase mesurée s'écrit donc :

$$\sigma_{\Phi} = \sqrt{\left(\frac{\partial \Phi}{\partial P_0} \sigma_{P_0}\right)^2 + \left(\frac{\partial \Phi}{\partial P_{\pi/2}} \sigma_{P_{\pi/2}}\right)^2 + \left(\frac{\partial \Phi}{\partial P_{\pi}} \sigma_{P_{\pi}}\right)^2 + \left(\frac{\partial \Phi}{\partial P_{3\pi/2}} \sigma_{P_{3\pi/2}}\right)^2} \quad (4.22)$$

Ce qui donne :

$$\sigma_{\Phi} = \frac{1}{P_{3\pi/2}^2 - 2P_{3\pi/2}P_{\pi/2} + P_{\pi/2}^2 + (P_0 - P_{\pi})^2} \times \sqrt{(P_0 - P_{\pi})^2 [\sigma_{P_{3\pi/2}}^2 + \sigma_{P_{\pi/2}}^2] + (P_{3\pi/2} - P_{\pi/2})^2 [\sigma_{P_0}^2 + \sigma_{P_{\pi}}^2]} \quad (4.23)$$

En l'absence d'espèce d'intérêt,  $P_{3\pi/2} = P_{\pi/2}$ , ce qui implique  $\sigma_{P_{3\pi/2}} = \sigma_{P_{\pi/2}}$ . L'équation précédente se simplifie :

$$\sigma_{\Phi} = \sqrt{2} \frac{\sigma_{P_{\pi/2}}}{P_0 - P_{\pi}} \quad (4.24)$$

Pour la méthode PSI, c'est donc l'Eq.4.24 qui sera utilisée, en identifiant  $\sigma_{P_{\pi/2}}$  sur la courbe du bruit  $\sigma_{pix}$  mesuré en fonction de la puissance incidente.

En parallèle, la sensibilité  $dP/df$  à  $f = 0$ , doit être calculée ( $d\Phi/df$  pour la méthode PSI). Celle-ci varie en fonction de la méthode de mesure, et traduit la variation de puissance (ou de phase) mesurée à l'introduction d'une infime fraction d'espèce d'intérêt dans l'eau. Pour la méthode PSI, l'Eq.4.21 devient :

$$LOD_{\Phi} = 3 \times \frac{\sigma_{\Phi}}{d\Phi/df|_{f=0}} \quad (4.25)$$

### III.3 Sensibilité de chaque méthode de mesure

Le dernier élément pour le calcul de la LOD est la sensibilité des différentes méthodes de mesure. Il s'agit de calculer analytiquement la variation de puissance ou de phase induite par une faible variation de fraction  $f$  d'espèce d'intérêt dans l'échantillon de mesure, autrement dit, la dérivée par rapport à  $f$  de la quantité mesurée. La LOD étant la plus petite quantité d'espèce d'intérêt détectable dans l'eau, c'est la sensibilité à  $f = 0$  qui est prise en compte dans le calcul. En fonction de la méthode de mesure dont on doit déterminer la LOD, la formule analytique de la sensibilité est différente. En absorption, sur un seul bras du MZI, la sensibilité est telle que :

$$\frac{dP_{abs}}{df} = -\frac{4\pi}{\lambda} \Delta k d \times P_{pix} R_1 T_2 \times e^{-\frac{4\pi}{\lambda} k_{eff} d} \quad (4.26)$$

où, pour rappel, dans le cas du modèle *couches*,  $k_{eff} = k_e \times (1 - f) + k_{esp} \times f$  et  $\Delta k = |k_{esp} - k_e|$  (voir Chap.2 Sec.III.1.1).

Pour les mesures en interférométrie simple, la sensibilité en terme de puissance est telle que :

$$\begin{aligned} \frac{dP_{int}}{df} = & -P_{pix,0} \frac{4\pi}{\lambda} d e^{-\frac{4\pi k_e d}{\lambda}} \times e^{-\frac{2\pi \Delta k f d}{\lambda}} \\ & \times \left[ \Delta k R_1 T_2 + \sqrt{R_1 T_1 R_2 T_2} \left( \Delta k \cos \left( \frac{2\pi(n_{eff} - n_e)d}{\lambda} + \alpha \right) + \Delta n \sin \left( \frac{2\pi(n_{eff} - n_e)d}{\lambda} + \alpha \right) \right) \right] \end{aligned} \quad (4.27)$$

où  $n_{eff} = n_e \times (1 - f) + n_{esp} \times f$  et  $\Delta n = |n_{esp} - n_e|$ . Le terme en facteur de l'expression entre crochets dépend de la variation d'absorption. Le second terme entre crochets dépend à la fois de la variation de phase et d'absorption de l'espèce. Enfin, le dernier terme entre crochets dépend uniquement de la variation de phase de l'espèce. L'absorption de l'eau joue également un rôle pour chaque terme de l'équation.

Enfin, pour la méthode PSI, la mesure finale est celle de la phase  $\Phi$ . Dans ce cas, la sensibilité décrit alors la plus petite variation de phase détectable à l'ajout d'une faible fraction d'espèce d'intérêt dans l'eau. Ainsi,

$$\frac{d\Phi}{df} = \frac{2\pi}{\lambda} d \Delta n \quad (4.28)$$

A  $f = 0$ , on a :

$$\begin{aligned}
 n_{eff} &= n_e \\
 k_{eff} &= k_e \\
 P_{ref} &= P_{pix,0} R_2 T_1 e^{-\frac{4\pi k_e d}{\lambda}}
 \end{aligned} \tag{4.29}$$

Le Tab.4.1 ci-dessous est un récapitulatif des sensibilités finalement obtenues à  $f = 0$  pour chaque méthode de mesure.

Absorption	$\frac{dP_{abs}}{df} _{f=0} = -\frac{P_{ref}}{R_2 T_1} R_1 T_2 \frac{4\pi}{\lambda} \Delta k d$
Interf. simple	$\frac{dP_{int}}{df} _{f=0} = -\frac{P_{ref}}{R_2 T_1} \frac{4\pi}{\lambda} d$ $\times \left[ \Delta k R_1 T_2 + \sqrt{R_1 T_1 R_2 T_2} \left( \Delta k \cos(\alpha) + \Delta n \sin(\alpha) \right) \right]$
PSI (phase)	$\frac{d\Phi}{df} _{f=0} = \frac{2\pi}{\lambda} d \Delta n$

**TABLE 4.1** – Sensibilités à  $f = 0$  des différentes méthodes de mesure dans le cas du modèle couches.

Dans ce chapitre, les calculs de LOD seront également effectués dans le cas d'échantillons biologiques, plus particulièrement nous étudierons le cas d'un tissu de biopsie contenant encore intrinsèquement de l'eau. Dans ce cas, le modèle utilisé est donc le modèle *classique*, comme présenté au Chap.2, Sec.III.1.2. Ainsi, tous calculs faits, les sensibilités sont telles que dans le Tab.4.2.

Absorption	$\frac{dP_{abs}}{df} _{f=0} = -\frac{P_{ref}}{R_2 T_1} R_1 T_2 \frac{4\pi}{\lambda} k_{esp} d$
Interf. simple	$\frac{dP_{int}}{df} _{f=0} = -\frac{P_{ref}}{R_2 T_1} \frac{4\pi}{\lambda} d$ $\times \left[ k_{esp} R_1 T_2 + \sqrt{R_1 T_1 R_2 T_2} \left( k_{esp} \cos(\alpha) + n_{esp} \sin(\alpha) \right) \right]$
PSI (phase)	$\frac{d\Phi}{df} _{f=0} = \frac{2\pi}{\lambda} d n_{esp}$

**TABLE 4.2** – Sensibilités à  $f = 0$  des différentes méthodes de mesure dans le cas du modèle classique.

On remarque alors que la sensibilité ne dépend plus que de l'espèce introduite, et non de la différence d'indice entre l'espèce et l'eau comme c'est le cas pour le modèle *couches*.

### III.4 Limite de détection dans le cas de différents échantillons

Afin de bien comprendre comment sont calculées les LOD dans chaque cas, la première espèce étudiée est celle utilisée dans nos mesures : la résine SU-8. Dans ce cas, ce sont donc les équations du modèle *couches* qui seront utilisées. Puis, nous élargirons l'étude à différentes molécules polymères le plus souvent trouvées dans les prélèvements de MP dans l'environnement : le PVC, le PMMA et le PE. Là encore, c'est le modèle *couches* qui sera utilisé. Enfin, l'étude sera réalisée pour le cas de tissu *in vivo*, pour lequel nous utiliserons cette fois le modèle analytique classique. Bien que le détecteur ATTO320 utilisé pour les mesures de bruit ne

permet de réaliser des mesures qu'entre  $8\ \mu\text{m}$  et  $12\ \mu\text{m}$ , le calcul de la LOD est effectué sur un spectre plus large, dans l'hypothèse où il existerait un détecteur équivalent autorisant l'acquisition d'images à n'importe quelle longueur d'onde spécifique de l'espèce d'intérêt. Ceci permet d'observer les variations de la LOD dans différents contextes d'indices de réfraction, et pousser l'étude notamment jusqu'au cas où celui-ci se trouve sous le pic majoritaire de l'eau, autour de  $6\ \mu\text{m}$ . En effet, les LOD en absorption et interférométrie dans cette région du spectre sont particulièrement intéressantes à étudier, notamment pour les mesures *in vivo*, car c'est là où se situe le pic de l'amide I, justement difficile à détecter en absorption à cause de la forte absorbance des tissus hydratés. Pour chaque espèce, trois méthodes seront comparées : l'interférométrie simple, autorisant le degré de liberté supplémentaire du déphasage, la méthode PSI dont la LOD est calculée à partir de la contribution des bruits des quatre images aux déphasages  $0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ , et l'absorption classique.

### III.4.1 Limite de détection dans le cas de la résine SU-8

#### *Interférométrie simple*

Dans le cas d'une mesure dite d'interférométrie simple, c'est à dire d'une mesure directe de puissance en sortie de l'interféromètre, la LOD est calculée à tous les déphasages possibles entre  $0$  et  $2\pi$ , et ce pour chaque longueur d'onde. En fonction du déphasage initial  $\alpha$  entre les deux bras de l'interféromètre avec de l'eau seule dans les deux cuves microfluidiques, la LOD varie. En effet, d'une part, la puissance de la teinte plate en sortie de MZI diffère en fonction de  $\alpha$ , et donc le bruit associé aussi (Fig.4.8). D'autre part, la valeur de la sensibilité change également. Ainsi, il est possible d'obtenir une cartographie de la LOD en fonction du nombre d'onde  $\nu$  et du déphasage initial  $\alpha$ .

Un programme Python permet de calculer la LOD pour tous les couples  $(\nu, \alpha)$  possibles, en utilisant le fit de cette courbe. Pour s'approcher au mieux de la réalité, les paramètres en entrée du programme tels que la puissance en sortie de laser et les coefficients  $T$  et  $R$  des lames semi-transparentes sont ceux mesurés sur le banc dans les conditions expérimentales. Les indices  $k$  et  $n$  de la résine sont ceux respectivement mesurés au FTIR et calculés ensuite grâce aux relations de Kramers Kronig. Ainsi, pour chaque couple  $(\nu, \alpha)$ , la puissance en sortie du MZI sur un pixel est calculée, et le bruit correspondant est déterminé grâce à la courbe de la Fig.4.8. La sensibilité, quant à elle, est représentée pour chaque couple  $(\nu, \alpha)$  sur la Fig.4.14.

Sur la Fig.4.13, l'axe des abscisses correspond au nombre d'onde, l'ordonnée à gauche au déphasage initial, et la LOD est représentée en couleurs. Plus les valeurs de LOD sont faibles, plus elles sont rouges sur le graphique. A l'inverse, plus elles sont importantes, plus elles se rapprochent du bleu.

L'échelle a été inversée par rapport aux représentations habituelles en raison du fait que la LOD est meilleure lorsqu'elle est la plus faible et cela rend le graphique plus intuitif visuellement. Les zones hachurées correspondent aux valeurs de LOD supérieures à la valeur limite de l'échelle, ici 2 %. Les indices de réfraction réel et imaginaire  $n$  et  $k$  de l'espèce d'intérêt, ici la résine SU-8, sont également représentés sur le graphique (axe des ordonnées à droite), ce qui permet de situer les zones où la LOD est optimale par rapport à la réponse spectrale spécifique de l'espèce.

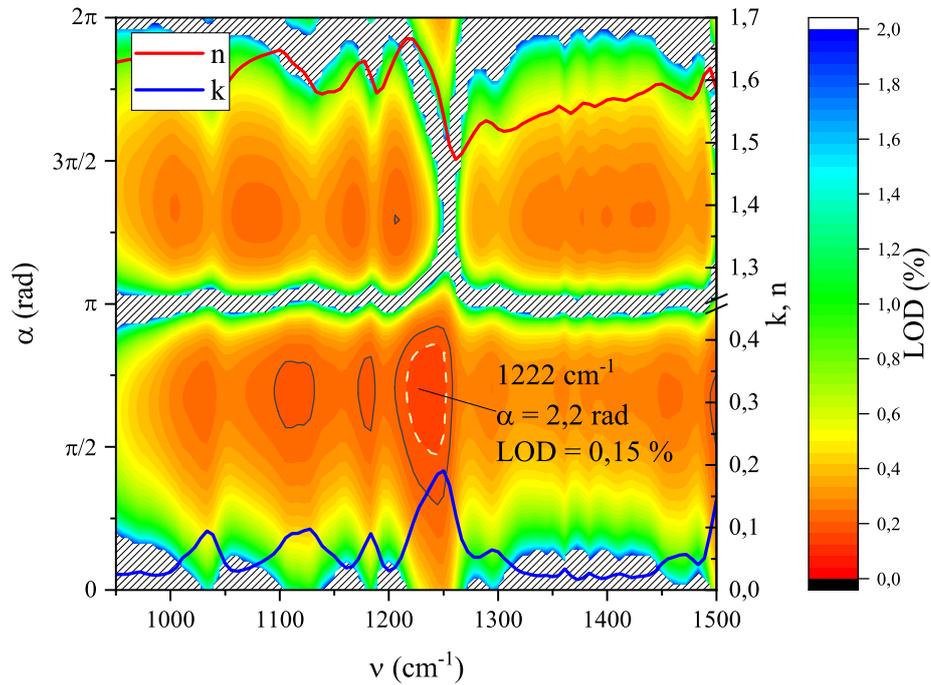


FIGURE 4.13 – Cartographie de la LOD du système interférométrique dans le cas de la résine SU-8.

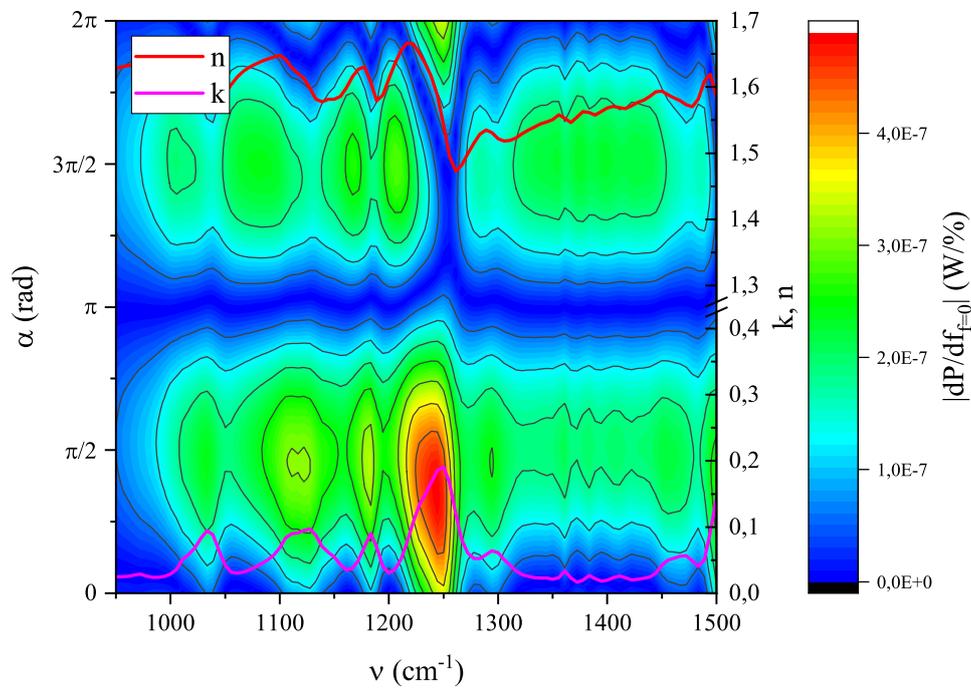


FIGURE 4.14 – Cartographie de la sensibilité du système interférométrique dans le cas de la résine SU-8.

Les zones où la LOD est la plus avantageuse sont mises en évidence par des lignes pointillées.

La représentation de la sensibilité aide à comprendre l'évolution des valeurs de LOD. En effet, on remarque par exemple sur la Fig.4.14 que la sensibilité est moindre aux déphasages autour de  $\pi$ , ce qui implique sur la Fig.4.13 une LOD trop importante. En effet, pour un déphasage de  $\pi$ , on se situe sur le point le plus bas de la sinusoïde, là où la pente est nulle. Autrement dit, ceci traduit qu'en frange sombre, à l'ajout d'une très faible quantité d'analyte dans l'eau, le rapport signal à bruit est très proche de 1, puisqu'on ne dévie que trop peu de la frange sombre, contrairement aux autres déphasages initiaux. En frange claire (0 ou  $2\pi$ ), on se trouve également sur une zone de la sinusoïde où la sensibilité est moindre. Le terme en cosinus de la sensibilité (Tab.4.1) devient positif en frange claire, alors qu'il est négatif en frange sombre. On a donc une meilleure sensibilité en frange claire, notamment à  $1250\text{ cm}^{-1}$ . Par contre, autour des points d'inflexion (déphasages de  $\pi/2$  et  $3\pi/2$ ), la sensibilité est plus importante, ce qui améliore la LOD. Aussi, on remarque qu'autour du nombre d'onde d'absorption à  $1250\text{ cm}^{-1}$ , proche de la valeur de  $\Delta n$  la plus faible (minimum du saut de phase), la LOD est très élevée (hachures), même au point d'inflexion à  $3\pi/2$ . Si on regarde l'équation de la sensibilité dans le Tab.4.1, à  $\pi/2$  et  $3\pi/2$ , le terme en cosinus disparaît, et le terme en sinus devient respectivement positif et négatif, ce qui implique un terme entre crochets plus faible à  $3\pi/2$ , donc une moins bonne sensibilité à ce déphasage. Globalement, on peut conclure qu'en interférométrie, plus la contribution de  $\Delta n$  est importante par rapport à  $\Delta k$ , plus la sensibilité est importante.

Ainsi, en observant les variations de LOD calculées, on peut repérer des zones du spectre où se placer préférentiellement pour optimiser la LOD lors d'éventuelles mesures multispectrales. Par exemple, pour le pic principal à  $1250\text{ cm}^{-1}$ , la LOD peut être optimisée en se plaçant à  $1222\text{ cm}^{-1}$  et avec un déphasage initial situé entre  $\pi/2$  et  $\pi$ . Il est ainsi possible d'atteindre une LOD inférieure à 0.2 %, ce qui correspond à une épaisseur de résine inférieure à 100 nm dans  $50\text{ }\mu\text{m}$  d'eau. L'ajout de 0.15 % de résine implique une variation de puissance de l'ordre de 0.2 nW pour un couple de paramètres  $(\nu, \alpha)$  avec  $\alpha = \pi/2$ . On peut aussi voir cela comme la différence de puissance entre deux zones de l'image avec et sans résine, ou plus généralement, entre deux zones où la différence d'épaisseur de résine est de l'ordre de 100 nm.

Ainsi, cette cartographie montre bien que l'interférométrie autorise un degré de liberté supplémentaire, celui du déphasage initial  $\alpha$ , permettant d'optimiser la LOD du système.

### *Méthode PSI*

Pour rappel, la méthode PSI consiste à effectuer des mesures à quatre déphasages initiaux différents (0,  $\pi/2$ ,  $\pi$ ,  $3\pi/2$ ), et de remonter à une image de phase grâce à la combinaison des quatre images acquises. La LOD résultante se calcule d'après les Eq.4.24 et 4.28. Les déphasages initiaux étant fixés, la courbe de LOD dépend uniquement de la longueur d'onde (voir Fig.4.15).

Dans le cas de la méthode PSI, l'indice imaginaire  $k$  de l'eau et de l'espèce n'a plus d'effet sur la sensibilité, seule la différence d'indice réel  $\Delta n$  influence la dérivée de l'Eq.4.28 (voir Fig.4.16.b). L'absorption de l'eau a par contre un impact sur le calcul du bruit, et donc sur la LOD. La Fig.4.16 montre l'évolution du bruit en fonction du nombre d'onde, d'après l'Eq.4.24.

En effet, l'eau absorbe davantage avant  $1000\text{ cm}^{-1}$ , ce qui explique pourquoi la LOD semble suivre symétriquement les variations de  $n_{res}$ , sauf dans cette zone où elle devient plus élevée sur

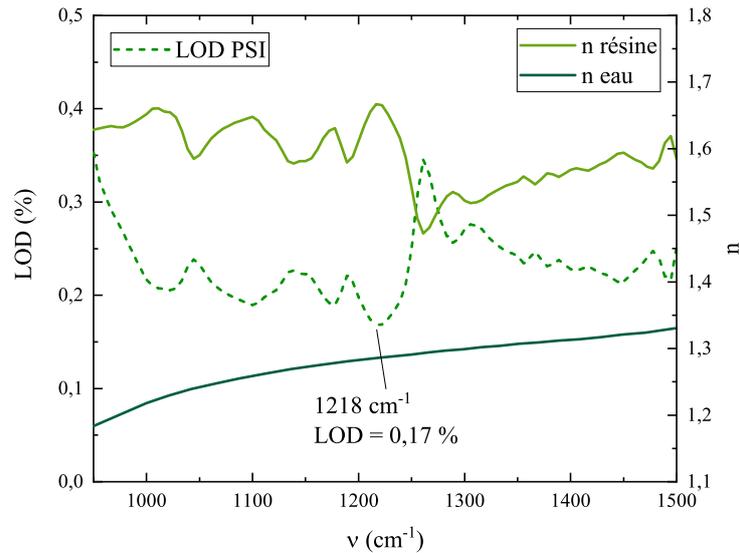


FIGURE 4.15 – Courbe de LOD calculée pour la méthode PSI.

la Fig.4.15. Ainsi, la LOD optimale de cette méthode se trouve à  $1218 \text{ cm}^{-1}$ , avec une valeur de 0.17 %, puisque c'est à cette longueur d'onde que  $\Delta n$  est le plus important, et qu'elle se situe au niveau de l'absorption continue de l'eau. A l'inverse, la LOD la moins avantageuse est située à l'autre extrémité du même saut de phase, à  $1266 \text{ cm}^{-1}$ , qui est la longueur d'onde où l'indice réel est au plus proche de celui de l'eau.

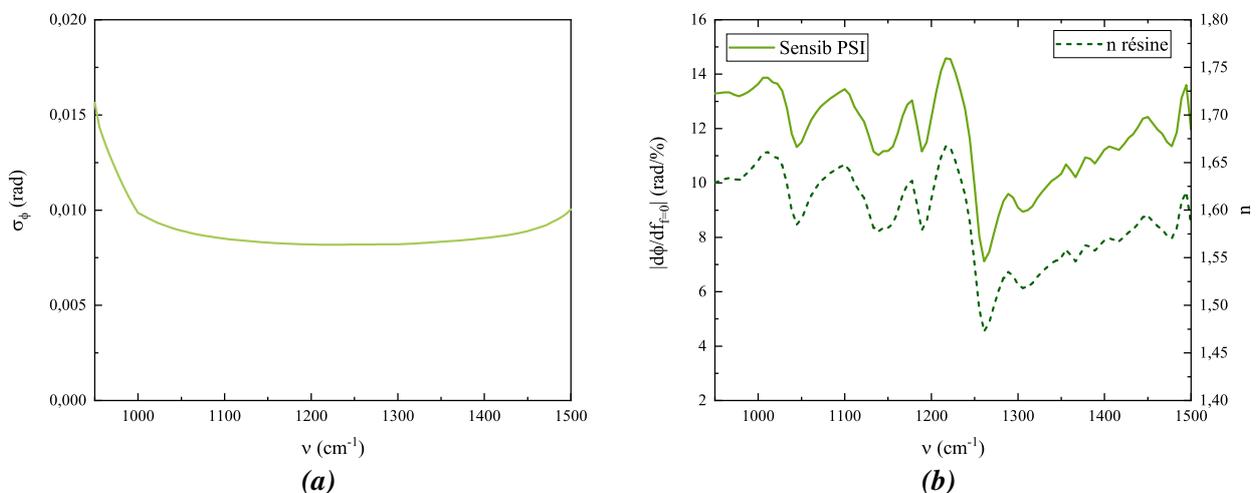


FIGURE 4.16 – (a) Bruit et (b) sensibilité de la méthode PSI dans le cas de la résine SU-8.

De façon générale, la LOD de la méthode PSI dans le cas de la résine se situe entre 0.17 % et 0.35 %, c'est à dire qu'il est possible de détecter entre 85 nm et 175 nm de résine SU-8 dans  $50 \mu\text{m}$  d'eau, ce qui reste inférieur aux épaisseurs que nous avons utilisées expérimentalement (voir Chap.3). Cependant, si des mesures multispectrales étaient à faire, le choix de la longueur d'onde se porterait sur  $1218 \text{ cm}^{-1}$ , là où la LOD est la plus faible, d'autant plus qu'il s'agit d'un nombre d'onde spécifique du saut de phase de l'espèce introduite dans l'eau.

Ainsi, la méthode PSI permet de détecter, avec le montage MZI construit, une épaisseur minimale de 85 nm de photorésine dans  $50 \mu\text{m}$  d'eau, ce qui est du même ordre de grandeur qu'avec

la méthode interférométrique simple. Voyons maintenant si les méthodes interférométriques et l'optimisation de la LOD par le réglage du déphasage initial permettent d'avoir un réel avantage par rapport aux mesures d'absorption.

### Absorption

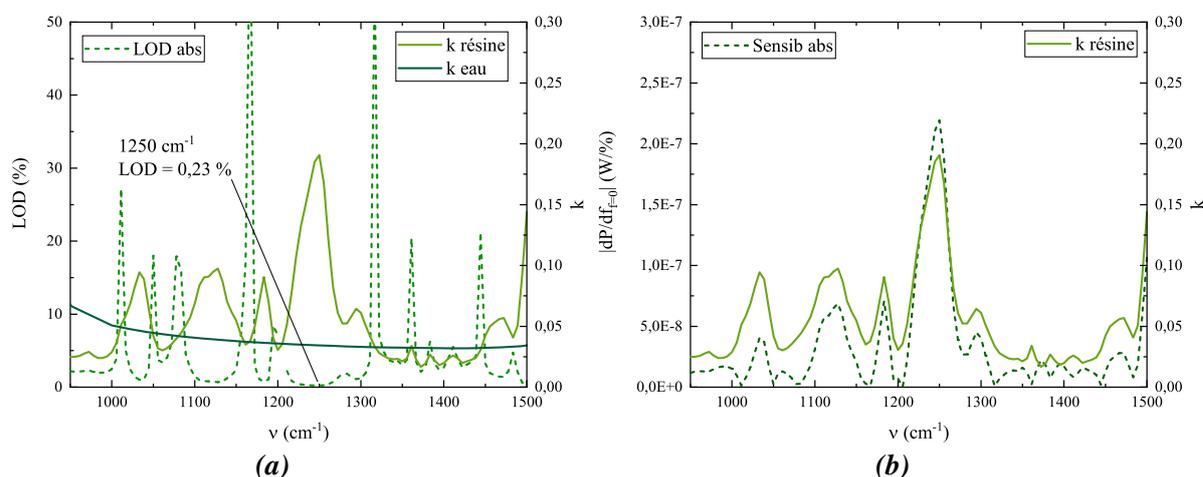


FIGURE 4.17 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'absorption dans le cas de la résine SU-8.

Le calcul de la LOD dans le cas de l'absorption se base sur la courbe de bruit de la Fig.4.9, et sur l'Eq.4.26, dont l'évolution en fonction du nombre d'onde est représentée sur la Fig.4.17.b. La Fig.4.17.a permet de comparer la LOD avec les pics d'absorption spécifiques de la résine. La LOD la plus faible correspond au pic d'absorption le plus important, à  $1250\text{ cm}^{-1}$ . Avec une valeur de  $0,23\%$ , elle reste plus élevée qu'avec les deux méthodes interférométriques, mais l'ordre de grandeur est similaire. On remarque que pour les pics les plus importants ( $1035\text{ cm}^{-1}$ ,  $1127\text{ cm}^{-1}$ ,  $1184\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$ ,  $1295\text{ cm}^{-1}$ ) la LOD est la plus faible (donc la meilleure). Comme attendu, cette première estimation de la LOD dans le cas de la résine montre alors qu'en absorption, avec le modèle *couches*, les pics de l'espèce présentant le plus grand écart d'indice  $k$  par rapport à l'eau devront être privilégiés pour d'éventuelles mesures multispectrales.

A l'inverse, la LOD devient maximale lorsque les pics ont une faible valeur ( $1360\text{ cm}^{-1}$ ,  $1384\text{ cm}^{-1}$ ). Si l'on compare les courbes de LOD à celles des indices de l'eau et de la résine, on se rend compte que la LOD est maximale et tend vers l'infini lorsque la différence d'indice  $\Delta k$  tend vers 0. Ceci est dû à la sensibilité de l'absorption dans le cas du modèle *couches*, où la contribution de l'eau entre également en jeu, puisque l'ajout d'une quantité d'espèce (ici la résine) revient à retirer une quantité d'eau équivalente.

### III.5 Limite de détection dans le cas de microplastiques : PVC, PMMA, PE

Afin de confirmer le comportement de la LOD dans le cas du modèle *couches*, il est intéressant de la calculer également dans les cas des MP les plus répandus dans l'environnement, comme le PVC, le PMMA, ou le PE. Ces calculs permettront également d'avoir une idée des pics les plus avantageux à viser pour d'éventuelles mesures multispectrales.

*Interférométrie simple*

Les différents graphiques présentés dans la section précédente pour la résine ont été également calculés pour trois des MP retrouvés majoritairement dans l'environnement : le PVC, le PMMA et le PE.

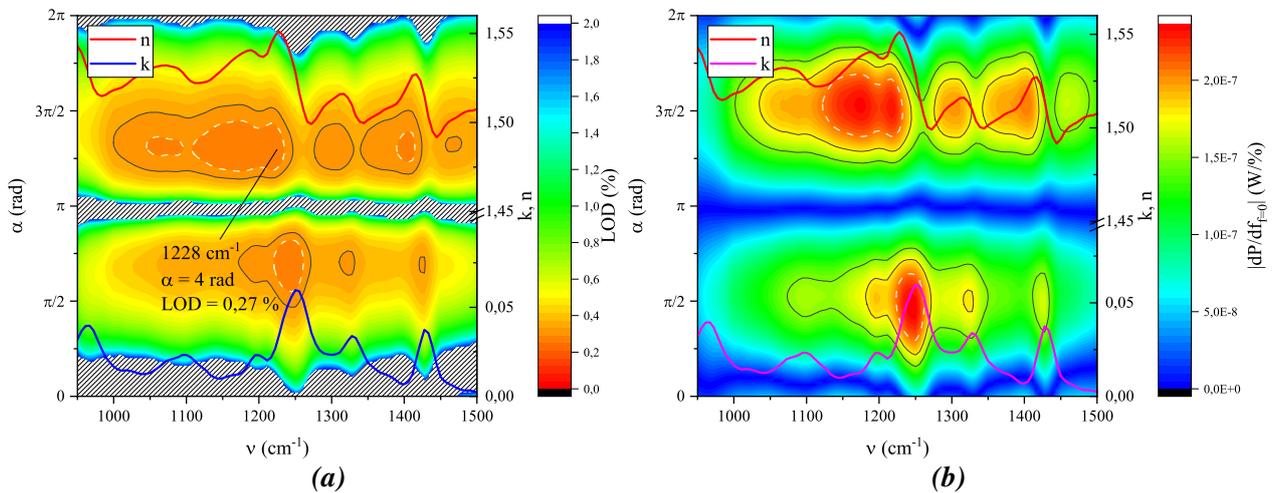


FIGURE 4.18 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'interférométrie dans le cas du PVC.

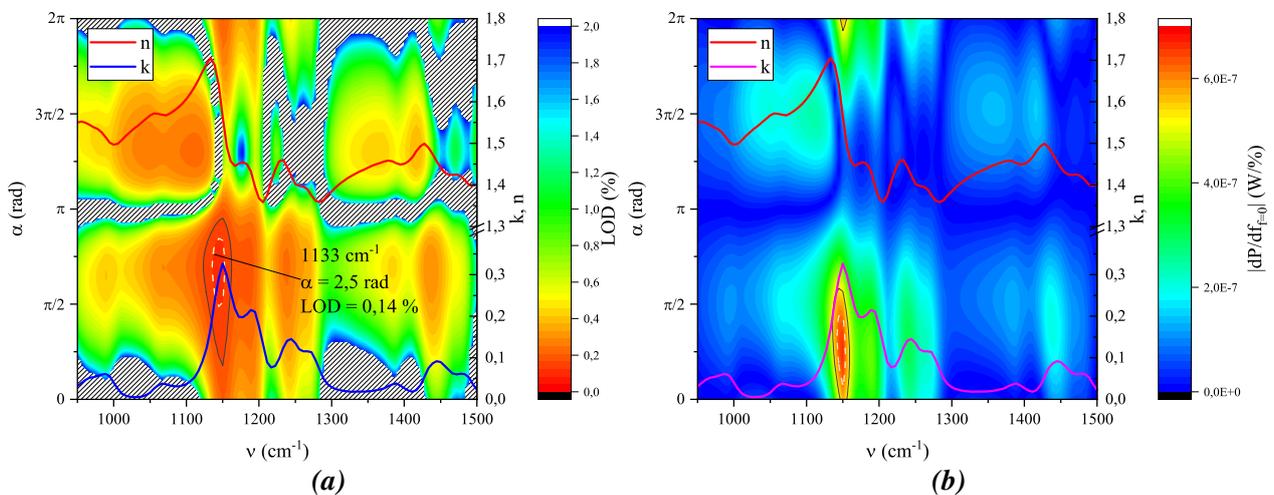


FIGURE 4.19 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'interférométrie dans le cas du PMMA.

La Fig.4.18 représente les cartographies de la LOD et de la sensibilité pour la méthode interférométrique simple du PVC, la Fig.4.19 celles du PMMA et la Fig.4.20 celles du PE. On remarque que les évolutions de la LOD suivent la même logique que pour la résine. En effet, la zone autour de  $\alpha = \pi$  présente généralement une LOD plus élevée et est donc à éviter. Autour d'une frange claire (0 ou  $2\pi$ ), la LOD est également mauvaise. La sensibilité est la meilleure cependant lorsque l'on s'approche d'un déphasage de  $\pi/2$  ou  $3\pi/2$ , aux points d'inflexion. Les différences d'indices  $\Delta n$  et  $\Delta k$  ont aussi une influence sur la sensibilité. Ainsi, pour le PMMA par exemple (Fig.4.19.b), qui présente un indice d'absorption très élevé par rapport à celui de

l'eau et des sauts d'indice  $n$  très importants, on remarque que certaines zones sont à éviter, même autour d'un déphasage de  $\pi/2$ . Dans le cas du PE, le fort contraste d'indice avec l'eau sur toute la gamme spectrale fait apparaître une faible LOD, mais ce n'est pas nécessairement exploitable pour des mesures multispectrales car ces longueurs d'onde ne correspondent pas à un pic d'absorption spécifique de cette espèce.

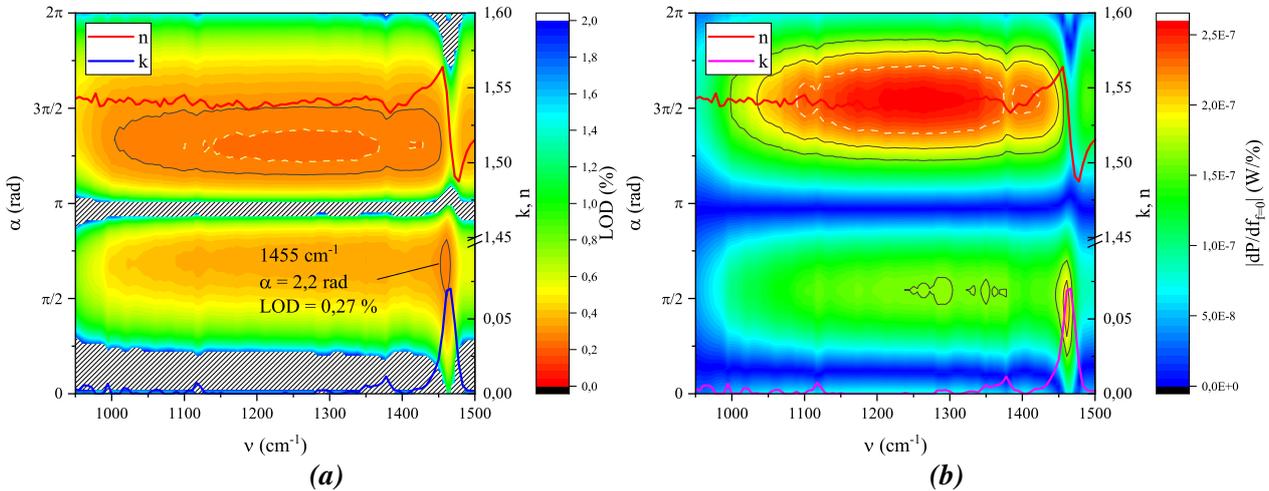


FIGURE 4.20 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'interférométrie dans le cas du PE.

**Méthode PSI**

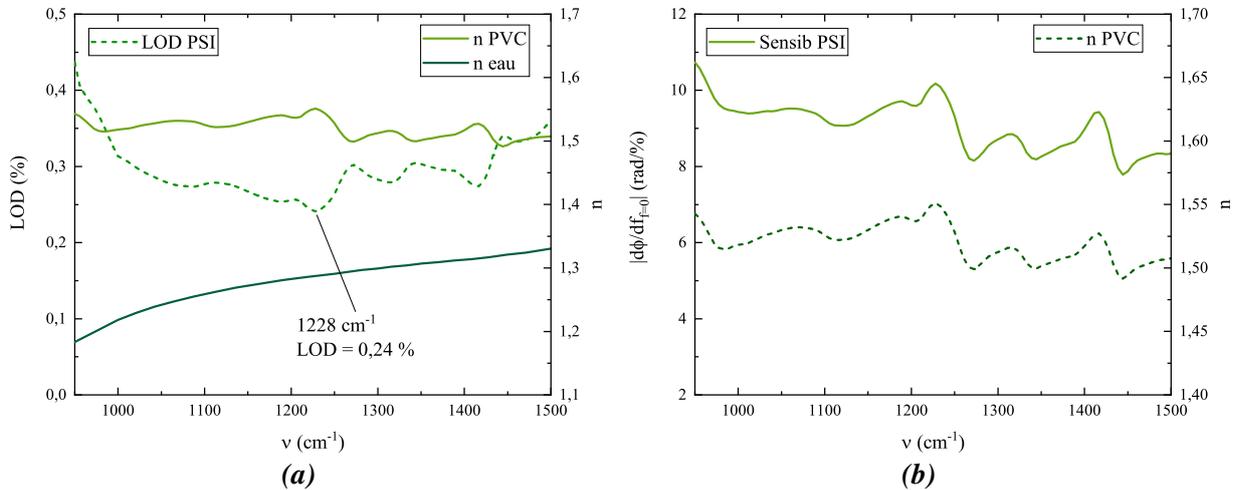


FIGURE 4.21 – (a) LOD et (b) sensibilité de la méthode PSI dans le cas du PVC.

Les graphes de la méthode PSI pour les trois espèces de MP sont présentés en Fig.4.21, 4.22 et 4.23. Comme pour la résine, la variation de phase, contrairement à la variation de puissance, dépend seulement de la différence d'indice  $\Delta n$ , si bien que la LOD varie majoritairement avec l'indice. Celle-ci est minimale (donc la meilleure) lorsque la différence d'indice avec l'eau est la plus importante, ce qui en fait une méthode d'autant plus intéressante pour les mesures multispectrales, puisque la LOD est optimale aux longueurs d'onde spécifiques des sauts de phase.

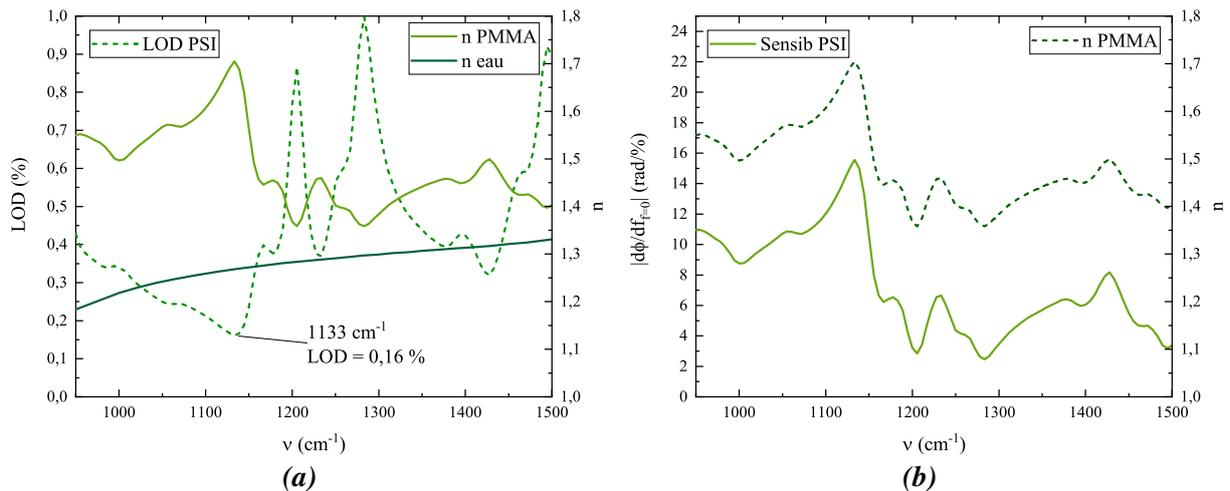


FIGURE 4.22 – (a) LOD et (b) sensibilité de la méthode PSI dans le cas du PMMA.

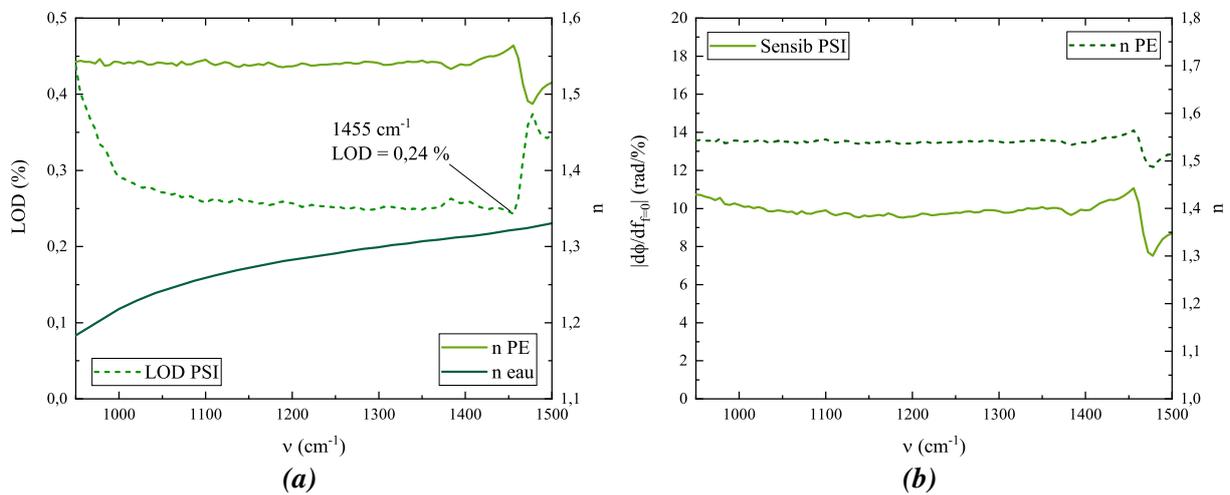


FIGURE 4.23 – (a) LOD et (b) sensibilité de la méthode PSI dans le cas du PE.

### Absorption

Enfin, les graphiques correspondants à la LOD et la sensibilité en absorption directe sont représentés sur les Fig.4.24, 4.25 et 4.26. Ici encore, le modèle *couches* implique que la LOD est minimale lorsque la différence d'indice  $\Delta k$  entre l'eau et l'espèce est maximale. Lorsqu'elle tend vers zéro, cela crée une singularité et fait tendre la LOD vers l'infini. Dans l'optique de réaliser des mesures multispectrales, il n'est donc pas judicieux de se placer aux longueurs d'onde des pics qui possèdent un indice proche de celui de l'eau.

A partir de ces graphiques, les paramètres optimaux ont été relevés pour chacune des espèces et pour les différentes méthodes (interférométrie simple, méthode PSI, absorption directe). Le Tab.4.3 récapitule les paramètres optimaux pour chacun des cas. Ainsi, on connaît pour chaque espèce et chaque méthode la longueur d'onde et le déphasage initial pour optimiser la LOD.

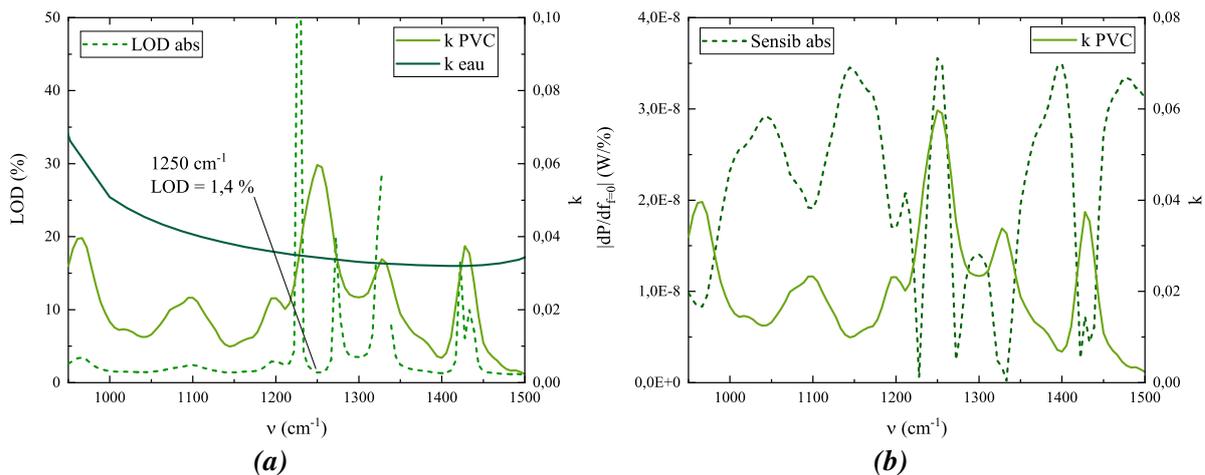


FIGURE 4.24 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'absorption dans le cas du PVC.

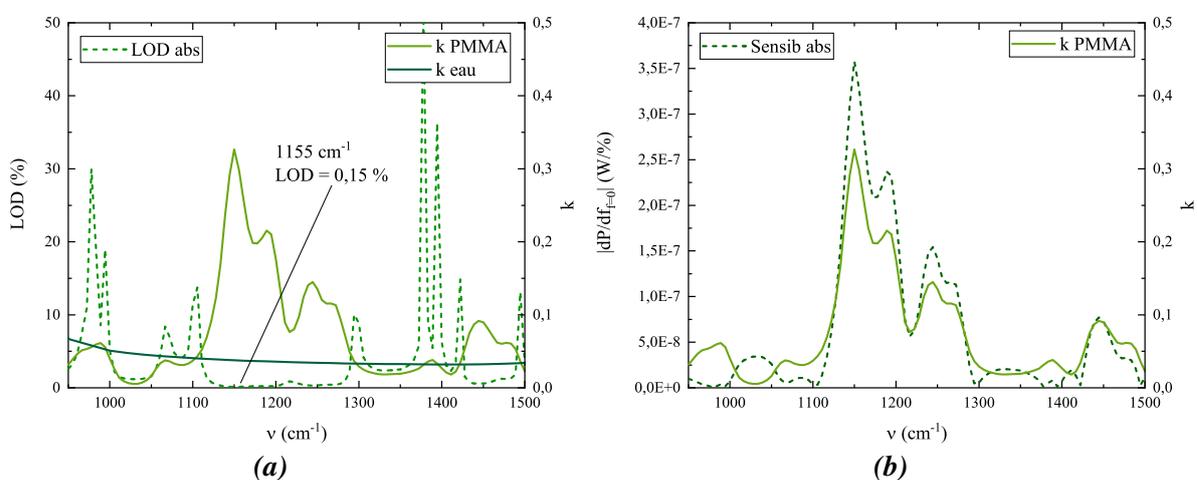


FIGURE 4.25 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'absorption dans le cas du PMMA.

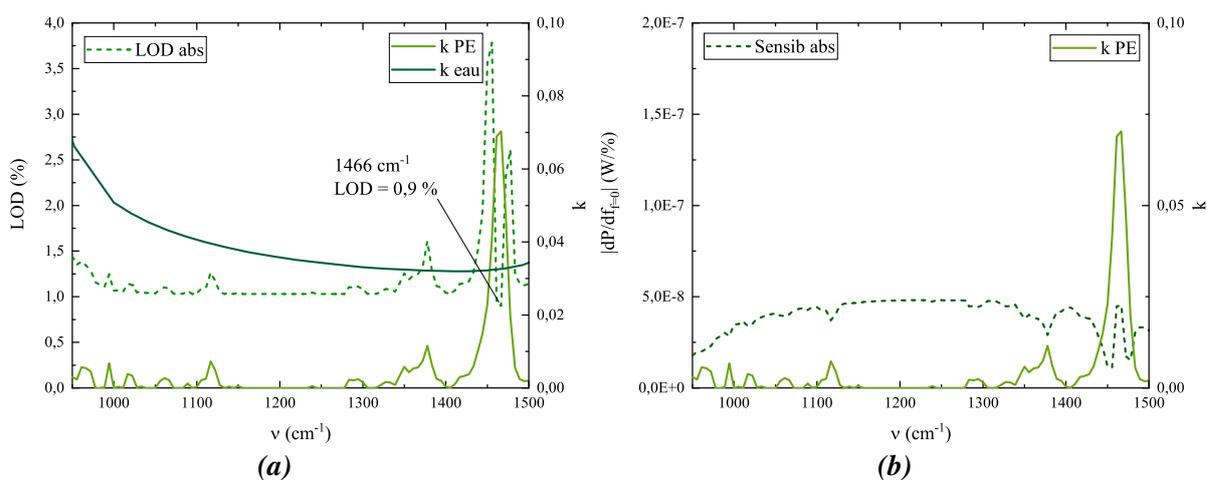


FIGURE 4.26 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'absorption dans le cas du PE.

	Interférométrie	PSI	Absorption
PVC			
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1228	1228	1250
$\alpha(\text{rad})$	4	–	–
LOD (%)	0.27	0.24	1.4
PMMA			
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1133	1133	1155
$\alpha(\text{rad})$	2.5	–	–
LOD (%)	0.14	0.16	0.15
PE			
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1455	1455	1466
$\alpha(\text{rad})$	2.2	–	–
LOD (%)	0.27	0.24	0.9

**TABLE 4.3** – Tableau récapitulatif des paramètres ( $\nu, \alpha$ ) optimisant la LOD pour des mesures sur des MP (PVC, PMMA, PE) en interférométrie (classique et PSI) et en absorption.

Dans le Tab.4.3, on remarque que la LOD est toujours plus élevée pour l'absorbance, sauf pour le pic du PMMA, du fait de son très fort coefficient d'absorption. Dans le cas du PVC et du PE, les méthodes interférométriques sont les plus avantageuses, avec une LOD du même ordre de grandeur, autour de 0.25 %, contre une valeur s'approchant et dépassant même 1 % pour le PVC en absorption. Dans tous les cas, les deux méthodes interférométriques présentent un avantage par rapport à l'absorption en terme de LOD. L'interférométrie simple, avec son degré de liberté supplémentaire, permet d'optimiser encore plus les mesures, d'autant plus qu'elle ne nécessite en pratique qu'une seule mesure au lieu de quatre pour la méthode PSI. Concrètement, cela veut dire que sur notre système, la configuration interférométrique permettrait de détecter des MP de PVC, PMMA et PE respectivement d'une épaisseur (ou diamètre) de 125, 75 et 125 nm, dans la mesure où l'épaisseur de l'échantillon traversé est connue (ici 50  $\mu\text{m}$ ). Il est donc important de disposer de cuves ou de tubes microfluidiques d'épaisseur connue, dans lesquels contenir l'échantillon.

### III.6 Limite de détection dans le cas de tissus hydratés

Pour aller plus loin, nous étudions dans cette section les variations de la LOD dans le cas du modèle *classique* pour un échantillon biologique, où l'on supposera que la présence d'une espèce d'intérêt n'impacte pas la quantité d'eau initiale. Nous prendrons alors le cas du tissu de biopsie, pour lequel le pic le plus critique à mesurer en absorption est celui de l'amide I, situé à 1654  $\text{cm}^{-1}$ , sous le pic le plus important de l'eau.

Nous faisons alors le choix de modéliser un tissu *in vivo* à partir d'un tissu de biopsie fixé. En effet, nous ne disposons au laboratoire que de tissus de biopsie déshydratés fixés en paraffine. Les indices de réfraction de ceux-ci sont connus ( $k$  mesuré au spectromètre FTIR et  $n$  par transformation de Kramers Kronig). Pour simuler un tissu hydraté, on peut alors en première approximation appliquer le modèle *classique* (voir Chap.2, Sec.III.1.2) sur ces indices pour effectuer une étude équivalente à celle du modèle couche pour la résine et les MP.

## Interférométrie simple

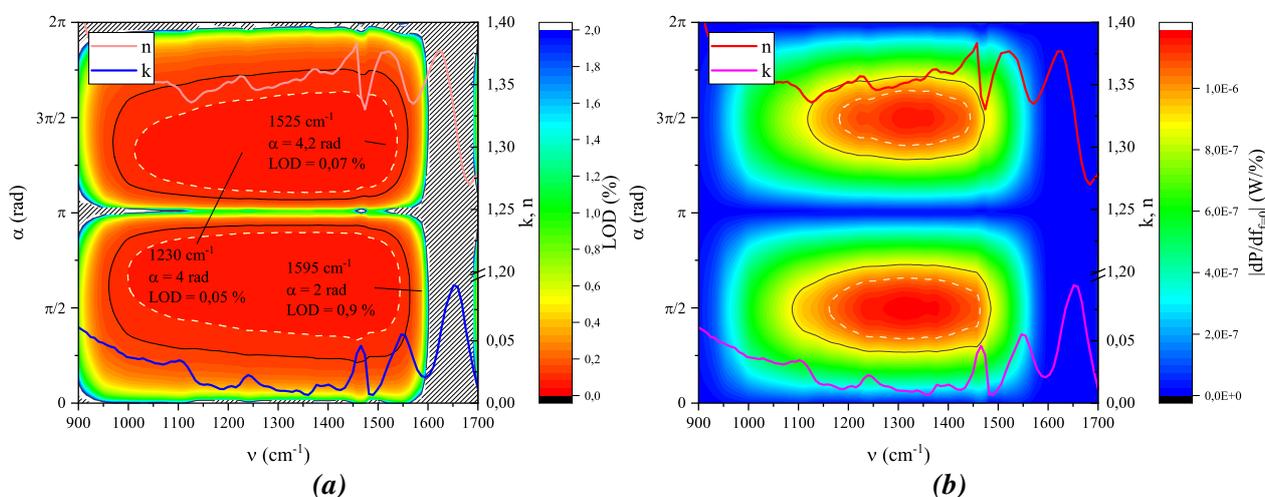


FIGURE 4.27 – (a) LOD et (b) sensibilité de l’interférométrie dans le cas du tissu *in vivo*.

La Fig.4.27, est, comme pour le modèle *couches*, une cartographie de la LOD en fonction de la longueur d’onde et du déphasage initial. Trois résonances sont particulièrement intéressantes à regarder dans ce spectre. Il s’agit de celles de la molécule d’ADN, et des liaisons amide II et I, dont les pics d’absorption sont respectivement situés à  $1240 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1550 \text{ cm}^{-1}$  et  $1654 \text{ cm}^{-1}$ . L’amide I est d’autant plus intéressante à étudier puisqu’elle se situe sous le pic principal de l’eau. Ce pic absorbe une grande partie de la puissance interférométrique, ce qui diminue fortement la sensibilité (voir l’équation  $dP_{int}/df$  du Tab.4.2) et donc augmente la LOD. C’est pour cela que la zone autour de ce pic est hachurée. En comparant la Fig.4.27 aux graphiques obtenus dans le cas des MP, les variations de sensibilité et de LOD sont très peu dépendantes des indices de l’espèce d’intérêt. Ceci traduit que l’absorption de l’eau domine dans le cas du modèle *classique*. Il est donc difficile de conclure sur la spécificité des mesures interférométriques sur tissus *in vivo*. Cependant, dans l’hypothèse où l’interférométrie serait utilisée pour de telles mesures, on remarque que les zones de déphasage les plus avantageuses en terme de LOD se situent autour de  $\alpha = \pi/2$  et  $\alpha = 3\pi/2$ , les zones à proximité de  $\pi$  et de  $0$  étant exclues. Le saut d’indice de l’amide I est situé en dehors des zones les plus avantageuses. Cependant, il serait toujours possible de se placer autour de ce pic, à des longueurs d’onde proches des longueurs d’onde spécifiques du saut de phase de l’amide I (ici  $1595 \text{ cm}^{-1}$ ). Ainsi, on pourrait espérer détecter jusqu’à des concentrations en amide I inférieures à 1%. Dans cette zone, la LOD varie très vite avec le nombre d’onde, il est donc difficile de conclure sur la faisabilité de mesures multispectrales interférométriques autour de l’amide I. Aux nombres d’onde spécifiques de l’ADN et de l’amide II, on pourrait même descendre jusqu’à des LOD inférieures à 0.1%. En effet, par rapport au modèle *couches*, la sensibilité est plus élevée et presque 10 fois plus importante (voir Fig.4.27.b) puisqu’elle ne dépend pas de la différence d’indice entre l’eau et l’espèce mais de l’indice lui-même. Une sensibilité 10 fois plus élevée implique donc une LOD 10 fois plus faible, ce qui correspond bien aux ordres de grandeurs calculés. Encore une fois, même pour ces zones du spectre en dehors du pic d’absorption de l’eau, la LOD ne varie que très faiblement en fonction de la longueur d’onde, ce qui permettrait de choisir la longueur d’onde d’intérêt plus librement qu’avec le modèle *couches*.

### Méthode PSI

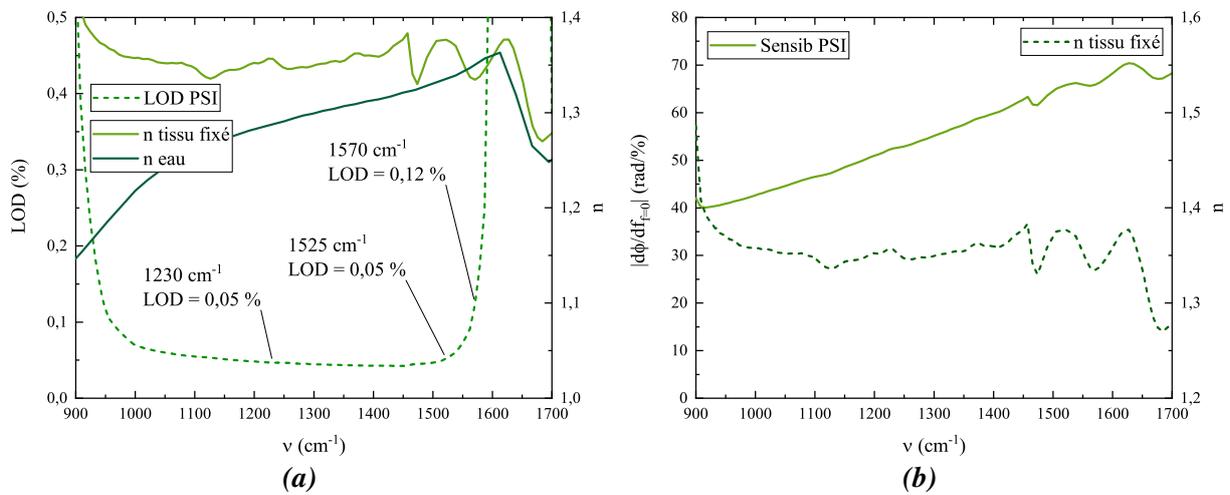


FIGURE 4.28 – (a) LOD et (b) sensibilité de la méthode PSI dans le cas du tissu hydraté.

La Fig.4.28 représente l'évolution de la LOD et de la sensibilité pour la méthode PSI appliquée à un tissu de biopsie hydraté. La sensibilité de la phase dans le cas du modèle *classique* dépend uniquement de l'indice de l'espèce introduite dans l'eau, contrairement au modèle *couches*, ce qui explique ses valeurs presque 10 fois plus importantes. Cependant, d'après l'Eq.4.24, la présence de l'eau joue toujours un rôle dans le calcul de la LOD<sup>8</sup>, de par sa forte absorption, si bien qu'on en distingue l'effet au niveau de son pic le plus important autour de  $1650\text{ cm}^{-1}$ , et que la courbe de LOD est en majorité dépendante de l'absorption de l'eau et non de l'indice  $k$  du tissu. Ainsi, on observe sur la Fig.4.28 une LOD qui tend vers l'infini en s'approchant de  $1650\text{ cm}^{-1}$ . Comme pour la méthode interférométrique simple, il serait possible de se placer en dehors de ce pic, en s'éloignant cependant un peu plus du pic spécifique de l'amide I. La méthode PSI permettrait alors d'atteindre une LOD inférieure à  $0.2\%$  en se plaçant à  $1570\text{ cm}^{-1}$ , autour du pic d'absorption de l'amide I. Pour les pics de l'amide II et de l'ADN, la LOD, grâce à la sensibilité plus élevée, pourrait atteindre des valeurs inférieures à  $0.1\%$ . Comme précédemment, les résultats sont à prendre avec précaution, et nous ne pouvons pas conclure de façon certaine sur la faisabilité de mesures multispectrales sur des tissus hydratés avec la méthode PSI.

### Absorption

Enfin, la Fig.4.29 représente la LOD dans le cas de l'absorption directe. La première différence remarquable avec les méthodes interférométriques est le fait que la LOD varie fortement avec la longueur d'onde, en fonction de l'indice  $k$  du tissu. Ceci laisse à penser que des mesures en absorption seraient plus spécifiques qu'en interférométrie. Ainsi, puisque la sensibilité augmente avec la valeur des pics, il semblerait possible de se placer pour des mesures multispectrales aux longueurs d'onde des pics d'intérêt. Cependant l'absorption ne permettrait d'atteindre des LOD que de l'ordre du pourcent, ce qui est par exemple plus de 30 fois plus élevé qu'une mesure interférométrique sur le pic de l'ADN. Comme pour les méthodes interférométriques, la forte

8. Les termes  $P_0$  et  $P_\pi$  au dénominateur deviennent très faibles, ce qui augmente le bruit, et par conséquent la LOD.

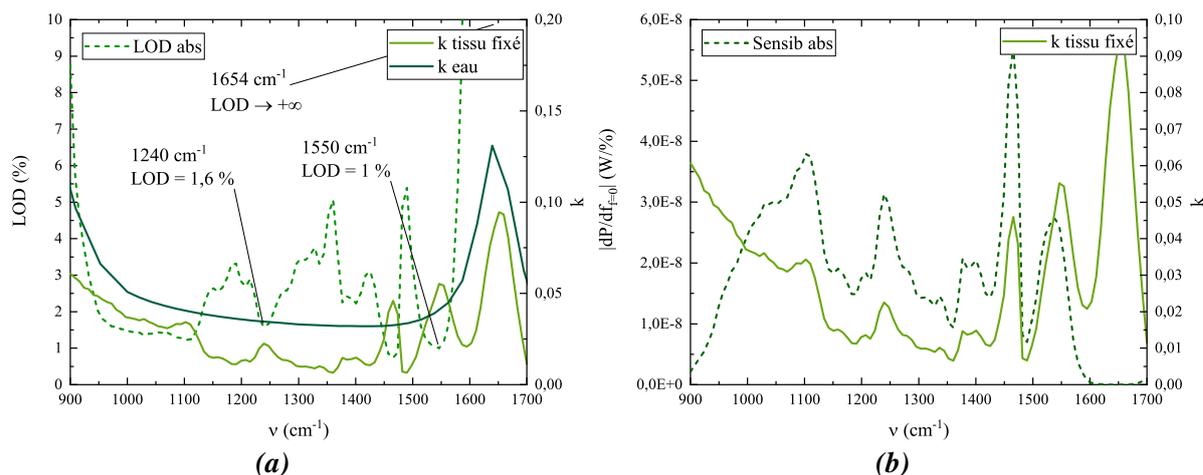


FIGURE 4.29 – (a) LOD et (b) sensibilité de l'absorption dans le cas du tissu hydraté.

absorption de l'eau autour de  $1650\text{ cm}^{-1}$  induit une LOD tendant vers l'infini au niveau de l'amide I, ce qui ne permet pas de réaliser des mesures multispectrales à cette longueur d'onde d'intérêt. En effet, on pourrait espérer atteindre une LOD de 3 %, mais cela à une longueur d'onde plutôt spécifique de l'amide II que de l'amide I. Si l'on souhaite effectuer des mesures multispectrales aux longueurs d'onde spécifiques connues des molécules présentes dans des tissus *in vivo*, il n'est alors pas possible d'en réaliser pour l'amide I.

Comme dans la section précédente pour le modèle *couches*, tous les résultats sont résumés dans le Tab.4.4.

	Interférométrie	PSI	Absorption
ADN			
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1230	1230	1240
$\alpha(\text{rad})$	4	–	–
LOD (%)	0.05	0.05	1.6
Amide II			
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1525	1525	1550
$\alpha(\text{rad})$	4.2	–	–
LOD (%)	0.07	0.05	1
Amide I			
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1595	1570	1654
$\alpha(\text{rad})$	2	–	–
LOD (%)	0.9	0.12	$+\infty$

TABLE 4.4 – Tableau récapitulatif des paramètres  $(\nu, \alpha)$  optimisant la LOD pour des mesures sur un tissu *in vivo* en interférométrie (classique et PSI) et en absorption.

Cette fois-ci, les différents pics étudiés sont ceux de l'ADN et des amides I et II. Quelle que soit la molécule étudiée, on remarque que les deux méthodes interférométriques semblent plus

avantageuses que l'absorption directe. En effet, il serait possible de mesurer des concentrations d'ADN et d'amide II inférieures à 0.1 % avec les méthodes interférométriques, contre des concentrations supérieures à 1 % en absorption directe. Nous avons vu que cela était dû aux sensibilités plus élevées, ne dépendant plus des différences d'indice avec l'eau, mais des indices de l'espèce seule. Pour les longueurs d'onde spécifiques de l'amide I sous le pic d'absorption le plus important de l'eau, on remarque qu'il est impossible de réaliser des mesures multispectrales avec la méthode d'absorption directe. En effet, les mesures multispectrales consistent généralement à acquérir des images au nombre d'onde central du pic d'absorption de la molécule recherchée. Même en se décalant autour de ce pic, la LOD restera supérieure à celle obtenue pour les méthodes interférométriques. L'interférométrie simple permettrait de s'approcher au plus près des longueurs d'onde spécifiques du saut de phase de l'amide I, tout en gardant des valeurs de LOD de l'ordre du pourcent. Cependant, l'interférométrie dans ce cas de figure du modèle *classique* appliqué au tissu hydraté n'apparaît pas sélective par rapport aux longueurs d'onde de résonance spécifiques de l'espèce. Cela ne nous permet pas de conclure avec certitude qu'elle présente un réel intérêt par rapport à l'absorption.

## IV Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons mis en place des stratégies d'évaluation du bruit du système interférométrique construit. Ce bruit peut impacter les mesures effectuées par la matrice de micro-bolomètres. Ce type de détecteur est habituellement utilisé en passif, c'est à dire qu'on les utilise pour mesurer des scènes à température ambiante, constituées d'objets émettant dans l'IR, ce qui n'est pas notre cas. En effet, nous plaçons l'imageur en sortie du MZI et du système d'imagerie, lequel est utilisé pour rediriger un faisceau laser sur l'intégralité des pixels. Même si la NEP du détecteur est connue et donnée par le constructeur à 10 pW, cette utilisation particulière nous contraint à effectuer des mesures de bruit. En effet, lors des mesures, à cette NEP s'ajoute la contribution des fluctuations temporelles du laser, variant avec la puissance. Ces variations étant mal connues, elles sont mesurées directement sur banc construit. Ces mesures donnent un bruit temporel autour de 0.5 % de la puissance reçue par un pixel. La source majoritaire de ce bruit est bien la source laser.

A partir des courbes de bruit obtenues, et de la sensibilité des différentes méthodes (interférométrie, PSI, absorption), la LOD a été calculée sur différentes espèces de polymères ainsi que dans le cas d'un tissu de biopsie *in vivo*. Ces calculs ont permis de mettre en évidence un avantage des mesures interférométriques par rapport à l'absorption, avec des LOD parfois plus de 10 fois inférieures pour l'interférométrie, notamment dans le cas des MP. En effet, en interférométrie simple, le réglage du déphasage permet d'optimiser la détection, en se plaçant par exemple à des déphasages autour des points d'inflexion  $\pi/2$  et  $3\pi/2$  où la sensibilité est maximisée. Ainsi, on peut imaginer qu'avec l'interférométrie simple, le choix du déphasage initial pourrait permettre (à condition de le maîtriser en pratique), d'observer sur une seule image acquise un contraste plus important entre deux zones où la différence de fraction d'espèce d'intérêt est très faible. La méthode PSI nécessitant l'acquisition de quatre images peut elle être vue comme moins avantageuse pour cette raison, puisque le temps de mesure serait

multiplié par deux au minimum<sup>9</sup>. Dans le cas des échantillons biologiques *in vivo*, l'étude de LOD a également révélé un avantage important des mesures interférométriques par rapport à l'absorption. Plus particulièrement, les calculs ont été réalisés pour un tissu de biopsie *in vivo*, sur les pics d'intérêt de l'ADN et des amides I et II. La comparaison des méthodes au niveau pic de l'amide I est particulièrement intéressante, puisqu'il s'agit du pic situé sous la zone spectrale où l'eau a sa plus forte absorption, à  $1650\text{ cm}^{-1}$ . L'étude montre que dans l'optique de réaliser des mesures multispectrales aux longueurs d'onde d'intérêt connues de l'amide I, les mesures d'absorption restent impossibles quelle que soit la longueur d'onde autour de ce pic, avec une LOD tendant vers l'infini. Par contre, l'interférométrie permettrait d'atteindre des LOD inférieures au pourcent en se plaçant autour de la longueur d'onde d'absorption de l'amide I, tout en restant dans sa zone spectrale spécifique. Cependant, il n'est pas possible de conclure sur un réel avantage de l'interférométrie dans ce cas particulier des tissus *in vivo*, car la sensibilité semble impactée en majorité par l'eau, ce qui pose la question de la spécificité des mesures. Dans ce cas, l'absorption resterait une meilleure méthode pour des mesures spécifiques, malgré une LOD limitée au pourcent.

Finalement, ces études ont montré que de façon générale, l'interférométrie permettrait une meilleure détection et quantification des molécules d'intérêt dans des échantillons hydratés, en particulier pour le cas des MP, et plus généralement dans le cas du modèle *couches*. Pour les échantillons biologiques, cela reste encore à prouver expérimentalement et fait partie des perspectives possibles pour de futures expériences.

---

9. Avec deux détecteurs sur les sorties en opposition de phase du MZI, l'acquisition des images à  $0$  et  $\pi$  peut se faire simultanément, de même pour les images à  $\pi/2$  et  $3\pi/2$ .



# Conclusion générale

---

La détection et la quantification de molécules biochimiques ou polymères par des méthodes d'analyse *sans marquage* constituent de nos jours le sujet de nombreuses recherches dans les domaines de l'environnement et du biomédical. En effet, ces molécules ont une signature spectrale dans le spectre IR, ce qui permet de les analyser par spectroscopie vibrationnelle, notamment en microscopie FTIR. Dans l'optique de préparation plus rapide des échantillons pour le diagnostic de cancer par exemple, ou dans un contexte environnemental de pollution des eaux par les microplastiques, les mesures sur échantillons hydratés présentent un réel enjeu. Cependant, la présence de l'eau, très absorbante dans l'IR, reste un frein à leur développement, les solutions avancées étant encore peu optimales. Ces travaux de thèse s'inscrivent alors dans ce contexte, et visent à explorer une méthode de mesure alternative pour améliorer et optimiser l'analyse *sans marquage* d'échantillons hydratés. Une autre information complémentaire à l'absorption, et également spécifique à chaque molécule, est mesurable. Il s'agit de l'indice de réfraction réel, lié au coefficient d'absorption par les relations de Kramers Kronig, et mesurable par interférométrie.

L'état de l'art le plus proche sont les travaux de B.Lendl, montrant le potentiel de mesures interférométriques sur des solutions homogènes d'éthanol dans l'eau. En effet, la mesure de phase serait plus sensible que la mesure d'absorbance sur des échantillons à forte absorption. Il ne réalise cependant pas d'imagerie et n'acquiert donc pas d'information spatiale en plus de l'information spectrale. Ainsi, en combinant le principe de la spectroscopie vibrationnelle, la haute brillance des QCLs et l'imagerie de phase par une matrice de micro-bolomètres non refroidie, nous nous sommes intéressés au potentiel de l'holographie numérique dans le MIR pour les mesures quantitatives et qualitatives d'espèces d'intérêt en milieu aqueux.

Une première étape des travaux de thèse a consisté à construire un banc interférométrique de type Mach Zehnder, incluant un système d'imagerie et une matrice de micro-bolomètres permettant de rendre compte de la morphologie des échantillons, en plus de l'information spectrale. Un contrôleur piezo-électrique permet d'accéder au degré de liberté supplémentaire du déphasage entre les deux bras, qui constitue le paramètre essentiel des mesures interférométriques réalisées. Quatre échantillons ont été fabriqués. Il s'agit de motifs de différentes épaisseurs de photorésine SU-8 dans des cuves microfluidiques de 50  $\mu\text{m}$  d'eau. Le banc a été totalement automatisé. Afin de comparer les mesures effectuées sur ces échantillons à la théorie, un modèle analytique incluant l'absorption de l'eau a été implémenté, appelé modèle *couches*.

L'interféromètre construit a premièrement permis de montrer la possibilité d'acquisition d'images par holographie IR sur des matrices de micro-bolomètres non refroidis. En effet, les interfé-

rogrammes obtenus ont permis, après un traitement d'images, d'obtenir des cartographies de phase sur l'ensemble des échantillons. Une deuxième hypothèse à vérifier était la détection et l'identification d'une espèce d'intérêt dans l'eau par sa résonance spécifique. Pour cela, deux méthodes de mesures interférométriques ont été testées sur ces différents échantillons de 1.8 à 3.8  $\mu\text{m}$  de résine dans 50  $\mu\text{m}$  d'eau. La première, l'interférométrie par décalage de phase (PSI), consiste à acquérir quatre images dont la phase est décalée de  $\pi/2$  puis à reconstruire une image de phase à partir de celles-ci. Cette méthode et le traitement d'images associé ont montré leur capacité à retrouver une relation linéaire entre la phase induite par l'espèce d'intérêt et l'épaisseur (donc la concentration) de celui-ci, ainsi que les variations d'indice spécifiques de l'espèce. Les résultats ont montré un bon accord avec les mesures de références au spectromètre FTIR et à l'ellipsomètre. L'interférométrie a l'avantage, en principe, de ne pas nécessiter de mesure de référence, contrairement à l'absorption. Cependant, les inhomogénéités spatiales introduites par le banc, dont notamment par le système d'imagerie, ont conduit à adapter la seconde méthode de mesure en ajoutant l'acquisition d'images de référence. Celles-ci ont permis de corriger l'image de phase résultante et d'améliorer les spectres obtenus et la concordance avec les mesures FTIR de référence. Davantage de mesures seraient nécessaires pour confirmer l'avantage de l'interférométrie par rapport à l'absorption, et des améliorations du traitement d'images seraient également à prévoir, afin d'optimiser la reproductibilité et renforcer d'autant plus les résultats.

Enfin, une étude photométrique approfondie du banc interférométrique construit a été réalisée, et a permis d'identifier la source principale du bruit sur le banc, qui s'avère être les fluctuations en puissance du laser, et de calculer la sensibilité et la LOD du système dans différents cas de figure. Premièrement, le calcul de la LOD pour le cas de la résine SU-8 a montré qu'il était possible de détecter jusqu'à des épaisseurs de 85 nm de résine dans 50  $\mu\text{m}$  d'eau, contre 115 nm en absorption. Cette étude a également été réalisée dans le cas de trois MP présents dans l'environnement, le PVC, le PMMA et le PE. Dans les trois cas, l'interférométrie s'est révélée être la méthode la plus sensible, avec des LOD inférieures à 0.3 %, contre 1 % ou plus dans le cas de l'absorption. Le cas hypothétique d'un tissu *in vivo* a également été étudié, avec une attention particulière au pic de l'amide I, situé à 1654  $\text{cm}^{-1}$ , dans la zone la plus absorbante de l'eau. Dans le cadre de nos hypothèses, il apparaît que les méthodes interférométriques permettraient la détection de plus faibles quantités de protéines sur des échantillons *in vivo*. Pour le pic de l'amide I, il est difficile de conclure sur un réel avantage de l'interférométrie, car elle nécessite tout de même d'être en dehors du pic de l'eau. De plus, pour le modèle *classique*, la présence de l'eau est le facteur impactant majoritairement la sensibilité, ce qui pose la question de la spécificité des mesures à des concentrations très proches de la LOD. Néanmoins, aussi bien pour les molécules polymères que pour les échantillons biologiques *in vivo*, la meilleure LOD des méthodes interférométriques peut s'expliquer notamment par la sensibilité de la technique, qui dépend notamment du déphasage introduit entre les deux voies, ce qui constitue un degré de liberté supplémentaire permettant d'optimiser la sensibilité et la LOD. Ainsi, la sensibilité est en quelque sorte ajustable, avec un intérêt à se placer autour des déphasages de  $\pi/2$  et  $3\pi/2$  (modulo  $2\pi$ ), aux points d'inflexion où elle est optimale. Notons que l'étude a été réalisée dans l'optique d'observer de faibles quantités d'analyte dans l'eau. Cependant, il serait intéressant d'étendre la réflexion à des faibles variations de concentration (ou d'épaisseur) sur des échantillons déjà fortement concentrés, ce qui mettrait en jeu une quantité d'eau moins importante, et modifierait probablement la sensibilité des techniques et les déphasages optimaux.

Pour conclure ce manuscrit de thèse, quelques perspectives peuvent être apportées. Premièrement, une amélioration du banc serait à prévoir pour faciliter et améliorer les mesures. L'utilisation d'une source laser plus stable et d'un imageur à plus faible NEP permettrait d'améliorer la LOD. Une meilleure maîtrise du déphasage avec un contrôleur piezo-électrique en boucle fermée permettrait d'explorer d'autres méthodes de mesures, plus rapides et plus sensibles. De plus, le développement de nouvelles cartes de pilotage des détecteurs autoriserait l'interfaçage avec le PC de deux détecteurs simultanément, et permettrait d'explorer davantage de méthodes interférométriques. Notamment, cela permettrait d'acquérir simultanément deux images sur les deux sorties de l'interféromètre, ce qui serait intéressant pour corriger les fluctuations du laser. Aussi, la mise sous azote du banc et la limitation de ses interactions avec l'extérieur seraient d'autres améliorations à mettre en place.

Nous pouvons également imaginer des mesures sur d'autres échantillons. En effet, les mesures ont été réalisées uniquement sur des échantillons constitués d'une seule espèce. Pour poursuivre l'étude, il serait intéressant de vérifier la possibilité de discriminer plusieurs espèces sur une même image, ce qui pourrait notamment avoir une application dans le cas des MP. Dans l'optique de confirmer les calculs de LOD réalisés, il serait envisageable de tester des mesures sur des échantillons de résine d'épaisseur inférieure au micromètre. Nous pourrions également effectuer l'étude sur des échantillons biologiques, afin de confirmer ou améliorer le modèle analytique. Premièrement, des colonies bactériennes, contenant intrinsèquement de l'eau, pourraient être utilisées, afin d'étudier l'évolution de leur métabolisme, par exemple pour le suivi *in vivo* de bioréacteurs. Puis, dans la mesure du possible, des images de phase pourraient être réalisées sur des tissus hydratés, et une fois la méthode maîtrisée sur de tels échantillons, nous pourrions tester la possibilité de différencier des tissus sains et cancéreux grâce à leurs différences de concentrations en protéines notamment.

Les études théoriques de sensibilité ont montré un potentiel avantage de l'interférométrie par rapport à l'absorption avec gain d'un facteur 10 sur la LOD, dans la mesure où l'épaisseur totale des échantillons est fixe et connue. Ainsi, pour un éventuel dispositif intégré futur, il est important de prendre cet élément en compte. Ceci serait plus facile à mettre en oeuvre pour l'étude des microplastiques dans l'eau. En effet, si le dispositif dispose d'un tube microfluidique dans lequel circule l'eau à analyser, et que son diamètre est connu, ceci permettrait de remonter à l'épaisseur et à l'indice de réfraction spécifique des espèces présentes.

Aussi, les mesures ont été réalisées en transmission, ce qui a démontré la capacité des QCLs à traverser une épaisseur d'eau importante. Cependant, dans l'optique d'un dispositif intégré, les mesures devraient plutôt être réalisées en réflexion, de façon à rendre la méthode non invasive et éviter une biopsie. Ainsi, pour explorer cette possibilité, il serait intéressant de mettre en place un système interférométrique similaire, mais où l'échantillon serait sondé cette-fois-ci en surface, par l'introduction d'un prisme permettant une réflexion totale sur l'un des bras du MZI, sur lequel serait posé l'échantillon. Ce montage pourrait être l'équivalent, dans l'IR, du montage réalisé dans le papier de J.Zhao [114] sur l'étude, dans le visible, de l'indice de réfraction de mélanges de liquides. La profondeur de pénétration varierait alors avec l'indice de réfraction de l'espèce sondée et ne serait donc pas fixe comme en transmission. Ceci nécessiterait alors de mettre en place de nouveaux modèles analytiques prenant en compte cette variation. Si la

maîtrise d'un tel dispositif devenait possible, celui-ci pourrait servir dans des applications de diagnostic *in vivo* ou en endoscopie par exemple.

Ces travaux de thèse ont initié l'imagerie holographique dans le MIR avec des imageurs non refroidis. Des modèles, un banc expérimental, des échantillons tests, des algorithmes de traitement d'images et une étude théorique de la LOD ont été mis en oeuvre. De nombreux tests expérimentaux sont encore à réaliser pour corroborer ces travaux, mais les premiers résultats obtenus sont encourageants et permettent d'envisager une suite prometteuse à ce sujet de recherche. La première étude théorique des performances attendues de la méthode a également montré le potentiel de l'interférométrie, qui pourrait alors être appliquée à différents domaines tels que la pharmacologie, la cancérologie, l'agro-alimentaire, ou encore l'environnement. Ces travaux de thèse ont finalement permis d'ouvrir la voie vers de nouvelles recherches qui, nous l'espérons, contribueront autant que possible au développement et à l'amélioration de l'imagerie *sans marquage* en milieu aqueux.

# Annexes

---

## *Contenu des annexes*

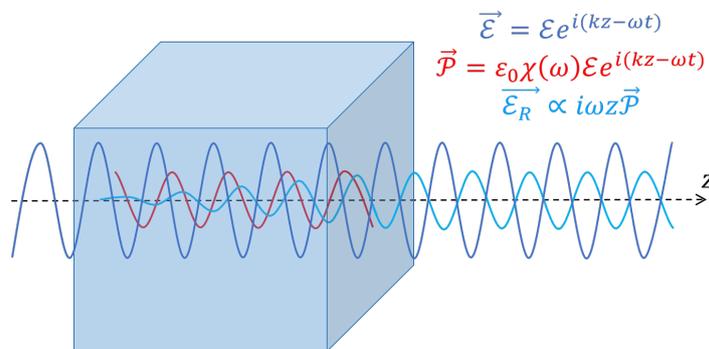
---

<b>A</b>	<b>Indice de réfraction complexe : démonstration</b>	<b>150</b>
<b>B</b>	<b>Interférences à deux ondes : démonstration</b>	<b>152</b>
<b>C</b>	<b>Mesures des coefficients de transmission et de réflexion des lames séparatrices</b>	<b>155</b>
<b>D</b>	<b>MIRcat : mesures supplémentaires</b>	<b>158</b>
	IV.1 Caractérisation en courant et en longueur d'onde	158
	IV.2 Première difficulté rencontrée : position du faisceau variable	160
	IV.3 Seconde difficulté rencontrée : différence de puissance entre des réglages identiques	161
<b>E</b>	<b>Différentes étapes d'alignement de l'interféromètre de Mach Zehnder</b>	<b>163</b>
	V.1 Construction du parallélogramme	163
	V.2 Alignement des faisceaux en sortie du MZI : interférences	166
	V.3 Placement du système de lentilles et des échantillons	167
<b>F</b>	<b>Démonstration de la formule de l'indice réel effectif <math>n_{eff}</math></b>	<b>168</b>

---

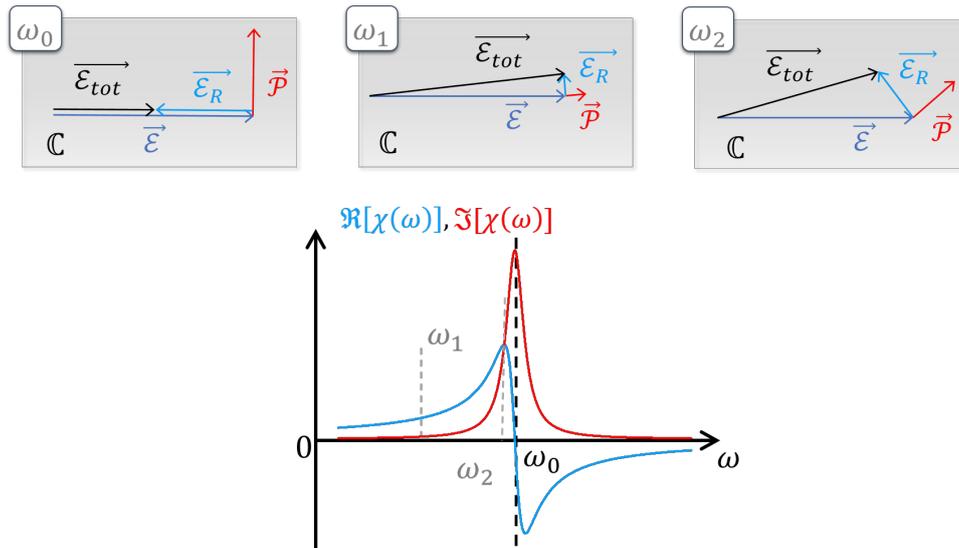
## A Indice de réfraction complexe : démonstration

Pour comprendre l'origine physique de l'absorption d'une onde EM par un milieu, il est intéressant d'introduire le concept de champ rayonné. A l'échelle millimétrique (le matériau est alors une assemblée de dipôles oscillants homogènes), le champ électrique et donc la polarisation du matériau induisent un champ rayonné. En effet, lorsque les dipôles oscillent en réponse à l'onde EM incidente, ils émettent également des champs EM. Ces champs émis sont appelés champs rayonnés et s'ajoutent au champ incident. Les champs rayonnés contribuent à la réponse globale du matériau à l'onde EM. L'équation de Larmor [115] montre que, pour un dipôle ponctuel, l'accélération des charges produit l'émission d'un rayonnement EM. Cependant, lorsque l'on regarde un matériau homogène, composé d'un ensemble dipôles, ils interfèrent de façon constructive entre eux, ce qui crée une réponse globale plus proche d'une dérivée première du champ incident plutôt que d'une dérivée seconde. En d'autres termes, la manière dont le matériau réagit à l'onde incidente est liée à la vitesse globale des charges, plutôt qu'à leur accélération. Ainsi, on peut montrer que pour un matériau homogène éclairé par une onde plane,  $\vec{\mathcal{E}}_R \propto i\omega z \vec{\mathcal{P}}$  [116] : le champ rayonné croît progressivement avec la propagation de l'onde, résultat des interférences constructives entre tous les dipôles qui oscillent dans un même plan. On remarque que l'amplitude du champ rayonné augmente avec l'épaisseur  $z$  du matériau. Si on observe la Fig.A.2, en se plaçant à la résonance, la susceptibilité est purement imaginaire. Ceci implique que le champ rayonné et le champ incident sont en opposition de phase (voir Fig. A.1). Le champ total  $\mathcal{E}_{tot} = \mathcal{E} + \mathcal{E}_R$  est donc la résultante des interférences destructives entre ces deux derniers. Au fur et à mesure de la propagation en  $z$ , l'amplitude du champ rayonné augmente. En sortie du matériau, l'amplitude du champ total aura donc diminué, ce qui explique le phénomène d'absorption introduit en sous-section II.1.2.



**FIGURE A.1** – Schématisation de la propagation du champ électrique, de la polarisation et du champ rayonné induits le long de l'axe  $z$  lors de l'interaction de la lumière avec un matériau constitué de dipôles oscillants homogènes (cas  $\omega = \omega_0$ ).

La Fig.A.2 permet de visualiser le déphasage et l'absorption du champ total en fonction de la pulsation du champ électrique incident par rapport à la résonance  $\omega_0$ . Puisque la polarisation est proportionnelle à la susceptibilité, l'amplitude de  $\vec{\mathcal{P}}$  prend en compte l'évolution de  $\chi(\omega)$ . A la pulsation  $\omega_1$ ,  $\chi(\omega)$  est considéré comme réel, donc la polarisation l'est aussi, mais son amplitude reste faible. Le champ rayonné est toujours en quadrature de phase avec la polarisation, et le champ total  $\vec{\mathcal{E}}_{tot}$  est simplement déphasé, et non absorbé (l'angle du vecteur  $\vec{\mathcal{E}}_{tot}$  dans le plan complexe correspond au déphasage induit, et sa longueur à l'amplitude de l'onde



**FIGURE A.2** – Représentation des champs électrique, rayonné, total, et de la polarisation dans le plan complexe en fonction de la pulsation du champ incident par rapport à la résonance.

en sortie du matériau). Dans le cas où  $\omega = \omega_2$ , c'est à dire à la valeur maximale du saut de phase autour de la résonance, la contribution de la partie réelle de la susceptibilité électrique est aussi importante que celle de la partie imaginaire. Dans le plan complexe, cela se traduit par une polarisation déphasée de  $\pi/4$  par rapport au champ incident. Le champ total est donc à la fois déphasé et de plus faible amplitude. Par cette même représentation, le phénomène d'absorption peut être visualisé dans le plan complexe : le champ rayonné est dans la direction opposée au champ incident, donc le vecteur du champ total est plus court, il y a eu absorption, mais également déphasage de l'onde résultante.

## B Interférences à deux ondes : démonstration

Cette annexe établit les équations de l'intensité lumineuse détectée dans le cas d'interférences à deux ondes.

L'équation d'onde, résultante des équations de Maxwell, est la suivante :

$$\Delta E(\vec{r}, t) - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 E(\vec{r}, t)}{\partial t^2} = 0 \quad (\text{B.1})$$

où  $E(\vec{r}, t)$  est le champ électrique de l'onde électromagnétique considérée, en fonction du vecteur position  $\vec{r}$  et du temps  $t$ , et  $c$  la vitesse de la lumière.

La solution particulière la plus simple à l'équation B.1 est une onde plane (ou localement plane) monochromatique (cas du laser), représentée par son champ électrique :

$$E(\vec{r}, t) = E_0 \cos(\omega t - \vec{k} \cdot \vec{r} + \phi_0) \quad (\text{B.2})$$

où  $E_0$  est l'amplitude de l'onde,  $\omega$  sa pulsation,  $\vec{k}$  son vecteur d'onde et  $\phi_0$  sa phase. B.2 est en fait la partie réelle de la notation complexe du champ électrique  $\widetilde{E}(\vec{r}, t) = E_0 e^{i(\omega t - \vec{k} \cdot \vec{r} + \phi_0)}$ . L'intensité de l'onde en un point  $M(x, y)$  est donnée par l'équation B.7 :

$$I(M) = \frac{1}{2} n c \varepsilon_0 E_0^2 \quad (\text{B.3})$$

où  $n$  est l'indice de réfraction du milieu considéré et  $\varepsilon_0$  la permittivité du vide.

L'énergie transportée par une onde lumineuse est définie par le vecteur de Poynting ( $W/m^2$ , vecteur densité surfacique de flux d'énergie) :

$$\vec{S}(\vec{r}, t) = \vec{E}(\vec{r}, t) \wedge \frac{1}{\mu_0} \vec{B}(\vec{r}, t) \quad (\text{B.4})$$

où  $\mu_0$  est la constante ou perméabilité magnétique du vide et  $\vec{B}(\vec{r}, t)$  le champ magnétique de l'onde considérée.

Pour une onde transverse,

$$\vec{B}(\vec{r}, t) = \frac{n}{c} \vec{k} \wedge \vec{E}(\vec{r}, t) \quad \text{et} \quad \varepsilon_0 \mu_0 = \frac{1}{c^2},$$

d'où

$$\vec{S}(\vec{r}, t) = n c \varepsilon_0 \vec{E}^2(\vec{r}, t) \vec{k} \quad (\text{B.5})$$

Le flux d'énergie est dirigé suivant la direction de propagation donnée par  $\vec{k}$  et sa valeur proportionnelle à  $\vec{E}^2(\vec{r}, t)$ . L'énergie totale transportée est proportionnelle à  $\vec{E}^2(\vec{r}, t)$  et à la surface sur laquelle s'étend l'onde.

Par définition, l'intensité lumineuse en un point  $\vec{r}$  et à l'instant  $t$  est donnée par la norme de  $\vec{S}(\vec{r}, t)$ . Cependant, un détecteur ne peut pas donner une valeur instantanée. Chaque détecteur possède son temps de réponse  $\tau$  pendant lequel il accumule l'énergie reçue. Le signal (ou réponse), délivré au temps  $\tau$  est proportionnel à la valeur moyenne de  $\vec{S}(\vec{r}, t)$  sur le temps  $\tau$  :

$$\langle \vec{S}(\vec{r}, t) \rangle_\tau$$

L'intensité lumineuse mesurée en un point est définie par :

$$I(\vec{r}) = \langle \vec{S}(\vec{r}, t) \rangle_\tau = \frac{1}{\tau} \int_T^{T+\tau} \vec{S}(\vec{r}, t) dt \quad (\text{B.6})$$

où  $T = \frac{2\pi}{\omega}$  est la période de l'onde.

Remarque : l'intensité lumineuse n'est pas réellement mesurée en un point mais sur une petite surface correspondant à la surface sensible du détecteur utilisé.

Pour une onde monochromatique plane ou localement plane définie par l'équation B.2,

$$\vec{S}(\vec{r}, t) = nc\varepsilon_0 \vec{E}^2(\vec{r}, t) = nc\varepsilon_0 E_0^2 \cos^2(\omega t - \vec{k} \cdot \vec{r})$$

alors

$$I(\vec{r}) = \frac{1}{\tau} \int_0^\tau nc\varepsilon_0 E_0^2 \cos^2(\omega t - \vec{k} \cdot \vec{r}) dt$$

Si la réponse du détecteur était instantané, l'intensité en un point serait alors une fonction périodique du temps. En effet, la valeur moyenne d'une fonction sur un temps très court tend vers la valeur instantanée. Dans la pratique, les détecteurs ont des temps de réponses finis et même très grands par rapport aux périodes des ondes considérées. L'intensité est alors proportionnelle à l'intégrale de  $\cos^2(\frac{2\pi t}{T} - \phi)$  sur un temps considéré comme étant infini devant sa période. Or  $\frac{1}{\tau} \int_0^\tau \cos^2(t) dt = \frac{1}{2}$  quand  $\tau \rightarrow \infty$  donc finalement :

$$I(\vec{r}) = \frac{1}{2} nc\varepsilon_0 E_0^2 \quad (\text{B.7})$$

Le détecteur ne peut pas suivre les variations très rapides de l'intensité. L'intensité mesurée en un point est constante et proportionnelle au carré de l'amplitude maximale du champ électrique. Il faut maintenant adapter ces formules au cas de l'interféromètre de Mach Zehnder. En sortie du laser, le champ électrique de l'onde considérée peut être écrite comme étant  $E_0(M, t) = E_0 \cos(\omega t)$ , où  $E_0$  est l'amplitude du champ considéré. Sachant qu'en sortie du premier beam splitter l'intensité du faisceau est divisée par deux, et que celle-ci est proportionnelle au carré de l'amplitude du champ électrique, les ondes 1 et 2 en sortie du beam splitter et après peuvent être définies comme suit (l'onde 1 passe par l'échantillon) :

$$\begin{cases} E_1(M, t) = E_1 \cos(\omega t - \phi(M)) \\ E_2(M, t) = E_2 \cos(\omega t) \end{cases} \quad (\text{B.8})$$

où  $E_1 = E_2 = \frac{E_0}{\sqrt{2}}$ .

D'après le principe de superposition, l'onde résultant de leur recombinaison en un point  $M(x, y)$  de la matrice de bolomètres est telle que  $E(M, t) = E_1(M, t) + E_2(M, t)$ . Ainsi, l'intensité lumineuse détectée en un point  $M(x, y)$  par les bolomètres est déterminée :

$$I(M, t) = nc\varepsilon_0 E^2(M, t) \Leftrightarrow I(M, t) = nc\varepsilon_0 [E_1(M, t) + E_2(M, t)]^2$$

En développant,

$$I(M, t) = nc\varepsilon_0 \frac{E_0^2}{2} [\cos^2(\omega t - \phi(M)) + \cos^2(\omega t) + \cos(2\omega t - \phi(M)) + \cos(\phi(M))]$$

Les bolomètres ont un temps de détection thermique  $\tau$  d'environ  $10\text{ms}$ , ce qui est très supérieur aux périodes  $T = \frac{2\pi}{\omega}$  et  $T_+ = \frac{2\pi}{2\omega}$ . Les deux premiers termes en  $\cos^2$  sont donc remplacés par  $\frac{1}{2}$ , comme dans la démonstration précédente. Quant au troisième terme, il n'est tout simplement pas détecté, la valeur moyenne d'un cosinus étant nulle.

Sur le détecteur, l'intensité obtenue est telle que

$$I(M, t) = nc\varepsilon_0 \frac{E_0^2}{2} [1 + \cos(\phi(M))]$$

Finalement, d'après l'équation B.7, cette égalité peut être simplifiée comme suit :

$$I(M) = I_0 [1 + \cos(\phi(M))] \quad (\text{B.9})$$

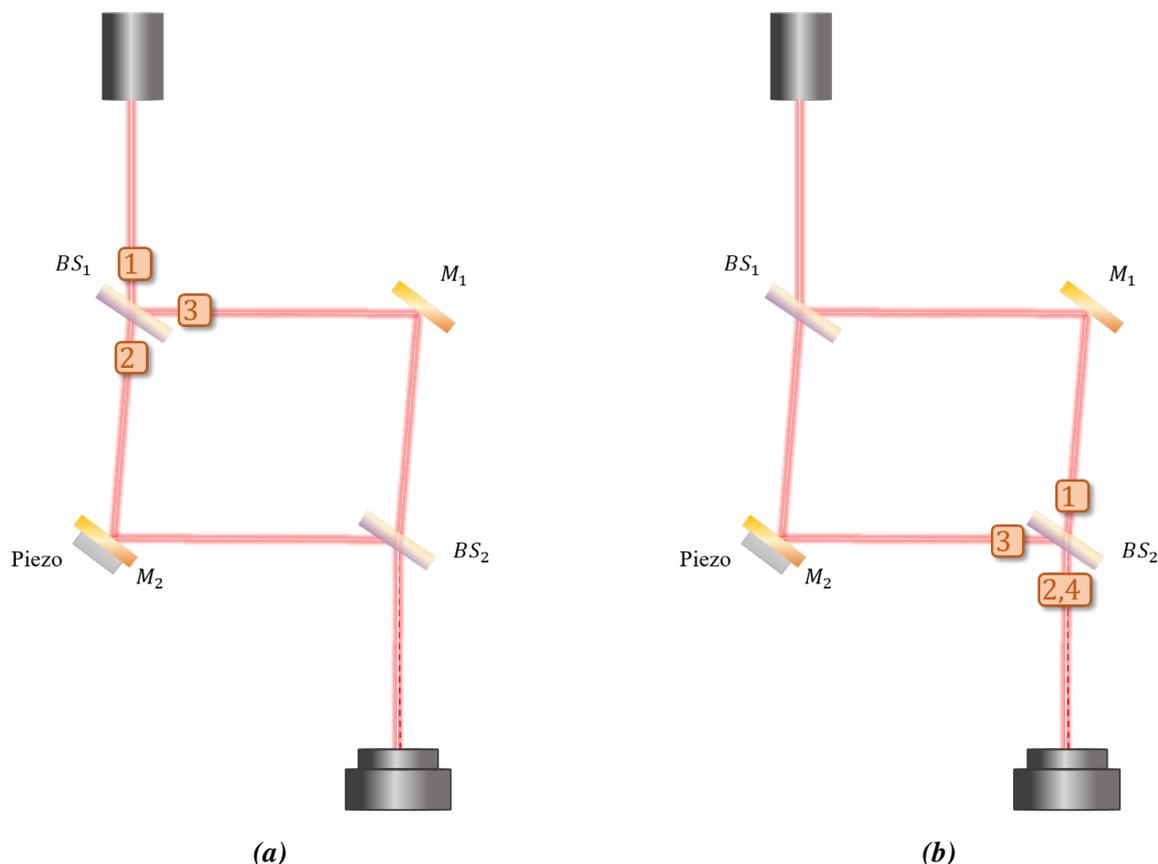
où  $I_0$  est l'intensité initiale délivrée par le laser. Dans l'article de Kemper et al. [80], la distribution de l'intensité est telle que :

$$I_H(x, y, z_O) = I_O(x, y, z_H) + I_R(x, y, z_H) + 2\sqrt{I_O I_R} \cos(\Delta\phi_{HP}) \quad (\text{B.10})$$

avec  $z_H$  le plan de l'hologramme considéré ici comme différent du plan image  $z_O$ , et  $\Delta\phi_{HP} = \phi_R - \phi_O$  la différence de phase entre le bras objet (O) et le bras de référence (R), où  $\phi_O = \phi_{init} + \Delta\varphi_s$ .  $\phi_{init}$  est la phase initiale du faisceau et  $\Delta\varphi_s$  est le déphasage induit par l'échantillon.

En déroulant les équations en partant du postulat que  $E_1 \neq E_2$ , on retombe bien sur l'Eq.B.10.

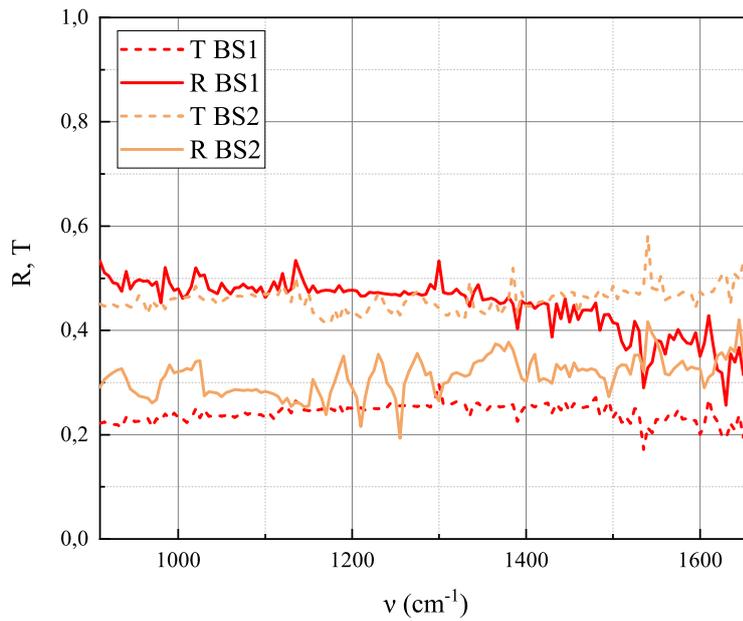
## C Mesures des coefficients de transmission et de réflexion des lames séparatrices



**FIGURE C.1** – Différentes positions du puissance-mètre avant et après (a)  $BS_1$  et (b)  $BS_2$  pour la mesure des coefficients de transmission et de réflexion  $T_{1,2}$  et  $R_{1,2}$ .

Les BS utilisés sur le banc permettent une réflexion et une transmission du faisceau autour de 50 %, dont les valeurs exactes dépendant principalement de la polarisation et de la longueur d'onde du faisceau incident. Cependant, il est important pour la suite des expériences de vérifier quels sont les coefficients réels des deux BS disposés sur le banc interférométrique de Mach Zehnder construit, sans oublier de prendre en compte la polarisation  $S$  du faisceau dans le plan d'incidence. Pour ceci, on utilise un PM Thorlabs PM400 que l'on place à différentes positions sur le banc. Un programme Python permet la mesure de la puissance pour chaque longueur d'onde du faisceau incident. Ainsi, pour mesurer les coefficients  $R_1$  et  $T_1$  de  $BS_1$   $R_2$  et  $T_2$  de  $BS_2$ , un spectre de puissance est mesuré à chaque position du PM présentées sur la Fig.C.1.

Dans le cas des mesures pour  $BS_2$ , les rayons réfléchi et transmis arrivent sur l'une et l'autre des faces, contrairement à  $BS_1$  où le faisceau est unique et séparé en deux bras. Pour effectuer les mesures sur  $BS_2$ , il faut alors cacher l'un des bras pour ne mesurer que la puissance correspondante à la transmission ou la réflexion de l'autre par le BS. Une fois toutes les mesures effectuées, on peut calculer les différents coefficients.  $T_1$  sera obtenu en divisant la mesure 2 par la mesure 1,  $R_1$  en divisant la 3 par la 1 sur la Fig.C.1.a. Puis,  $T_2$  sera obtenue en divisant la

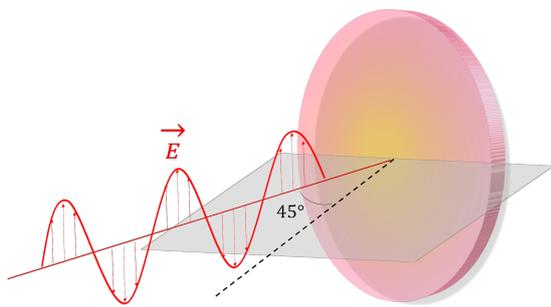


**FIGURE C.2** – Coefficients  $T$  (en pointillés) et  $R$  (en trait continu) obtenus pour  $BS_1$  (en rouge) et  $BS_2$  (en orange).

	P	S
$T$	0,54	0,32
$R$	0,25	0,5

**TABLE C.1** – Coefficients de transmission et de réflexion (moyenne de  $7\ \mu\text{m}$  à  $12\ \mu\text{m}$ ) en polarisation  $P$  et  $S$  tirés des données Thorlabs.

mesure 2 par la 1, et  $R_2$  en divisant la 4 par la 3 sur la Fig.C.1.b. La Fig.C.2 représente les quatre coefficients obtenus en fonction de la longueur d'onde incidente. Pour simplifier, on prend la valeur moyenne de  $R$  et  $T$  sur chaque courbe de la Fig.C.2. Ainsi,  $T_1 = 0,24$ ,  $R_1 = 0,45$ ,  $T_2 = 0,46$  et  $R_2 = 0,31$ . Les coefficients donnés par Thorlabs sont inscrits dans le Tab.C.1, dans le cas d'une polarisation  $P$  et  $S$ .



**FIGURE C.3** – Polarisation du faisceau laser perpendiculaire au plan d'incidence de la lame séparatrice.

Pour rappel, une polarisation  $P$  correspond au cas où la lumière arrive avec son champ électrique  $\vec{E}$  parallèle au plan d'incidence, tandis que pour une polarisation  $S$ , le champ électrique est perpendiculaire au plan d'incidence. Celui-ci est défini par la direction de propagation et la normale à l'optique, ici la lame séparatrice. Nous savons que la lumière IR est polarisée verticalement en sortie du MIRCAt, comme représenté sur la Fig.C.3.

Le faisceau arrive donc  $BS_1$  avec une polarisation  $S$ , ce qui explique les valeurs trouvées, qui

sont proches de celles données par le fournisseur dans ce cas de polarisation. Le faisceau ne peut pas changer de polarisation en arrivant sur  $BS_2$ , si bien que la différence de puissance que l'on observe peut être due aux incertitudes sur les coefficients  $R$  et  $T$  données par le constructeur, et pouvant varier de plus ou moins 15 %.

## D MIRcat : mesures supplémentaires

### IV.1 Caractérisation en courant et en longueur d'onde

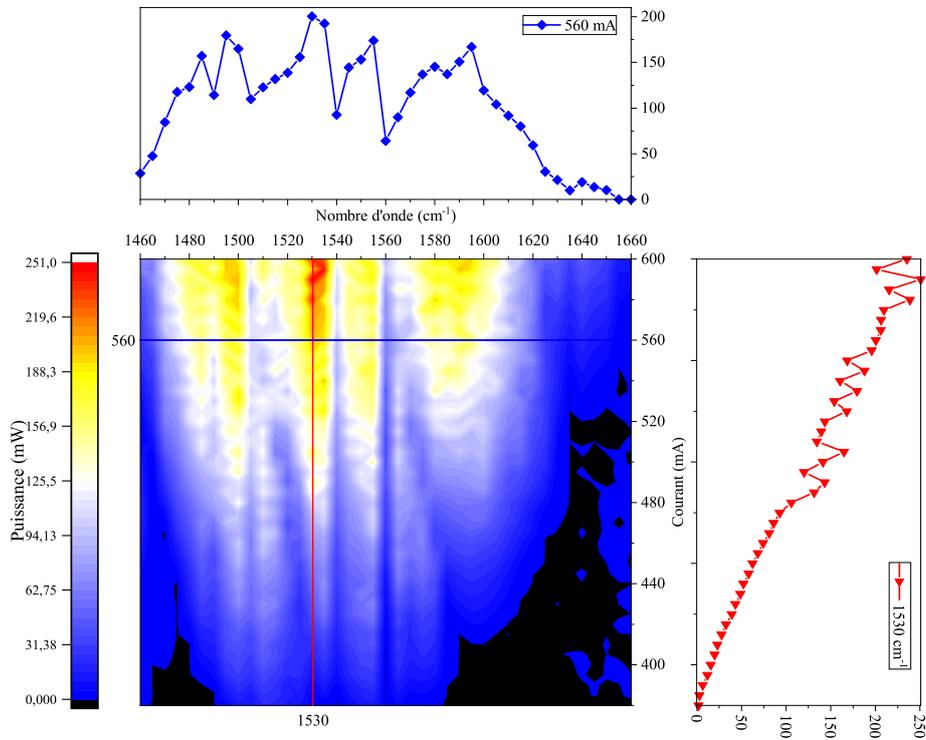


FIGURE D.1 – Cartographie de puissance en fonction du courant du QCL 1.

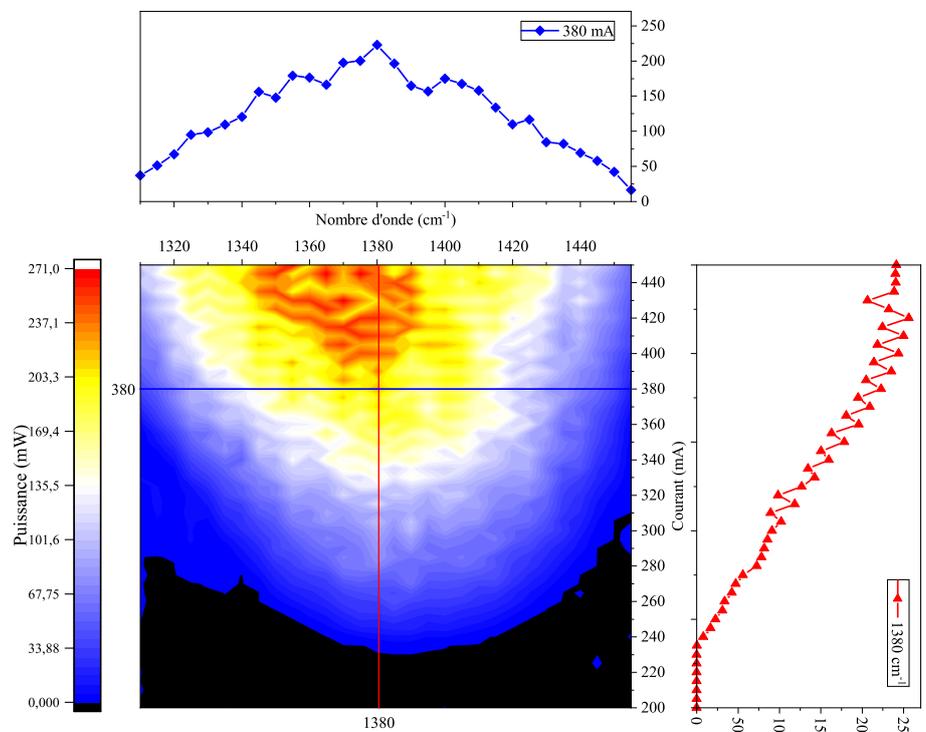


FIGURE D.2 – Cartographie de puissance en fonction du courant du QCL 2.

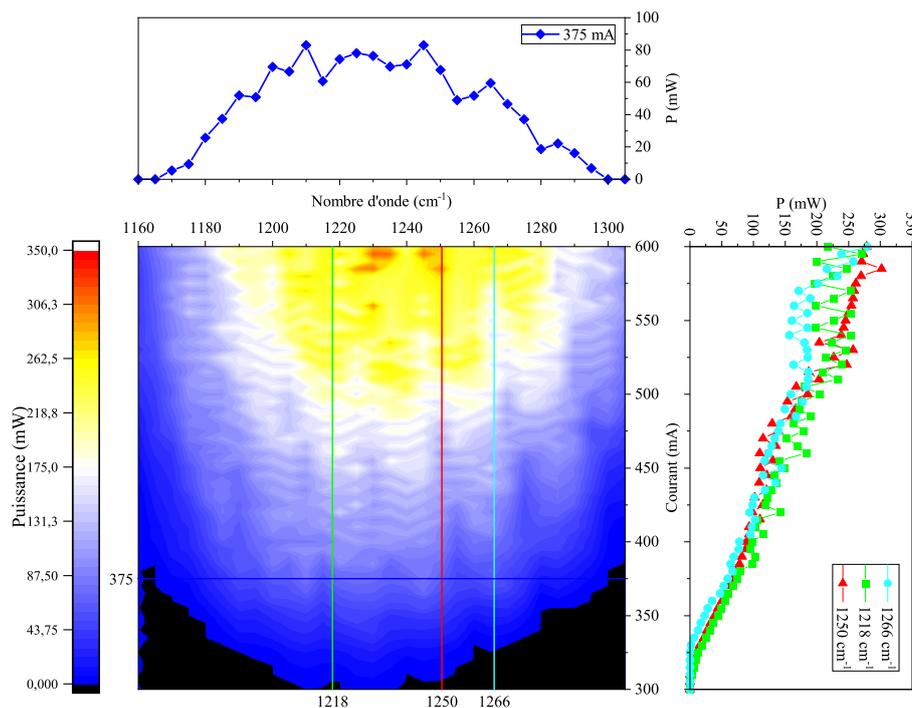


FIGURE D.3 – Cartographie de puissance en fonction du courant du QCL 3.

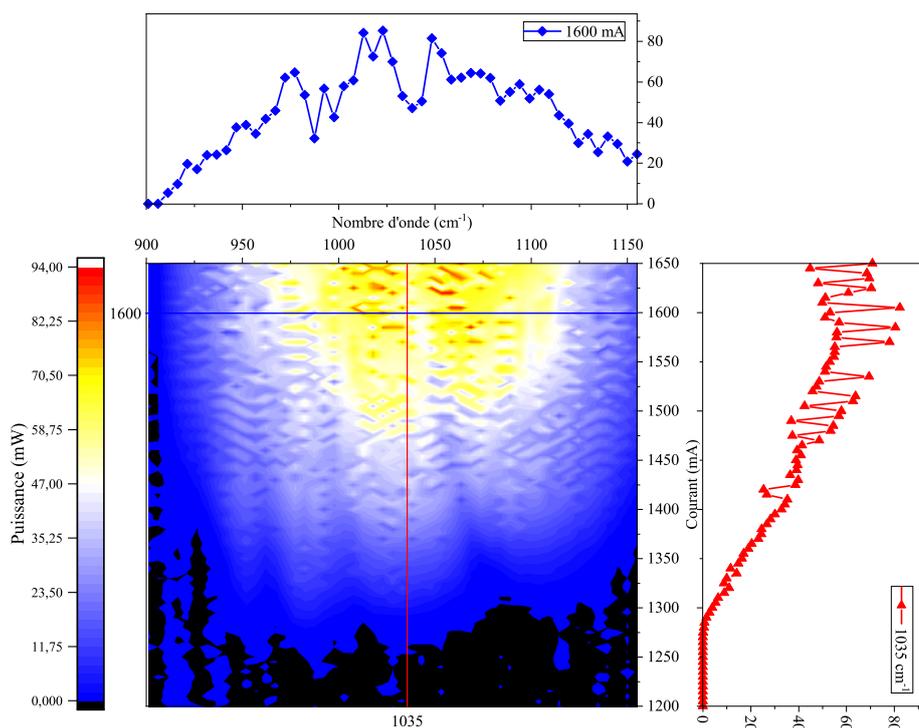


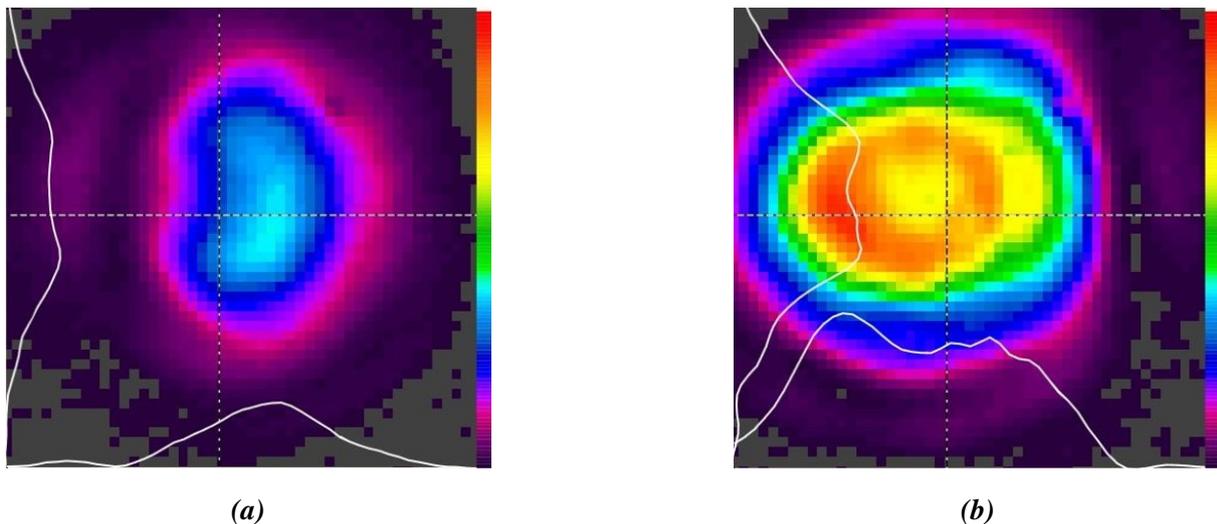
FIGURE D.4 – Cartographie de puissance en fonction du courant du QCL 4.

Les Fig.D.1, D.2, D.3 et D.4 présentent les cartographies de puissance en fonction du nombre d'onde et du courant appliqué pour chacun des QCLs. Les mesures ont été réalisées en sortie du laser, avec le puissancemètre Thorlabs PM400. Les zones apparaissant en noir montrent que pour chaque nombre d'onde, il existe un courant seuil à partir duquel le laser

émet. Les coupes selon un courant montrent les variations de la puissance dues à l'émission des différents en fonction de la longueur d'onde et à l'absorbance de la vapeur d'eau présente dans l'air ambiant. Sur les coupes verticales selon une longueur d'onde en fonction du courant, on remarque que pour les faibles courants, la puissance augmente de façon continue, tandis que pour les courants plus élevés, la puissance présente des sauts. Ceci peut être dû au fait que pour chaque courant, le laser est réglé de nouveau avec le couple de paramètres  $(I, \nu)$ . Ceci pourra constituer un problème de répétabilité des mesures par la suite. Cette difficulté est confirmée et développée dans la Sec.IV.3 de cette annexe.

## IV.2 Première difficulté rencontrée : position du faisceau variable

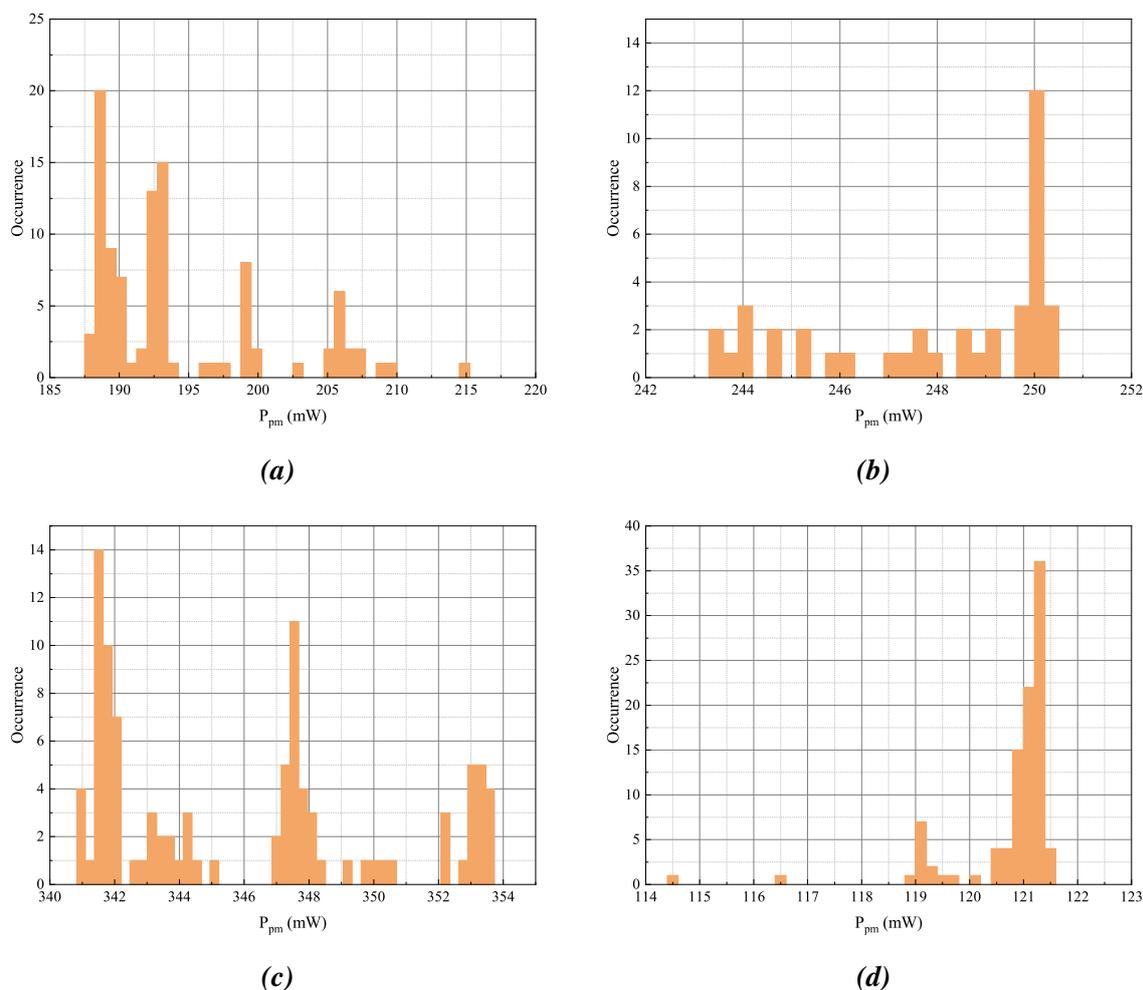
Au cours des expériences menées durant cette thèse, il a été remarqué que le faisceau faisait parfois comme des sauts d'une longueur d'onde à l'autre. Pour vérifier ceci, une caméra IR Spiricon a été placée en sortie de laser, et a permis de confirmer que ce phénomène était bien dû au laser lui-même. Sur la Fig.D.5, deux captures d'écran sont présentées pour illustrer ceci. La Fig.D.5.a a été prise à une longueur d'onde de  $1310 \text{ cm}^{-1}$  tandis que la Fig.D.5.b est réalisée à  $1340 \text{ cm}^{-1}$ . Les deux longueurs d'onde sont donc émises par le même QCL, le QCL 2. On peut alors voir que pour un même QCL, il est possible que celui-ci émette des faisceaux de formes différentes, et ainsi créer un décalage du faisceau sur l'image. Du fait des difformités du faisceau, il est difficile d'en placer le centre. Cependant, on peut voir que le faisceau est décalé à droite sur la première image, puis à gauche sur la seconde, provoquant un écart de quasiment 10 pixels entre les deux, soit 1 mm. Sachant que le détecteur ATTO320 a une surface d'environ 3 mm de coté, cela peut causer un vrai problème lors de l'acquisition des images. Une solution ayant été trouvée est l'expansion du faisceau laser.



**FIGURE D.5** – Images du faisceau en sortie de laser acquises avec la caméra IR Spiricon (pixels de  $100 \mu\text{m}$ ) (a) à  $1310 \text{ cm}^{-1}$  et (b)  $1340 \text{ cm}^{-1}$ .

### IV.3 Seconde difficulté rencontrée : différence de puissance entre des réglages identiques

Durant les expériences, un autre phénomène a été relevé : pour les mêmes réglages en longueur d'onde et en courant, la puissance du faisceau semblait changer. Plus précisément, sur le logiciel de contrôle MIRcat Control Panel, il est possible de choisir la longueur d'onde désirée, mais également le courant envoyé aux bornes du QCL sélectionné automatiquement par le logiciel. Après validation de ces paramètres, ceux-ci sont envoyés comme commandes au laser, qui émet alors un faisceau d'une certaine puissance. En réalisant à plusieurs reprises cette opération, il a premièrement été remarqué sur les images de l'ATTO320 que les niveaux de gris pouvaient sauter d'une valeur à l'autre, ce qui témoignait d'un changement de puissance lors de la validation des paramètres, bien qu'ils restent inchangés. L'imageur étant cependant placé en sortie du MZI, cela aurait pu venir d'une quelconque interaction du faisceau avec un élément du banc, ou extérieur, modifiant brusquement la puissance en sortie du montage.



**FIGURE D.6** – Histogrammes de 100 valeurs de puissance mesurées au PM400 en sortie du MIRcat. (a) QCL 1,  $1600\text{ cm}^{-1}$ , 600 mA. (b) QCL 2,  $1400\text{ cm}^{-1}$ , 450 mA. (c) QCL 3,  $1250\text{ cm}^{-1}$ , 600 mA. (d) QCL 4,  $1100\text{ cm}^{-1}$ , 1650 mA.

	QCL 1	QCL 2	QCL 3	QCL 4
$\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	1600	1400	1250	1100
$I$ (mA)	600	450	600	1650
Nb de puissances	4	3	5	2
Valeurs de $P$ (mW)	189, 193, 199, 206	244, 248, 250	341, 343, 347, 350, 353	119, 121
$P$ principale (mW)	189	250	341	121

**TABLE D.1** – Tableau récapitulatif des histogrammes de puissance en sortie de MIRcat pour chaque QCL.

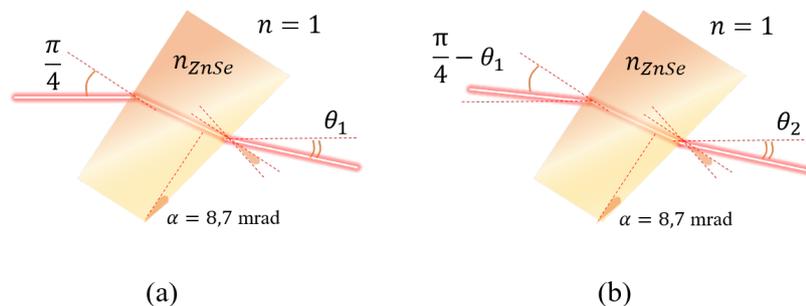
Aussi, cela aurait pu être dû à l’imageur lui-même, ou encore à un dysfonctionnement du logiciel du MIRcat. Afin de vérifier que ce phénomène était purement dû au laser, un puissance-mètre PM400 a simplement été placé directement en sortie du laser, et les mesures ont été faites en envoyant les consignes de longueur d’onde et de courant directement depuis le programme Python prévu à cet effet, et non par l’intermédiaire du logiciel. Les mesures ont été réalisées pour chaque QCL, au courant maximal autorisé. Une longueur d’onde par QCL a été choisie arbitrairement pour vérifier et illustrer ce phénomène. Durant la mesure, le laser est d’abord armé avant d’envoyer la consigne  $(\nu, I)$  à 100 reprises au laser. 100 valeurs de puissance sont alors acquises, et permettent d’obtenir un histogramme de puissance. Ces histogrammes sont présentés sur la Fig.D.6. Chacun des histogrammes correspond à une longueur d’onde d’un QCL. Sur le QCL 1 (Fig.D.6.a), on distingue quatre puissances privilégiées. Cela est plus difficile à voir sur la Fig.D.6.b pour le QCL 2, où une seule puissance ressort en priorité, mais où l’occurrence d’autres puissances n’est pas négligeable. Sur le QCL 3, celui utilisé en majorité dans cette thèse, on distingue facilement trois puissances différentes, et deux autres moins fréquentes. Enfin, pour le QCL 4, on peut noter que deux puissances ont été majoritairement mesurées durant l’expérience. Le Tab.D.1 résume les différentes puissances mesurées en sortie du laser pour chaque longueur d’onde étudiée.

Une expérience avec un nombre plus important de mesures (1000, par exemple) serait nécessaire afin d’obtenir une répartition des puissances plus distincte sur les histogrammes. Cependant, 100 mesures permettent déjà de distinguer une tendance et ainsi, de conclure que ce phénomène est dû au laser lui-même. Comme expliqué au Chap.2, l’une des hypothèses est le mauvais asservissement du moteur servant à faire tourner le réseau de diffraction sur son axe, ce qui induit une mauvaise sélection de la longueur d’onde par rapport à la consigne, et expliquerait ce changement de puissance pour un même courant. Pour vérifier cela, il faudrait vérifier les longueurs d’onde du faisceau grâce au spectromètre FTIR, ce qui n’a pas pu être fait pour des raisons pratiques et logistiques au laboratoire. Quoiqu’il en soit, ce phénomène pose problème pour les mesures, notamment celles où il faut une mesure de référence, comme l’absorption, ou l’une des méthodes interférométriques (voir Chap.3). Cela nous a imposé de minimiser la répétition de réglages et prendre une mesure de référence à chaque réglage. En effet, le changement de position de l’échantillon pour la mesure de référence se fait à chaque longueur d’onde, ce qui permet de ne pas renvoyer les consignes entre les acquisitions de l’image de référence et de mesure.

## E Différentes étapes d'alignement de l'interféromètre de Mach Zehnder

### V.1 Construction du parallélogramme

La première étape de l'alignement consiste à former le parallélogramme constituant le MZI. Tout d'abord, le MIRcat est placé en premier sur la paillasse, et le faisceau est vérifié comme étant parfaitement parallèle à la table et sans déviation en sortie de laser. Le parallélogramme est formé à partir de  $BS_1$ ,  $BS_2$ ,  $M_1$  et  $M_2$ . Tous sont préalablement placés dans leur monture, et un premier réglage de la hauteur est effectué, de façon à ce que le faisceau laser les atteigne en leur centre.  $BS_1$  est la première optique à être placée sur le banc. Les BS en ZnSe utilisés possèdent un angle de 30 minutes d'arc ( $0.5^\circ$ ,  $8.7 \text{ mrad}$ ) entre leurs deux faces de façon à limiter les interférences internes.

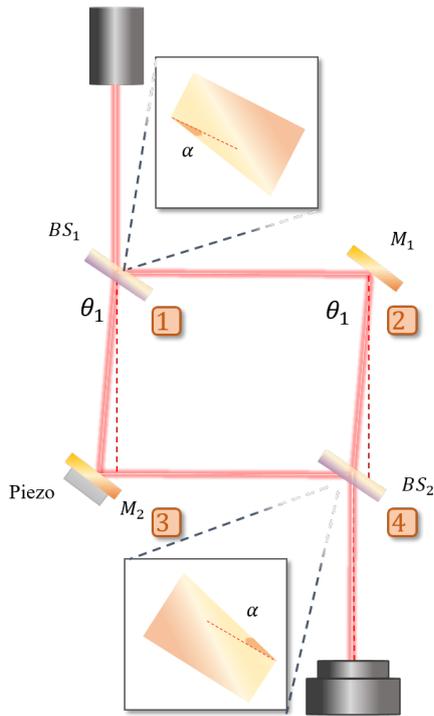


**FIGURE E.1** – Schéma d'optique géométrique pour le calcul de l'angle du faisceau en sortie des BS. (a) En sortie de  $BS_1$ . (b) En sortie de  $BS_2$ .

Cet angle induit une déviation des faisceaux transmis sur l'axe horizontal, ne pouvant pas être modifiée par une manipulation des vis micrométriques des montures. A l'aide d'une carte thermique placée assez loin du faisceau pour une plus grande précision (en dehors de la table, à plus d'un mètre si la salle le permet), sur un premier repère, on règle dans un premier temps la hauteur du faisceau en tournant le BS délicatement dans sa monture jusqu'à ce que le faisceau soit parallèle à la table. Cette position sera fixe pour toute la suite de l'alignement et déterminera l'angle de déviation  $\theta_1$  en sortie du BS sur l'axe horizontal. Ceci étant fait,  $BS_1$  est pré-positionné devant le laser avec un angle d'incidence de 45 degrés. Comme représenté sur la Fig.E.1, le faisceau est dévié une première fois d'un angle  $\theta_1$  en sortie de  $BS_1$ . Puisque le banc a été aligné de façon à obtenir un parallélogramme, le faisceau arrivant sur  $BS_2$  est parallèle à celui en sortie de  $BS_1$ . Ainsi, le faisceau arrive sur la première face de  $BS_2$  avec un angle d'incidence égal à  $\pi/4 - \theta_1$  et ressort par la seconde face avec un angle  $\theta_2$ . Les lois de Snell-Descartes permettent de trouver les Eq.E.1 et de calculer ces angles. L'indice de réfraction du ZnSe est considéré comme constant sur la plage spectrale de nos expériences avec une valeur de 2.4. Tous calculs faits, les valeurs de  $\theta_1$  et  $\theta_2$  sont respectivement égales à  $0.02 \text{ rad}$  et  $5.2 \times 10^{-4} \text{ rad}$ . En plaçant les deux BS symétriquement l'un par rapport à l'autre, la déviation du faisceau en sortie du MZI est négligeable. Le parallélogramme devant être formé est tel que représenté sur la Fig.E.2.

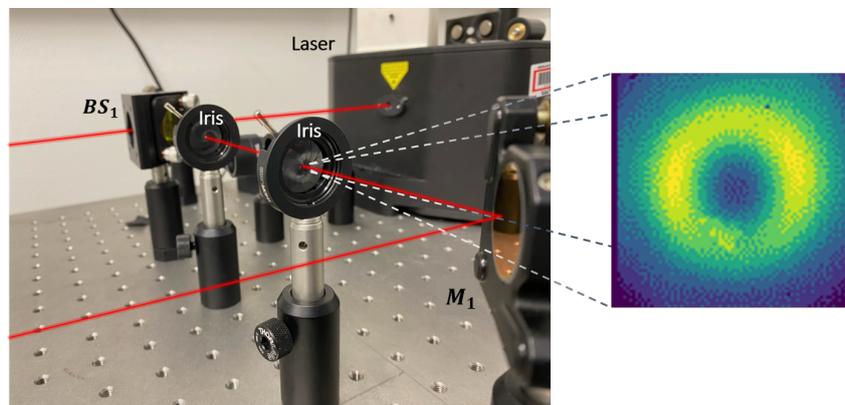
$$\theta_1 = \alpha - \arcsin \left[ n_{ZnSe} \sin \left( \alpha + \arcsin \left( \frac{1}{\sqrt{2} n_{ZnSe}} \right) \right) \right] + \frac{\pi}{4} \quad (\text{E.1})$$

$$\theta_2 = \alpha - \arcsin \left[ n_{ZnSe} \sin \left( \alpha + \arcsin \left( \frac{\sin(\pi/4 - \theta_1)}{n_{ZnSe}} \right) \right) \right] + \frac{\pi}{4}$$



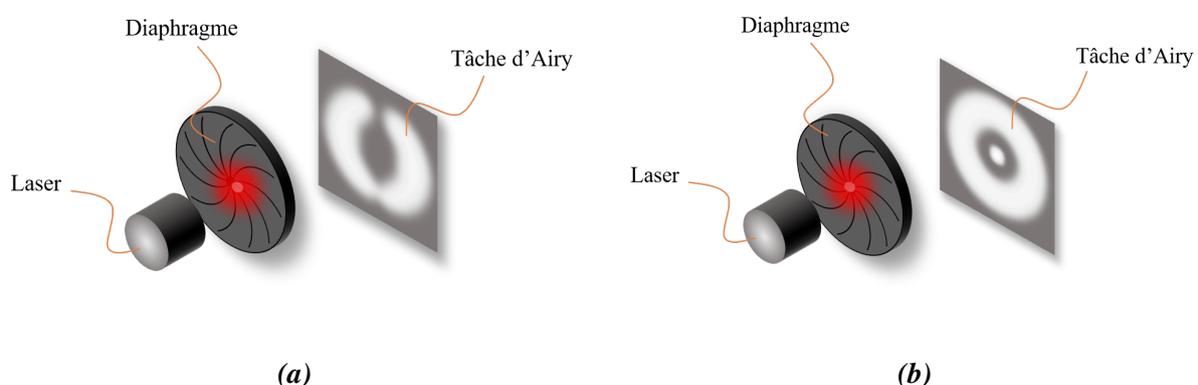
Pour faciliter l'alignement et améliorer la précision de celui-ci, on se servira d'abord des trous de la paillasse afin de former un premier carré (traits pointillés sur la Fig.E.2), avant d'ajuster les angles du parallélogramme. La première étape est le placement de  $BS_1$  et l'ajustement de son angle de façon à aligner le faisceau réfléchi avec les trous de la table optique. Une fois cette position ajustée, cela permettra de mesurer l'angle  $\theta_1$  en sortie de  $BS_1$ . Pour ce faire, on place deux diaphragmes sur la trajectoire du faisceau réfléchi par  $BS_1$  en utilisant des montures qui permettent de les placer exactement sur les trous de la table en direction de  $M_1$  (voir Fig.E.3).

**FIGURE E.2** – Schéma du parallélogramme à reproduire pour l'alignement du MZI. Les optiques sont placés dans l'ordre indiqué par les chiffres.



**FIGURE E.3** – Photographie des diaphragmes servant à l'alignement et anneaux de diffraction observés sur un Micro80 lors du passage du faisceau IR à travers le diaphragme en position fermée.

L'utilisation du diaphragme permet d'être très précis. En effet, lorsque le diaphragme est en position fermée, on observe une tâche d'Airy. Le but est alors de régler la position du faisceau de façon à avoir une intensité des anneaux qui respectent une symétrie de révolution (voir Fig.E.4). La tâche d'Airy n'est pas visible sur la carte thermique, il faut donc utiliser l'imageur IR<sup>1</sup> pour cette étape, en veillant à garder une puissance laser ne risquant pas de l'endommager. La hauteur des diaphragmes dans leur monture est préalablement réglée de cette façon en sortie de laser avant de les placer sur la trajectoire du faisceau réfléchi par  $BS_1$ , à l'aide des trous de la paillasse. L'angle de  $BS_1$  est alors ajusté de façon à ce que le faisceau réfléchi traverse les deux diaphragmes en position fermée. On place alors  $M_1$  de façon à ce que le faisceau réfléchi tape au centre du miroir, avec un angle d'incidence de 45 degrés. Avec le même protocole que précédemment, on ajuste l'orientation du faisceau réfléchi par  $M_1$ . Les deux diaphragmes sont placés sur les trous de la paillasse en direction de  $BS_2$ , comme si l'on voulait former un MZI de géométrie carrée (voir trajectoire en pointillés sur la Fig.E.2).



**FIGURE E.4** – Allure de la tâche d'Airy observée sur l'écran après passage par le diaphragme (a) si le faisceau n'est pas centré, (b) si le faisceau est centré.

L'étape suivante est l'ajustement des angles du parallélogramme. Comme discuté plus haut, le faisceau transmis par  $BS_1$  est dévié d'un angle  $\theta_1$ . L'objectif est de dévier le faisceau réfléchi par  $M_1$  du même angle, de sorte à ce que les deux rayons soient parallèles. Pour ce faire, on place une carte thermique à une distance connue  $d$  de  $BS_1$ , le plus éloigné possible pour plus de précision, sur un mur de la pièce par exemple, et on mesure l'écart  $e$  entre la position réelle du faisceau et celle qu'il aurait s'il n'était pas dévié. Ainsi, on peut déterminer  $\theta_1 = \arctan\left(\frac{e}{d}\right)$ . On place ensuite le détecteur (plus précis qu'une carte thermique) à une distance connue de  $M_1$ , et connaissant  $\theta_1$ , on le décale de la distance correspondante à cette déviation. Avec les vis de la monture de  $M_1$ , on ajuste la position du faisceau réfléchi de façon à taper au centre du bolomètre.

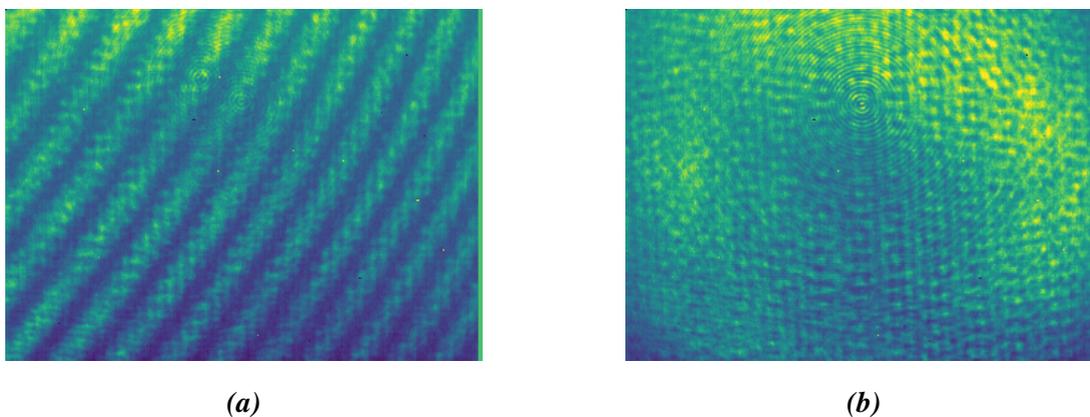
Maintenant que les deux faisceaux réfléchis sont parallèles, il reste à placer les deux derniers éléments :  $M_2$  sur son support piezo-électrique et  $BS_2$ . Comme précédemment, on place deux diaphragmes sur les trous de la table sur la trajectoire de  $M_2$  à  $BS_2$ .  $M_2$  est placé de telle sorte que le faisceau transmis par  $BS_1$  arrive au centre du miroir et soit réfléchi en passant par les

1. Pour ces réglages où la densité de puissance peut saturer voire surexposer les micro-bolomètres, c'est une ancienne matrice Micro80 qui a été utilisée, avec des pixels déjà endommagés.

deux diaphragmes en position fermée. Enfin,  $BS_2$  est le dernier élément placé. Il est orienté symétriquement à  $BS_1$  pour compenser la déviation du faisceau transmis : la face traitée anti-reflet (AR) vers l'extérieur du MZI. Sa position est ajustée en mesurant les distances  $BS_1 - M_1$  et  $BS_1 - M_2$  et en les reportant respectivement sur  $M_2 - BS_2$  et  $M_1 - BS_2$ . Le faisceau transmis par  $BS_2$  est donc orienté à environ 90 degrés par rapport à celui réfléchi par  $M_2$ . La formation du parallélogramme est terminée. Les deux faisceaux doivent maintenant être précisément superposés de façon à interférer.

## V.2 Alignement des faisceaux en sortie du MZI : interférences

Le montage MZI souhaité est du même type qu'un montage d'holographie dans l'axe. Les deux bras doivent être parfaitement superposés en sortie de  $BS_2$ , de façon à obtenir une frange dite infinie, que l'on nommera plus souvent teinte plate par abus de langage. Pour superposer les faisceaux, on se servira dans un premier temps d'une carte thermique, puis on utilisera ensuite le détecteur pour plus de précision. En plaçant la carte thermique le plus loin possible de  $BS_2$ , l'angle du faisceau réfléchi par  $BS_2$  (provenant de  $M_2$ ) par rapport au faisceau transmis par  $BS_2$  (provenant de  $M_1$ ) est réglé en ajustant  $BS_2$  grâce aux vis de la monture : sur la carte thermique, les deux faisceaux doivent se superposer. Puis, après avoir rapproché la carte thermique, le faisceau transmis est superposé sur le faisceau réfléchi en ajustant la position du miroir  $M_2$ . Ces deux opérations sont répétées successivement jusqu'à ce que les faisceaux soient superposés de près comme de loin. Les franges d'interférences résultantes peuvent maintenant être observées sur le détecteur IR.



**FIGURE E.5** – (a) Franges d'interférences en "coin d'air". (b) Frange d'interférence unique : "teinte plate".

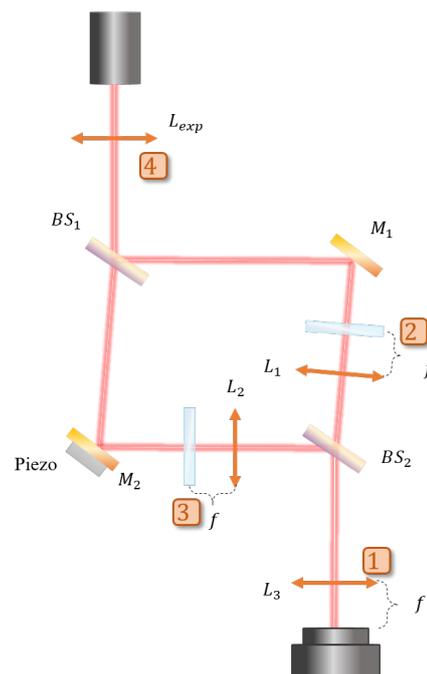
Si les éléments du montage ont été parfaitement positionnés, la teinte plate est directement obtenue, l'alignement est donc terminé. Dans le cas contraire, beaucoup plus probable, quelques réglages supplémentaires sont nécessaires. L'image obtenue sur le détecteur rend compte de la figure d'interférences résultante des réglages précédents. A cette étape de l'alignement, il est très probable que les franges soient de type "coin d'air" : des franges rectilignes successivement constructives et destructives, du fait de l'angle résiduel entre les deux fronts d'onde arrivant sur le détecteur (voir Fig.E.5.a). Dans ce cas, la méthode d'alignement précédente (de près avec  $M_2$  et de loin avec  $BS_2$ ) est de nouveau utilisée, mais cette fois-ci avec une plus grande

précision grâce au détecteur. De près, le faisceau transmis est d'abord coupé avec un shutter et l'emplacement du faisceau réfléchi est marqué d'un repère. Le faisceau réfléchi est ensuite caché, pour pouvoir régler la position du faisceau transmis sur le repère à l'aide de  $M_2$ . De loin, c'est l'opération inverse qui est effectuée. Le gain du détecteur peut être augmenté afin de distinguer plus facilement le centre du faisceau laser gaussien sur lequel placer le repère. Ces deux opérations sont répétées jusqu'à ce que les faisceaux soient alignés de près comme de loin. Dans ce cas, la figure d'interférences obtenue est une frange unique (voir Fig.E.5.b).

### V.3 Placement du système de lentilles et des échantillons

Après avoir obtenu le parallélogramme formant le MZI et une fois la teinte plate réglée, les lentilles constituant le système d'imagerie peuvent être placées. D'abord, la lentille commune aux deux bras est placée à une distance  $f = 50\text{ mm}$  de l'imageur. Le faisceau étant focalisé sur le détecteur lors de cette manipulation, la puissance du laser est baissée, par exemple grâce à une densité optique, pour ne pas l'endommager. Sa position est réglée de façon à placer la teinte plate focalisée au centre de l'image. Ensuite, les lentilles  $L_1$  et  $L_2$  sont placées successivement, en coupant le faisceau du second bras l'un après l'autre. Elles doivent être à une distance égale de  $BS_2$ . Le faisceau n'est alors plus focalisé, et son diamètre doit être le même qu'avant le placement des lentilles.  $L_1$  et  $L_2$ , une fois placées, peuvent avoir un certain angle par rapport au faisceau incident, ce qui modifie la teinte plate pour créer des franges de type coin d'air. A cette étape de l'alignement, le but est de retrouver la teinte plate obtenue en Sec.V.2 en jouant sur la position  $(x, y)$  et l'angle des lentilles.

La dernière lentille à placer est celle servant à l'expansion du faisceau. La lentille d'expansion  $L_{exp}$  doit être commune aux deux bras du MZI, elle est donc placée en sortie du laser, avant  $BS_1$ . Son angle est ajusté de façon à retrouver une teinte plate. Une fois  $L_{exp}$ ,  $L_1$ ,  $L_2$  et  $L_3$  placées sur le MZI aligné, reste à ajouter sur chacun des bras les échantillons de mesure et de référence, à la focale des lentilles  $L_1$  et  $L_2$ .



**FIGURE E.6** – Schéma du placement des lentilles et des échantillons. Dans l'ordre :  $L_3$ ,  $L_{1,2}$ , lentille d'expansion, échantillons.

## F Démonstration de la formule de l'indice réel effectif $n_{eff}$

Dans cette annexe, nous démontrons l'expression de l'indice effectif  $n_{eff}$  d'un échantillon contenant  $N$  espèces différentes dans de l'eau.

*Démonstration.* Les espèces sont supposées non miscibles entre elles et dans l'eau. Chaque espèce  $i$  est présente dans l'échantillon en quantité fractionnaire  $f_i = V_i/V_{tot}$ , et l'ensemble de l'échantillon respecte l'inégalité  $\sum_{i=0}^N f_i < 1$ . L'ordre 0 de la récurrence correspond au cas où il n'y a qu'une seule espèce dans l'eau. Dans la section III.1.1, nous avons vu que pour un échantillon d'épaisseur fixe contenant deux espèces non miscibles (par exemple une fraction  $f$  d'un MP dans l'eau), l'indice de réfraction imaginaire effectif de l'échantillon peut s'écrire :

$$k_{eff} = k_{esp} \times f + k_e \times (1 - f) \quad (\text{F.1})$$

où  $k_{esp}$  est l'indice de réfraction imaginaire (traduisant l'absorption) de l'espèce introduite, et  $k_e$  celui de l'eau. Pour rappel, les indices réel et imaginaire  $n$  et  $k$  sont liés l'un à l'autre par les relations de Kramers Kronig. Au Chap.1, Sec.II.1.4, nous avons établi les relations de Kramers Kronig entre les indices  $n$  et  $k$  (Eq.1.23). En adaptant à  $n_{eff}$  et  $k_{eff}$ , il vient :

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_{eff}(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ &= 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega (k_{esp}(\Omega) f + k_e(\Omega) (1 - f))}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \end{aligned}$$

L'intégrale étant linéaire, nous pouvons développer l'équation précédente en trois intégrales :

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= 1 + \frac{2}{\pi} f P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_{esp}(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega - \frac{2}{\pi} f P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ &= n_e(\omega) + \frac{2}{\pi} f P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_{esp}(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega - \frac{2}{\pi} f P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \end{aligned}$$

Enfin, une astuce mathématique  $(+f - f)$  permet de terminer la démonstration :

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= n_e(\omega) + f \times 1 - f \times 1 + \frac{2}{\pi} f P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_{esp}(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega - \frac{2}{\pi} f P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ &= n_e(\omega) + f \times \left( 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_{esp}(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \right) - f \times \left( 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \right) \\ &= n_e(\omega) - f \times n_e(\omega) + f \times n_{esp}(\omega) \\ &= n_e(\omega) \times (1 - f) + n_{esp}(\omega) \times f \end{aligned}$$

Ce qui montre finalement qu'à l'ordre 0, les indices de réfraction effectifs réel et imaginaire  $n_{eff}$  et  $k_{eff}$  d'un échantillon suivant le modèle *couches* respectent les mêmes égalités.

Cette égalité peut maintenant être vérifiée à l'ordre  $N$ . On sait que :

$$k_{eff} = \sum_{i=0}^N k_i \times f_i + k_e \times \left( 1 - \sum_{i=0}^N f_i \right) \quad (\text{F.2})$$

De la même façon qu'à l'ordre 0, nous pouvons écrire :

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_{eff}(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ &= 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega \left( \sum_{i=0}^N f_i k_i(\Omega) + k_e(\Omega)(1 - \sum_{i=0}^N f_i) \right)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \end{aligned}$$

On peut ensuite développer l'équation précédente :

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= 1 + \frac{2}{\pi} f_0 P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_0(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega + \dots + \frac{2}{\pi} f_N P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_N(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \\ &\quad + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega - \frac{2}{\pi} f_0 P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega - \dots - \frac{2}{\pi} f_N P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \end{aligned}$$

En identifiant les relations de Kramers Kronig pour l'eau, en ajoutant  $\sum_{i=0}^N f_i - \sum_{i=0}^N f_i$  (ce qui revient à faire  $+f_i - f_i$  pour chaque espèce  $i$ ) et en factorisant par  $f_i$ , on trouve :

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= n_e(\omega) + f_0 \left( 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_0(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \right) - f_0 \left( 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \right) \\ &\quad + \dots \\ &\quad + f_N \left( 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_N(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \right) - f_N \left( 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{+\infty} \frac{\Omega k_e(\Omega)}{\Omega^2 - \omega^2} d\Omega \right) \end{aligned}$$

Les relations de Kramers Kronig sont désormais identifiables pour l'eau et pour chaque espèce  $i$ . Ainsi,

$$\begin{aligned} n_{eff}(\omega) &= n_e(\omega) + f_0 n_0(\omega) - f_0 n_e(\omega) + \dots + f_N n_N(\omega) - f_N n_e(\omega) \\ &= n_e(\omega) - \sum_{i=0}^N f_i n_e(\omega) + \sum_{i=0}^N f_i n_i(\omega) \\ &= n_e(\omega) \left( 1 + \sum_{i=0}^N f_i \right) + \sum_{i=0}^N f_i n_i(\omega) \end{aligned}$$

Cela prouve donc que quelque soit le nombre d'espèces différentes introduites dans l'eau, dans le cas du modèle *couches*, les indices de réfraction effectifs réel et imaginaire  $n_{eff}$  et  $k_{eff}$  respectent bien les mêmes égalités.  $\square$



# Bibliographie

---

- [1] A. Dabrowska, S. Lindner, A. Schwaighofer, and B. Lendl, “Mid-IR Dispersion Spectroscopy – A New Avenue for Liquid Phase Analysis,” *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, p. 122014, Oct. 2022. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142522011623>
- [2] B. H. Stuart, *Infrared spectroscopy : fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2004.
- [3] R. Menzel, *Photonics : Linear and Nonlinear Interactions of Laser Light and Matter*, ser. *Advanced texts in physics*. Springer Berlin Heidelberg, 2007. [Online]. Available : <https://books.google.fr/books?id=yTz3zDGVBNC>
- [4] R. d. L. Kronig, “On the theory of dispersion of x-rays,” *Josa*, vol. 12, no. 6, pp. 547–557, 1926.
- [5] H. A. Kramers, “La diffusion de la lumiere par les atomes,” in *Atti Cong. Intern. Fisica (Transactions of Volta Centenary Congress) Como*, vol. 2, 1927, pp. 545–557.
- [6] N. G. van Kampen and F. Lurçat, “Causalité et relations de Kramers-Kronig,” p. 14.
- [7] C. V. Raman and K. S. Krishnan, “A New Type of Secondary Radiation,” *Nature*, vol. 121, no. 3048, pp. 501–502, Mar. 1928, number : 3048 Publisher : Nature Publishing Group. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/121501c0>
- [8] K. Kong, C. Kendall, and N. Stone, “Raman spectroscopy for medical diagnostics — From in-vitro biofluid assays to in-vivo cancer detection,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 89, pp. 121–134, Jul. 2015. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X15000447>
- [9] P. M. Anger, E. von der Esch, T. Baumann, M. Elsner, R. Niessner, and N. P. Ivleva, “Raman microspectroscopy as a tool for microplastic particle analysis,” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 109, pp. 214–226, Dec. 2018. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993618304643>
- [10] H. J. Butler, L. Ashton, B. Bird, G. Cinque, K. Curtis, J. Dorney, K. Esmonde-White, N. J. Fullwood, B. Gardner, P. L. Martin-Hirsch, M. J. Walsh, M. R. McAinsh, N. Stone, and F. L. Martin, “Using Raman spectroscopy to characterize biological materials,” *Nature Protocols*, vol. 11, no. 4, pp. 664–687, Apr. 2016. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/nprot.2016.036>
- [11] S. Schlücker, M. D. Schaeberle, S. W. Huffman, and I. W. Levin, “Raman Microspectroscopy : A Comparison of Point, Line, and Wide-Field Imaging

- Methodologies,” *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 16, pp. 4312–4318, Aug. 2003, publisher : American Chemical Society. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/ac034169h>
- [12] M. D. Morris and G. S. Mandair, “Raman Assessment of Bone Quality,” *Clinical Orthopaedics & Related Research*, vol. 469, no. 8, pp. 2160–2169, Aug. 2011. [Online]. Available : <https://journals.lww.com/00003086-201108000-00008>
- [13] T. Vankeirsbilck, A. Vercauteren, W. Baeyens, G. Van der Weken, F. Verpoort, G. Vergote, and J. Remon, “Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis,” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, no. 12, pp. 869–877, Dec. 2002. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993602012086>
- [14] M. J. Baker, J. Trevisan, P. Bassan, R. Bhargava, H. J. Butler, K. M. Dorling, P. R. Fielden, S. W. Fogarty, N. J. Fullwood, K. A. Heys, C. Hughes, P. Lasch, P. L. Martin-Hirsch, B. Obinaju, G. D. Sockalingum, J. Sulé-Suso, R. J. Strong, M. J. Walsh, B. R. Wood, P. Gardner, and F. L. Martin, “Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials,” *Nature Protocols*, vol. 9, no. 8, pp. 1771–1791, Aug. 2014. [Online]. Available : <http://www.nature.com/articles/nprot.2014.110>
- [15] V. Z. Williams, “An Infrared Spectrophotometer for the Organic Chemist,” *Applied Spectroscopy*, vol. 12, no. 1, pp. 1–5, Feb. 1958, publisher : Society for Applied Spectroscopy. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/as/abstract.cfm?uri=as-12-1-1>
- [16] G. Bellisola and C. Sorio, “Infrared spectroscopy and microscopy in cancer research and diagnosis,” p. 21.
- [17] C. Petter, N. Heigl, M. Rainer, R. Bakry, J. Pallua, G. Bonn, and C. Huck, “Development and Application of Fourier-Transform Infrared Chemical Imaging of Tumour in Human Tissue,” *Current Medicinal Chemistry*, vol. 16, no. 3, pp. 318–326, Jan. 2009. [Online]. Available : <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=16&issue=3&spage=318>
- [18] J. D. Pallua, C. Pezzei, B. Zelger, G. Schaefer, L. K. Bittner, V. A. Huck-Pezzei, S. A. Schoenbichler, H. Hahn, A. Kloss-Brandstaetter, F. Kloss, G. K. Bonn, and C. W. Huck, “Fourier transform infrared imaging analysis in discrimination studies of squamous cell carcinoma,” *The Analyst*, vol. 137, no. 17, p. 3965, 2012. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=c2an35483g>
- [19] K.-Z. Liu, M. Xu, and D. A. Scott, “Biomolecular characterisation of leucocytes by infrared spectroscopy,” *British Journal of Haematology*, vol. 136, no. 5, pp. 713–722, 2007, \_eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2141.2006.06474.x>. [Online]. Available : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2141.2006.06474.x>
- [20] P. Lasch, M. Stämmeler, M. Zhang, M. Baranska, A. Bosch, and K. Majzner, “FT-IR Hyperspectral Imaging and Artificial Neural Network Analysis for Identification of Pathogenic Bacteria,” *Analytical Chemistry*, vol. 90, no. 15, pp. 8896–8904, Aug. 2018. [Online]. Available : <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.8b01024>
- [21] A. Käppler, F. Windrich, M. G. J. Löder, M. Malanin, D. Fischer, M. Labrenz, K.-J. Eichhorn, and B. Voit, “Identification of microplastics by FTIR and Raman microscopy : a novel silicon filter substrate opens the important spectral range below 1300 cm<sup>1</sup> for FTIR transmission measurements,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol.

- 407, no. 22, pp. 6791–6801, Sep. 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8850-8>
- [22] H. Fabian and W. Mäntele, Infrared Spectroscopy of Proteins. John Wiley Sons, Ltd, 2006. [Online]. Available : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0470027320.s8201>
- [23] H. Yang, S. Yang, J. Kong, A. Dong, and S. Yu, “Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy,” Nature Protocols, vol. 10, no. 3, pp. 382–396, Mar. 2015, number : 3 Publisher : Nature Publishing Group. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/nprot.2015.024>
- [24] M. J. Pilling, A. Henderson, B. Bird, M. D. Brown, N. W. Clarke, and P. Gardner, “High-throughput quantum cascade laser (QCL) spectral histopathology : a practical approach towards clinical translation,” Faraday Discussions, vol. 187, pp. 135–154, 2016. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5FD00176E>
- [25] P. Bassan, A. Sachdeva, J. H. Shanks, M. D. Brown, N. W. Clarke, and P. Gardner, “Whole organ cross-section chemical imaging using label-free mega-mosaic FTIR microscopy,” The Analyst, vol. 138, no. 23, p. 7066, 2013. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3an01674a>
- [26] S. G. Kazarian and K. A. Chan, “Atr-ftir spectroscopic imaging : recent advances and applications to biological systems,” Analyst, vol. 138, no. 7, pp. 1940–1951, 2013.
- [27] J. L. Galudec, “Imagerie hyperspectrale infrarouge pour l’identification sans marquage de pathogènes sur milieu gélosé,” phdthesis, Université Grenoble Alpes [2020-....], Mar. 2022. [Online]. Available : <https://theses.hal.science/tel-03720569>
- [28] B. Bird and J. Rowlette, “High definition infrared chemical imaging of colorectal tissue using a Spero QCL microscope,” The Analyst, vol. 142, no. 8, pp. 1381–1386, 2017. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6AN01916A>
- [29] A. Kallenbach-Thieltges, F. Großerueschkamp, H. Jütte, C. Kuepper, A. Reinacher-Schick, A. Tannapfel, and K. Gerwert, “Label-free, automated classification of microsatellite status in colorectal cancer by infrared imaging,” Scientific Reports, vol. 10, no. 1, p. 10161, Jun. 2020. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/s41598-020-67052-z>
- [30] T. Kümmel, B. van Marwick, M. Rittel, C. Ramallo Guevara, F. Wühler, T. Teumer, B. Wängler, C. Hopf, and M. Rädle, “Rapid brain structure and tumour margin detection on whole frozen tissue sections by fast multiphotometric mid-infrared scanning,” Scientific Reports, vol. 11, no. 1, p. 11307, May 2021, number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/s41598-021-90777-4>
- [31] G. Mathieu, M. Dupoy, S. Bonnet, V. Rebuffel, J.-L. Coll, and M. Henry, “MID infrared multispectral imaging for tumor tissue detection,” in Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XIX, I. Georgakoudi and A. Tarnok, Eds., vol. 11647, International Society for Optics and Photonics. SPIE, 2021, p. 116471A. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1117/12.2577221>
- [32] A. B. Seddon, “Mid-infrared (IR) - A hot topic : The potential for using mid-IR light for non-invasive early detection of skin cancer *in vivo*,” physica status solidi (b), vol. 250,

- no. 5, pp. 1020–1027, May 2013. [Online]. Available : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pssb.201248524>
- [33] S. Primpke, M. Fischer, C. Lorenz, G. Gerdt, and B. M. Scholz-Böttcher, “Comparison of pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry and hyperspectral FTIR imaging spectroscopy for the analysis of microplastics,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 412, no. 30, pp. 8283–8298, Dec. 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02979-w>
- [34] E. J. Carpenter, S. J. Anderson, G. R. Harvey, H. P. Miklas, and B. B. Peck, “Polystyrene Spherules in Coastal Waters,” *Science*, vol. 178, no. 4062, pp. 749–750, Nov. 1972. [Online]. Available : <https://www.science.org/doi/10.1126/science.178.4062.749>
- [35] C. Arthur, J. Baker, and H. Bamford, “Proceedings of the international research workshop on the occurrence, effects, and fate of microplastic marine debris, september 9-11, 2008,” Tech. Rep., 2009.
- [36] S. A. Carr, J. Liu, and A. G. Tesoro, “Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants,” *Water Research*, vol. 91, pp. 174–182, Mar. 2016. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135416300021>
- [37] T. Wang, L. Wang, Q. Chen, N. Kalogerakis, R. Ji, and Y. Ma, “Interactions between microplastics and organic pollutants : Effects on toxicity, bioaccumulation, degradation, and transport,” *Science of The Total Environment*, vol. 748, p. 142427, Dec. 2020. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720359568>
- [38] L. Cutroneo, A. Reboa, G. Besio, F. Borgogno, L. Canesi, S. Canuto, M. Dara, F. Enrile, I. Forioso, G. Greco, V. Lenoble, A. Malatesta, S. Mounier, M. Petrillo, R. Rovetta, A. Stocchino, J. Tesan, G. Vagge, and M. Capello, “Microplastics in seawater : sampling strategies, laboratory methodologies, and identification techniques applied to port environment,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 9, pp. 8938–8952, Mar. 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07783-8>
- [39] X. Zhang, J. Qiu, X. Li, J. Zhao, and L. Liu, “Complex refractive indices measurements of polymers in visible and near-infrared bands,” *Applied Optics*, vol. 59, no. 8, pp. 2337–2344, Mar. 2020, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-59-8-2337>
- [40] S. Y. Venyaminov and F. G. Prendergast, “Water (H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O) Molar Absorptivity in the 1000–4000 cm<sup>-1</sup> Range and Quantitative Infrared Spectroscopy of Aqueous Solutions,” *Analytical Biochemistry*, vol. 248, no. 2, pp. 234–245, Jun. 1997. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269797921369>
- [41] M. F. H. Al-Kadhemy, Z. S. Rasheed, and S. R. Salim, “Fourier transform infrared spectroscopy for irradiation coumarin doped polystyrene polymer films by alpha ray,” *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 9, no. 3, pp. 321–331, Jul. 2016. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687850716000133>
- [42] N. J. Harrick, *Internal Reflection Spectroscopy*. Interscience Publishers, 1967, google-Books-ID : qiRRAAAAMAAJ.
- [43] C. Lorenz, L. Roscher, M. S. Meyer, L. Hildebrandt, J. Prume, M. G. Löder, S. Primpke, and G. Gerdt, “Spatial distribution of microplastics in sediments and surface waters of

- the southern North Sea,” *Environmental Pollution*, vol. 252, pp. 1719–1729, Sep. 2019. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749119318548>
- [44] J. Hansen, L. Hildebrandt, T. Zimmermann, F. El Gareb, E. Fischer, and D. Pröfrock, “Quantification and characterization of microplastics in surface water samples from the Northeast Atlantic Ocean using laser direct infrared imaging,” *Marine Pollution Bulletin*, vol. 190, 2023.
- [45] W. Querido, S. Kandel, and N. Pleshko, “Applications of Vibrational Spectroscopy for Analysis of Connective Tissues,” *Molecules*, vol. 26, no. 4, p. 922, Feb. 2021. [Online]. Available : <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/4/922>
- [46] P. Wang, J. Balko, R. Lu, I. López-Lorente, L. Dürselen, and B. Mizaikoff, “Analysis of human menisci degeneration *via* infrared attenuated total reflection spectroscopy,” *The Analyst*, vol. 143, no. 20, pp. 5023–5029, 2018. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=C8AN00924D>
- [47] M. K. Kuimova, K. A. Chan, and S. G. Kazarian, “Chemical imaging of live cancer cells in the natural aqueous environment,” *Applied spectroscopy*, vol. 63, no. 2, pp. 164–171, 2009.
- [48] S. G. Kazarian and K. A. Chan, “Micro-and macro-attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopic imaging,” *Applied spectroscopy*, vol. 64, no. 5, pp. 135A–152A, 2010.
- [49] M. Pilling and P. Gardner, “Fundamental developments in infrared spectroscopic imaging for biomedical applications,” *Chemical Society Reviews*, vol. 45, no. 7, pp. 1935–1957, 2016. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5CS00846H>
- [50] R. Kazarinov and R. Suris, “Possible amplification of electromagnetic waves in a semiconductor with a superlattice,” *Soviet Physycs. Semiconductors*, vol. 5, pp. 707–709, Oct. 1971.
- [51] J. Faist, F. Capasso, D. L. Sivco, C. Sirtori, A. L. Hutchinson, and A. Y. Cho, “Quantum Cascade Laser,” *Science*, vol. 264, no. 5158, pp. 553–556, Apr. 1994. [Online]. Available : <https://www.science.org/doi/10.1126/science.264.5158.553>
- [52] J. Faist, C. Sirtori, and H. Choi, “Inp and gaas-based quantum cascade lasers,” *Long Wavelength Infrared Semiconductor Lasers*, 2004.
- [53] A. Vasanelli and C. Sirtori, “Lasers à cascade quantique,” *Optique Photonique*, Aug. 2019. [Online]. Available : <https://www.techniques-ingenieur.fr/doi/10.51257/a/v1/e6470>
- [54] R. Bhargava, “Infrared Spectroscopic Imaging : The Next Generation,” *Applied Spectroscopy*, vol. 66, no. 10, pp. 1091–1120, Oct. 2012. [Online]. Available : <http://journals.sagepub.com/doi/10.1366/12-06801>
- [55] A. Ogunleke, V. Bobroff, H.-H. Chen, J. Rowlette, M. Delugin, B. Recur, Y. Hwu, and C. Petibois, “Fourier-transform vs. quantum-cascade-laser infrared microscopes for histo-pathology : From lab to hospital ?” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 89, pp. 190–196, Apr. 2017. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993616303387>
- [56] K. Yeh, S. Kenkel, J.-N. Liu, and R. Bhargava, “Fast infrared chemical imaging with a quantum cascade laser,” *Analytical Chemistry*, vol. 87, no. 1, pp. 485–493, Jan. 2015.

- [57] C. Kuepper, A. Kallenbach-Thieltges, H. Juette, A. Tannapfel, F. Großerueschkamp, and K. Gerwert, “Quantum Cascade Laser-Based Infrared Microscopy for Label-Free and Automated Cancer Classification in Tissue Sections,” *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, p. 7717, May 2018. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/s41598-018-26098-w>
- [58] G. Mathieu, M. Dupoy, S. Bonnet, V. Rebuffel, J.-L. Coll, and M. Henry, “MID infrared multispectral imaging for tumor tissue detection,” in *Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XIX*, vol. 11647. SPIE, Mar. 2021, pp. 126–132. [Online]. Available : <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11647/116471A/MID-infrared-multispectral-imaging-for-tumor-tissue-detection/10.1117/12.2577221.full>
- [59] K. Haase, N. Kröger-Lui, A. Pucci, A. Schönhals, and W. Petrich, “Real-time mid-infrared imaging of living microorganisms,” *Journal of Biophotonics*, vol. 9, no. 1-2, pp. 61–66, Jan. 2016.
- [60] S. Primpke, M. Godejohann, and G. Gerdts, “Rapid Identification and Quantification of Microplastics in the Environment by Quantum Cascade Laser-Based Hyperspectral Infrared Chemical Imaging,” *Environmental Science & Technology*, vol. 54, no. 24, pp. 15 893–15 903, Dec. 2020. [Online]. Available : <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.0c05722>
- [61] L. Hildebrandt, F. El Gareb, T. Zimmermann, O. Klein, A. Kerstan, K.-C. Emeis, and D. Pröfrock, “Spatial distribution of microplastics in the tropical Indian Ocean based on laser direct infrared imaging and microwave-assisted matrix digestion,” *Environmental Pollution*, vol. 307, p. 119547, Aug. 2022. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749122007618>
- [62] M. Ourgaud, N. N. Phuong, L. Papillon, C. Panagiotopoulos, F. Galgani, N. Schmidt, V. Fauvelle, C. Brach-Papa, and R. Sempéré, “Identification and Quantification of Microplastics in the Marine Environment Using the Laser Direct Infrared (LDIR) Technique,” *Environmental Science & Technology*, vol. 56, no. 14, pp. 9999–10 009, Jul. 2022. [Online]. Available : <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.1c08870>
- [63] Y. Bai, J. Yin, and J.-X. Cheng, “Bond-selective imaging by optically sensing the mid-infrared photothermal effect,” *Science Advances*, vol. 7, no. 20, p. eabg1559, May 2021, publisher : American Association for the Advancement of Science. [Online]. Available : <https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.abg1559>
- [64] D. Zhang, L. Lan, Y. Bai, H. Majeed, M. Kandel, G. Popescu, and J.-X. Cheng, “Bond-selective transient phase imaging via sensing of the infrared photothermal effect,” *Light : Science & Applications*, vol. 8, p. 116, Dec. 2019.
- [65] M. A. Pleitez, A. A. Khan, A. Soldà, A. Chmyrov, J. Reber, F. Gasparin, M. R. Seeger, B. Schätz, S. Herzig, M. Scheideler, and V. Ntziachristos, “Label-free metabolic imaging by mid-infrared optoacoustic microscopy in living cells,” *Nature Biotechnology*, vol. 38, no. 3, pp. 293–296, Mar. 2020, number : 3 Publisher : Nature Publishing Group. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/s41587-019-0359-9>
- [66] Y. Zhang, C. Yurdakul, A. J. Devaux, L. Wang, X. G. Xu, J. H. Connor, M. S. Ünlü, and J.-X. Cheng, “Vibrational Spectroscopic Detection of a Single Virus by

- Mid-Infrared Photothermal Microscopy,” *Analytical Chemistry*, vol. 93, no. 8, pp. 4100–4107, Mar. 2021, publisher : American Chemical Society. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c05333>
- [67] J. E. Bertie, M. K. Ahmed, and H. H. Eysel, “Infrared intensities of liquids. 5. Optical and dielectric constants, integrated intensities, and dipole moment derivatives of water and water-d<sub>2</sub> at 22.degree.C,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 93, no. 6, pp. 2210–2218, Mar. 1989. [Online]. Available : <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100343a008>
- [68] n. Venyaminov SYu and F. G. Prendergast, “Water (H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O) molar absorptivity in the 1000-4000 cm<sup>-1</sup> range and quantitative infrared spectroscopy of aqueous solutions,” *Analytical Biochemistry*, vol. 248, no. 2, pp. 234–245, Jun. 1997.
- [69] M. R. Alcaráz, A. Schwaighofer, C. Kristament, G. Ramer, M. Brandstetter, H. Goicoechea, and B. Lendl, “External-Cavity Quantum Cascade Laser Spectroscopy for Mid-IR Transmission Measurements of Proteins in Aqueous Solution,” *Analytical Chemistry*, vol. 87, no. 13, pp. 6980–6987, Jul. 2015, publisher : American Chemical Society. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01738>
- [70] A. Dabrowska, A. Schwaighofer, and S. Lindner, “Mid-IR refractive index sensor for detecting proteins employing an external cavity quantum cascade laser-based Mach-Zehnder interferometer,” *Optics Express*, vol. 28, no. 24, p. 36632, Nov. 2020. [Online]. Available : <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=oe-28-24-36632>
- [71] J. M. Chalmers and P. R. Griffiths, *Handbook of vibrational spectroscopy*. Wiley, 2002, vol. 4.
- [72] D. K. Das, T. Mondal, U. Mandal, and K. Bhattacharyya, “Probing Deuterium Isotope Effect on Structure and Solvation Dynamics of Human Serum Albumin,” *ChemPhysChem*, vol. 12, no. 4, pp. 814–822, 2011, \_eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cphc.201000912>. [Online]. Available : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphc.201000912>
- [73] E. Rial, A. Muga, J. M. Valpuesta, J.-L. R. Arrondo, and F. M. Goñi, “Infrared spectroscopic studies of detergent-solubilized uncoupling protein from brown-adipose-tissue mitochondria,” *European Journal of Biochemistry*, vol. 188, no. 1, pp. 83–89, 1990, \_eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1432-1033.1990.tb15374.x>. [Online]. Available : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1432-1033.1990.tb15374.x>
- [74] M. Born and E. Wolf, *Principles of optics : electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*. Elsevier, 2013.
- [75] R. Collier, C. Burckhardt, and L. Lin, *Optical Holography*. Academic Press, 1971. [Online]. Available : <https://books.google.fr/books?id=fpwRAQAIAAJ>
- [76] D. Gabor, “A New Microscopic Principle,” *Nature*, vol. 161, no. 4098, pp. 777–778, May 1948, number : 4098 Publisher : Nature Publishing Group. [Online]. Available : <https://www.nature.com/articles/161777a0>
- [77] P. Léna and A. Blanchard, *Lumière : une introduction aux phénomènes optiques*. Inter-Editions, 1990.
- [78] E. N. Leith and J. Upatnieks, “Reconstructed Wavefronts and Communication Theory\*,” *Journal of the Optical Society of America*, vol. 52, no. 10, p. 1123, Oct. 1962. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=josa-52-10-1123>

- [79] F. Wang, F. Fan, D. Yuan, and X. Wang, “In-Line and Off-Axis Hybrid Digital Holographic Imaging Method Based on Off-Axis Hologram Constraints,” *International Journal of Optics*, vol. 2022, pp. 1–9, Nov. 2022. [Online]. Available : <https://www.hindawi.com/journals/ijo/2022/6577057/>
- [80] B. Kemper, P. Langehanenberg, S. Kosmeier, F. Schlichthaber, C. Remmersmann, G. von Bally, C. Rommel, C. Dierker, and J. Schneckeburger, *Digital Holographic Microscopy : Quantitative Phase Imaging and Applications in Live Cell Analysis*, Jan. 2013, pages : 215 Publication Title : Handbook of Coherent-Domain Optical Methods ADS Bibcode : 2013hcdo.book..215K. [Online]. Available : <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2013hcdo.book..215K>
- [81] E. Cucho, P. Marquet, and C. Depeursinge, “Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography,” *Applied Optics*, vol. 39, no. 23, pp. 4070–4075, Aug. 2000, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-39-23-4070>
- [82] L. Hyung-Chul, K. Soo-Hyun, and K. Dae-Suk, “Two Step on-axis Digital Holography Using Dual-channel Mach-Zehnder Interferometer and Matched Filter Algorithm,” *Current Optics and Photonics*, vol. 14, no. 4, pp. 363–367, Dec. 2010, publisher : Lee Hyung-Chul; Kim Soo-Hyun; Kim Dae-Suk. [Online]. Available : [https://oak.go.kr/central/journallist/journaldetail.do?article\\_seq=10744](https://oak.go.kr/central/journallist/journaldetail.do?article_seq=10744)
- [83] I. Yamaguchi and T. Zhang, “Phase-shifting digital holography,” *Optics Letters*, vol. 22, no. 16, pp. 1268–1270, Aug. 1997, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?uri=ol-22-16-1268>
- [84] L. Zehnder, “Ein neuer interferenzrefraktor,” 1891.
- [85] L. Mach, “Ueber einen interferenzrefraktor,” *Zeitschrift für Instrumentenkunde*, vol. 12, no. 3, p. 89, 1892.
- [86] P. Hariharan, *Optical interferometry*, 2e. Elsevier, 2003.
- [87] P. Bouchareine, “Interférences de la lumière - Théorie et applications,” *Optique Photonique*, Mar. 2002. [Online]. Available : <https://www.techniques-ingenieur.fr/doi/10.51257/a/v1/r6475>
- [88] B. Gramatikov, ““Handbook of biomedical optics”, edited by David A. Boas, Constantinos Pitris, and Nimmi Ramanujam,” *BioMedical Engineering OnLine*, vol. 11, Feb. 2012.
- [89] B. Rappaz, P. Marquet, E. Cucho, Y. Emery, C. Depeursinge, and P. J. Magistretti, “Measurement of the integral refractive index and dynamic cell morphometry of living cells with digital holographic microscopy,” *Optics Express*, vol. 13, no. 23, pp. 9361–9373, Nov. 2005, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-13-23-9361>
- [90] B. Kemper and G. v. Bally, “Digital holographic microscopy for live cell applications and technical inspection,” *Applied Optics*, vol. 47, no. 4, pp. A52–A61, Feb. 2008, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-47-4-A52>
- [91] N. T. Shaked, T. M. Newpher, M. D. Ehlers, and A. Wax, “Parallel on-axis holographic phase microscopy of biological cells and unicellular microorganism dynamics,”

- Applied Optics*, vol. 49, no. 15, pp. 2872–2878, May 2010, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-49-15-2872>
- [92] V. Bianco, P. Memmolo, D. Pirone, P. Carcagnì, F. Merola, L. Miccio, M. Paturzo, C. Distante, and P. Ferraro, “Holographic fingerprint as a morphological marker to identify micro-plastics,” in *Optical Measurement Systems for Industrial Inspection XII*, vol. 11782. SPIE, Jun. 2021, pp. 87–90. [Online]. Available : <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11782/117820J/Holographic-fingerprint-as-a-morphological-marker-to-identify-micro-plastics/10.1117/12.2593832.full>
- [93] J. Hayden, S. Hugger, F. Fuchs, and B. Lendl, “A quantum cascade laser-based Mach-Zehnder interferometer for chemical sensing employing molecular absorption and dispersion,” 2018. [Online]. Available : <https://publica.fraunhofer.de/handle/publica/253903>
- [94] S. Lindner, J. Hayden, A. Schwaighofer, T. Wolflehner, C. Kristament, M. González-Cabrera, S. Zlabinger, and B. Lendl, “External Cavity Quantum Cascade Laser-Based Mid-Infrared Dispersion Spectroscopy for Qualitative and Quantitative Analysis of Liquid-Phase Samples,” *Applied Spectroscopy*, vol. 74, no. 4, pp. 452–459, Apr. 2020. [Online]. Available : <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003702819892646>
- [95] A. Dabrowska, A. Schwaighofer, and B. Lendl, “The next generation of mid-IR laser-based refractive index (dispersion) spectroscopy of liquid-phase analytes,” in *Biomedical Vibrational Spectroscopy 2022 : Advances in Research and Industry*, Z. Huang, Ed. San Francisco, United States : SPIE, Mar. 2022, p. 48. [Online]. Available : <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11957/2609371/The-next-generation-of-mid-IR-laser-based-refractive-index/10.1117/12.2609371.full>
- [96] T. G. Mayerhöfer, A. Dabrowska, A. Schwaighofer, B. Lendl, and J. Popp, “Beyond Beer’s Law : Why the Index of Refraction Depends (Almost) Linearly on Concentration,” *ChemPhysChem*, vol. 21, no. 8, pp. 707–711, Apr. 2020. [Online]. Available : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphc.202000018>
- [97] G. Wysocki, R. Curl, F. Tittel, R. Maulini, J. Bulliard, and J. Faist, “Widely tunable mode-hop free external cavity quantum cascade laser for high resolution spectroscopic applications,” *Applied Physics B*, vol. 81, no. 6, pp. 769–777, Oct. 2005. [Online]. Available : <http://link.springer.com/10.1007/s00340-005-1965-4>
- [98] Q. Yang, F. Fuchs, and J. Wagner, “Quantum cascade lasers (QCL) for active hyperspectral imaging,” *Advanced Optical Technologies*, vol. 3, no. 2, pp. 141–150, Apr. 2014. [Online]. Available : <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/aot-2014-0006/html>
- [99] A. Schwaighofer, M. Brandstetter, and B. Lendl, “Quantum cascade lasers (QCLs) in biomedical spectroscopy,” *Chemical Society Reviews*, vol. 46, no. 19, pp. 5903–5924, 2017, publisher : Royal Society of Chemistry. [Online]. Available : <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/cs/c7cs00403f>
- [100] M. Pushkarsky, M. Weida, T. Day, D. Arnone, R. Pritchett, D. Caffey, and S. Crivello, “High-power tunable external cavity quantum cascade laser in the 5-11 micron regime,” W. A. Clarkson, N. Hodgson, and R. K. Shori, Eds., San Jose, CA, Feb. 2008, p.

- 68711X. [Online]. Available : <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.777298>
- [101] J.-L. Tissot, “Imagerie IR thermique à base de détecteurs non refroidis,” p. 21, 2010.
- [102] A. Rogalski, “History of infrared detectors,” *Opto-Electronics Review*, vol. 20, no. 3, pp. 279–308, Sep. 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.2478/s11772-012-0037-7>
- [103] G. Dumont, W. Rabaud, J.-J. Yon, L. Carle, V. Goudon, C. Vialle, S. Becker, A. Hamelin, and A. Arnaud, “Current progress on pixel level packaging for uncooled IRFPA,” in *Infrared Technology and Applications XXXVIII*, vol. 8353. SPIE, May 2012, pp. 519–526. [Online]. Available : <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/8353/83531I/Current-progress-on-pixel-level-packaging-for-uncooled-IRFPA/10.1117/12.919918.full>
- [104] J. J. Yon, G. Dumont, V. Goudon, S. Becker, A. Arnaud, S. Cortial, and C. L. Tisse, “Latest improvements in microbolometer thin film packaging : paving the way for low-cost consumer applications,” in *Infrared Technology and Applications XL*, vol. 9070. SPIE, Jun. 2014, pp. 485–492. [Online]. Available : <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/9070/90701N/Latest-improvements-in-microbolometer-thin-film-packaging--paving-the/10.1117/12.2050378.full>
- [105] T. G. Mayerhöfer and J. Popp, “Beer’s law derived from electromagnetic theory,” *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 215, pp. 345–347, May 2019. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142519302252>
- [106] V. E. Puchin, A. V. Puchina, M. Huisinga, and M. Reichling, “Theoretical modelling of steps on the CaF<sub>2</sub>(111) surface,” p. 15.
- [107] E. Mitri, G. Birarda, L. Vaccari, S. Kenig, M. Tormen, and G. Greci, “SU-8 bonding protocol for the fabrication of microfluidic devices dedicated to FTIR microspectroscopy of live cells,” *Lab Chip*, vol. 14, no. 1, pp. 210–218, 2014. [Online]. Available : <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3LC50878A>
- [108] P. Svasek, E. Svasek, B. Lendl, and M. Vellekoop, “Fabrication of miniaturized fluidic devices using SU-8 based lithography and low temperature wafer bonding,” *Sensors and Actuators A : Physical*, vol. 115, no. 2-3, pp. 591–599, Sep. 2004. [Online]. Available : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924424704002389>
- [109] B. Kayyrapu, M. Kumar Y., H. B. Mohommad, G. Neeruganti O., and R. Chekuri, “Structural, Thermal and Optical Properties of Pure and Mn<sup>2+</sup> Doped Poly(Vinyl Chloride) Films,” *Materials Research*, vol. 19, pp. 1167–1175, Sep. 2016, publisher : ABM, ABC, ABPol. [Online]. Available : <https://www.scielo.br/j/mr/a/YRbMdDnnjwR5VrtMfgrbvTx/?lang=en>
- [110] M. Klanjšek Gunde, N. Hauptman, M. Maček, and M. Kunaver, “The influence of hard-baking temperature applied for SU8 sensor layer on the sensitivity of capacitive chemical sensor,” *Applied Physics A*, vol. 95, no. 3, pp. 673–680, Jun. 2009. [Online]. Available : <http://link.springer.com/10.1007/s00339-008-4966-4>

- [111] G. M. Hale and M. R. Querry, “Optical Constants of Water in the 200-nm to 200- $\mu$ m Wavelength Region,” *Applied Optics*, vol. 12, no. 3, pp. 555–563, Mar. 1973, publisher : Optica Publishing Group. [Online]. Available : <https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-12-3-555>
- [112] S. Liu, “Fabrication et caractérisation électrique et thermique de microbolomètres non refroidis suspendus à base de couches minces  $\text{La}_{0,7}\text{Sr}_{0,3}\text{MnO}_3$  sur silicium.”
- [113] J.-L. Meyzonnette and T. Lépine, *Bases de radiométrie optique*. Cépaduès, 2001, google-Books-ID : RS0gPQAACAAJ.
- [114] J. Zhang, J. Di, Y. Li, T. Xi, and J. Zhao, “Dynamical measurement of refractive index distribution using digital holographic interferometry based on total internal reflection,” *Optics Express*, vol. 23, no. 21, p. 27328, Oct. 2015. [Online]. Available : <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=oe-23-21-27328>
- [115] J. Larmor, “LXIII. On the theory of the magnetic influence on spectra; and on the radiation from moving ions,” *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, vol. 44, no. 271, pp. 503–512, Dec. 1897, publisher : Taylor & Francis \_eprint : <https://doi.org/10.1080/14786449708621095>. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1080/14786449708621095>
- [116] M. Joffre, “Optique non-linéaire en régimes continu et femtoseconde.”





---

## Résumé - Français

---

L'analyse par spectroscopie vibrationnelle telle que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique d'analyse de référence pour déterminer la composition chimique d'un échantillon grâce à la réponse vibrationnelle des molécules. Ces dernières années, l'apparition des lasers à cascade quantique (QCLs) a favorisé le développement de méthodes d'imagerie multispectrale infrarouge (IR), fournissant ainsi une information spectrale résolue spatialement. Cependant, l'eau reste l'interfèrent majeur des longueurs d'onde IR, rendant quasi-impossible les mesures spectrales sur des échantillons hydratés.

Pour répondre à cette problématique, la thèse explore les potentialités de l'imagerie de phase par holographie numérique comme méthode d'analyse d'échantillons hydratés dans le moyen infrarouge (MIR). Pour cela, la construction d'un interféromètre de Mach Zehnder, utilisant des QCLs et une matrice de micro-bolomètres, a permis de réaliser des images de phase et de déterminer l'indice de réfraction d'échantillons étalons de photorésine dans 50  $\mu\text{m}$  d'eau. Les résultats obtenus montrent la possibilité d'acquérir des images fournissant à la fois des informations qualitatives et quantitatives sur la composition d'échantillons hydratés. Une étude de limite de détection du système a également démontré pour certains types d'échantillons un avantage de la méthode interférométrique en comparaison avec la spectroscopie d'absorption. En particulier, l'ajustement de la différence de marche entre les deux bras de l'interféromètre est un degré de liberté supplémentaire permettant une optimisation de la mesure.

Ainsi, l'imagerie de phase multispectrale IR grand champ développée durant cette thèse constitue une technique prometteuse pour l'analyse de milieux aqueux, comme la détection de microplastiques dans l'eau ou encore le diagnostic *in vivo*.

**Mots clés :** spectroscopie, infrarouge, QCL, imagerie de phase, holographie numérique, interféromètre de Mach Zehnder, micro-bolomètres, milieux aqueux, microplastiques, *in vivo*

---

## Abstract - Anglais

---

Vibrational spectroscopy analysis, such as Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), is a reference technique for determining the chemical composition of a sample through the vibrational response of molecules. In recent years, the advent of quantum cascade lasers (QCLs) has facilitated the development of multi-spectral infrared (IR) imaging methods, providing spatially resolved spectral information. However, water remains a major interferent in IR wavelengths, making spectral measurements on hydrated samples nearly impossible.

In response to this issue, the thesis explores the potential of phase imaging by digital holography as a method for analyzing hydrated samples in the mid-infrared (MIR) range. For this purpose, the construction of a Mach-Zehnder interferometer using QCLs and a microbolometer array enabled the acquisition of phase images and the determination of the refractive index of photoresin samples in 50  $\mu\text{m}$  of water. The results obtained demonstrate the possibility of acquiring images that provide both qualitative and quantitative information about the composition of hydrated samples. A study of the limit of detection of the system also showed that for certain types of samples, the interferometric method has advantages over absorption spectroscopy. In particular, adjusting the optical path difference between the two interferometer arms is an additional degree of freedom that allows for measurement optimization.

Thus, the wide-field multispectral IR phase imaging developed during this thesis represents a promising technique for the analysis of aqueous environments, such as the detection of microplastics in water or *in vivo* diagnosis.

**Keywords:** spectroscopy, infrared, QCL, phase imaging, digital holography, Mach Zehnder interferometer, micro-bolometers, aqueous media, microplastics, *in vivo*