

50 516
1977
100

N° d'ordre : 641

50376
1977
100

THESE

présentée à
L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE
(Spectrochimie et méthodes d'analyse)

par

Pierre BISSON

CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UNE MICROSONDE A EFFET RAMAN



Soutenu le 4 Juillet 1977, devant la COMMISSION D'EXAMEN

MM.	M. DELHAYE	Président et Rapporteur
	M. BRIDOUX	} Examineurs
	B. ESCAIG	
	J.P. BONNELLE	} Membres invités
	P. DHAMELINCOURT	
	H.J. SCHUBNEL	

DOYENS HONORAIRES de l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R. DEFRETIN, H. LEFEBVRE, M. PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit
et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

M. ARNOULT, Mme BEAUJEU, MM. BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DECUYPER, DEHEMVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN, GLACET, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, MM. LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUELLE, SAVARO, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

PRESIDENTS HONORAIRES DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R. DEFRETIN, M. PARREAU.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

M. M. MIGEON.

PROFESSEURS TITULAIRES

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BONNEMAN Pierre	Chimie Appliquée
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BONTE Antoine	Géologie Appliquée
M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des Entreprises
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique
M. DERCOURT Jean	Géologie Générale
M. DURCHON Maurice	Biologie Expérimentale
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. GONTIER Gérard	Mécanique
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Organique
M. LACOSTE Louis	Biologie Végétale
M. LANSRAUX Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEBRON André	Electronique
M. LEHMANN Daniel	Géométrie

Mme	LENOBLE Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M.	LINDER Robert	Biologie et Physiologie Végétales
M.	LOMBARD Jacques	Sociologie
M.	LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M.	LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M.	MAILLET Pierre	Sciences Economiques
M.	MONTARIOL Frédéric	Chimie Appliquée
M.	MONTREUIL Jean	Biochimie
M.	PARREAU Michel	Analyse
M.	POUZET Pierre	Analyse numérique
M.	PROUVOST Jean	Minéralogie
M.	SALMER Georges	Electronique
M.	SCHILTZ René	Physique Atomique et Moléculaire
Mme	SCHWARTZ Marie-Hélène	Géométrie
M.	SEGNIER Guy	Electrotechnique
M.	TILLIEU Jacques	Physique Théorique
M.	TRIDOT Gabriel	Chimie Appliquée
M.	VIDAL Pierre	Automatique
M.	VIVIER Emile	Biologie Cellulaire
M.	WERTHEIMER Raymond	Physique Atomique et Moléculaire
M.	ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M.	BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M.	BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M.	BODARD Marcel	Biologie Végétale
M.	BOILLET Pierre	Physique Atomique et Moléculaire
M.	BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M.	PRIDOUX Michel	Chimie Physique
M.	CARURON Alfred	Biologie Animale
M.	CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
Mme	SACHARRY Monique	Géographie
M.	DEPREZ Gilbert	Physique Théorique
M.	DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
Mme	EVRARD Micheline	Chimie Appliquée
M.	GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M.	GOUDYAND Pierre	Chimie Physique
M.	GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M.	HERMAN Maurice	Physique Spatiale
Mme	LEHMANN Josiane	Analyse
M.	LENTACKER Firmin	Géographie
M.	LEROY Jean-Marie	Chimie Appliquée
M.	LOUAGE Francis	Electronique
M.	MAIZIERES Christian	Automatique
Mme	MARQUET Simone	Probabilités
M.	MIGEON Michel	Chimie Physique
M.	MONTTEL Marc	Physique du Solide
M.	MONTUELLE Bernard	Biologie Appliquée
M.	NICOLE Jacques	Chimie Appliquée
M.	PAQUET Jacques	Géologie Générale
M.	PACZY Ladislas	Electronique
M.	POUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M.	SLIWA Henri	Chimie Organique
M.	WATERLOT Michel	Géologie Générale

MAITRES DE CONFERENCES (Et Chargés d'Enseignement)

M.	ADAM Michel	Sciences Economiques
M.	ANTOINE Philippe	Analyse
M.	BART André	Biologie Animale
Mme	BATTIAU Yvonne	Géographie

M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M. BOSCO Denis	Probabilités
M. BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CARREZ Christian	Informatique
M. COQUERY Jean-Marie	Psycho-Physiologie
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. COUTURIER Daniel	Chimie Organique
M. CRAMPON Norbert	Géologie
M. CROSNIER Yves	Electronique
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie Animale
M. DE PARIS Jean-Claude	Mathématiques
M. DHAINAUT André	Biologie Animale
M. DELAUNAY Jean-Claude	Sciences Economiques
M. DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M. DUBOIS Henri	Physique
M. DUEE Gérard	Géologie
M. DYMENT Arthur	Mécanique
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M. FAKIR Sabah	Algèbre
M. FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M. FOCT Jacques	Génie Mécanique
M. FONTAINE Hubert	Physique
M. FONTAINE Jacques	Electronique
M. FOURNET Bernard	Biochimie
M. GAMBLIN André	Géographie
M. GERVAIS Michel	Gestion des Entreprises
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. JACOB Gérard	Informatique
M. JOURNAL Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LAURENT François	Automatique
M ^{lle} LEGRAND Denise	Algèbre
M ^{lle} LEGRAND Solange	Algèbre
M. LEROY Yves	Electronique
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique théorique
M. MACKE Bruno	Physique
M. MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M. N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NOTELET Francis	Electrotechnique
M. NUSSEMBAUM Maurice	Sciences Economiques
M. PARSY Fernand	Mécanique
M. PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie Physique
M. PERROT Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PETIT Francis	Chimie Organique
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. POVY Lucien	Automatique
M. RICHARD Alain	Biologie
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROY Jean-Claude	Psycho-Physiologie
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SOMME Jean	Géographie

Mlle SPIK Geneviève	Biochimie
M. STANKIEWICZ François	Sciences Economiques
M. STERBOUL François	Informatique
M. TAILLEZ Roger	Biologie
M. THERY Pierre	Electronique
M. TOP Gérard	Sciences Economiques
M. TOULOTTE Jean-Marc	Automatique
M. TREANTON Jean-René	Sociologie
M. VANDORPE Bernard	Chimie Minérale
M. VILLETTE Michel	Mécanique
M. WALLART Francis	Chimie
M. WERNER Georges	Informatique
Mme ZIN-JUSTIN Nicole	Algèbre

Ce travail a été effectué à l'U.E.R. de Chimie de l'Université des Sciences et Techniques de Lille dans le laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman dirigé par Monsieur le Professeur DELHAYE.

Qu'il me soit permis de lui exprimer ici ma profonde gratitude pour m'avoir orienté vers ce sujet de recherches.

Monsieur le Professeur BRIDOUX, Monsieur ESCAIG et Monsieur BONNELLE ont accepté d'examiner ce travail. Je les prie d'accepter mes sincères et respectueux remerciements.

Monsieur SCHUBNEL, Directeur du Bulletin de l'Association Française de Gemmologie me fait l'honneur de se joindre au jury. Je l'en remercie vivement.

En m'ayant fait bénéficier de sa compétence et de son aide constante, Monsieur DHAMELINCOURT a contribué pour une large part à la réalisation de ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici, l'expression de ma reconnaissance et le témoignage de mon amitié.

Je remercie enfin tous les chercheurs et techniciens du laboratoire, et en particulier Madame DESCAMPS qui a effectué la frappe de ce mémoire.

SOMMAIRE

	Page
- <u>INTRODUCTION</u>	1
- <u>CHAPITRE I : PRINCIPE DE LA MICROSONDE À EFFET RAMAN</u>	3
I : TECHNIQUES DE MICROANALYSE.....	3
II : PRINCIPE DE LA MICROSONDE RAMAN.....	4
III : FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE RAMAN.....	5
- <u>CHAPITRE II : ETUDE DE L'APPAREIL</u>	8
I : SCHEMA OPTIQUE DU MICROSCOPE RAMAN.....	8
II : LE MICROSCOPE.....	9
III : ILLUMINATION DE L'ECHANTILLON.....	10
IV : LE FILTRE OPTIQUE.....	14
V : CALCUL DE L'OPTIQUE DE TRANSFERT.....	16
VI : DETECTION ET OBSERVATION DES IMAGES.....	21
- <u>CHAPITRE III : UTILISATION DE LA MICROSONDE RAMAN</u>	23
I : CHOIX DE L'OUVERTURE DES FENTES.....	23
II : TESTS.....	27
III : OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE RAMAN.....	29
- <u>CONCLUSION</u>	37
- <u>ANNEXE : CARACTERISTIQUES DE QUELQUES RESEAUX HOLOGRAPHIQUES CONCAVES</u>	39
- <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	45

INTRODUCTION

Depuis 25 ans, de nombreuses méthodes de microanalyse ont été créées en couplant le microscope, optique ou électronique, aux différents systèmes d'analyse par spectrométrie.

M. DELHAYE et P. DHAMELINCOURT ont étudié une Microsonde utilisant l'effet Raman, capable de localiser et d'identifier les différentes espèces chimiques d'un échantillon hétérogène.

L'avantage fondamental de cet appareil sur ceux existants, est de permettre l'étude d'un échantillon à l'air libre, sous atmosphère contrôlée, ou même à l'intérieur de milieux transparents.

La Microsonde à effet Raman a fait l'objet de deux brevets A.N.V.A.R. (1), l'étude de faisabilité dans le domaine biomédical a été entreprise sous contrat I.N.S.E.R.M. (2).

Notre travail, effectué en étroite collaboration avec P. DHAMELINCOURT, a consisté à étudier cet appareil au point de vue instrumental et à effectuer diverses observations en microscopie Raman pour définir quelques domaines d'applications où cette nouvelle technique pourrait se révéler intéressante.

La Microsonde Raman, mise au point au laboratoire, a permis la réalisation d'un appareil actuellement commercialisé par la Société LIRINORD. Certains exemples d'applications que nous présentons ici ont été obtenus à l'aide de cet appareil.

Au premier chapitre de ce mémoire, nous situons cette technique de microanalyse parmi celles existantes et nous expliquons le principe de la Microsonde à effet Raman.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des éléments qui constituent l'appareil.

Au troisième chapitre, après avoir défini quelques conditions d'utilisations, nous donnons quelques exemples d'observations en microscopie Raman.

Enfin en annexe, nous rappelons quelques points de théorie géométrique des réseaux holographiques concaves qui sont les éléments de base de l'instrument que nous décrivons ici.

CHAPITRE I

PRINCIPE DE LA MICROSONDE A EFFET RAMAN

I - TECHNIQUES DE MICROANALYSE

Les techniques de microanalyse par spectrométrie utilisent le principe suivant :

- Le bombardement d'un échantillon par un faisceau de particules ou de radiations (électrons, ions, photons) est susceptible de donner lieu à une émission secondaire de particules ou de radiations caractéristiques de l'échantillon.

La microanalyse utilise cette propriété pour déterminer la nature, la concentration, et la localisation des différents constituants d'un échantillon microscopique. L'analyse du rayonnement émis est réalisée par spectrométrie de masse, électronique, dans le domaine X, visible ou infrarouge. De plus, après filtrage du rayonnement secondaire, il est possible dans certains cas, d'obtenir différentes images de l'échantillon, chacune étant une carte qui précise la localisation d'un des éléments présent dans la zone analysée.

Afin de situer la microsonde Raman parmi ces techniques de micro-analyse, nous les avons classées dans le tableau I, suivant le mode d'excitation, les types de spectrométrie et de microscopie (3). Il est à noter que :

- L'analyse par émission ionique est destructive. Elle consiste en effet à bombarder un échantillon solide par une source excitatrice d'ions primaires dont le but est d'arracher au niveau de la surface des atomes, ou groupements d'atomes ionisés, qui constituent ainsi l'émission ionique secondaire.

- L'analyse par rayon laser (4-5) est destructive ; un faisceau laser vaporise localement une zone de l'échantillon. Les substances vaporisées sont alors excitées soit par arc électrique et la lumière émise est analysée par spectrométrie visible, soit par un faisceau laser, le plasma est alors analysé par spectrométrie de masse.

Les microsondes à source d'excitation par électrons bénéficient de la très haute résolution spatiale du microscope électronique ; l'échantillon cependant, doit être placé sous vide et nécessite un traitement de surface approprié (métallisation).

II - PRINCIPE DE LA MICROSONDE RAMAN

Les microsondes précédentes exploitent une propriété atomique caractéristique des éléments. M. DELHAYE et P. DHAMELINCOURT ont pensé exploiter une propriété moléculaire (le spectre Raman de vibration) caractéristique de molécules ou d'ions polyatomiques pour identifier et localiser les différents constituants d'un échantillon hétérogène.

La figure 1 montre la similarité des principes de base des microsondes de CASTAING, de SLODZIAN et de la microsonde Raman.

Excitation	signal analysé	spectrométrie	microscopie	obtention d'image	échantillon sous vide
Electrons	rayons X	X	optique - électronique	oui	oui
	perte d'énergie des électrons	électronique	électronique	oui	
	électrons Auger			non	
	cathodo-luminescence	optique	optique	oui	
Ions	ions secondaire	masse	optique ionique	oui	oui
Photons (Laser)	photons secondaire après réexcitation	optique	optique	non	non
	ions	masse	optique-ionique	non	oui
	photons émission Raman	optique	optique	oui	non

Tableau 1

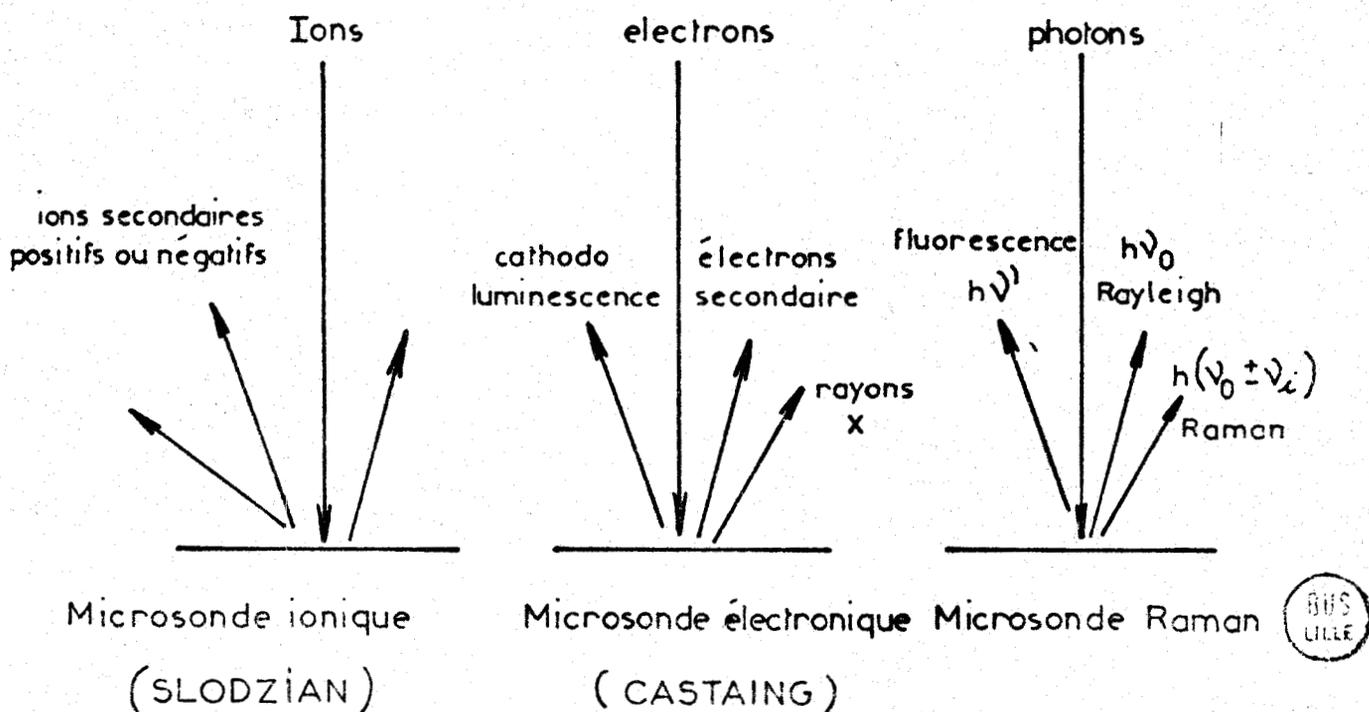


Fig: 1

- *Microsonde électronique de Castaing (6) :*

Un faisceau d'électrons bombarde la surface de l'échantillon, provoquant une émission secondaire d'électrons, un phénomène de cathodoluminescence ainsi que l'émission de rayons X.

- *Microanalyseur ionique de Slodzian (7) :*

Un faisceau d'ions incidents crée une émission d'ions secondaires qui sont discriminés et identifiés par un spectromètre de masse. Ces ions secondaires sont caractéristiques des atomes ou groupements d'atomes contenus dans l'échantillon.

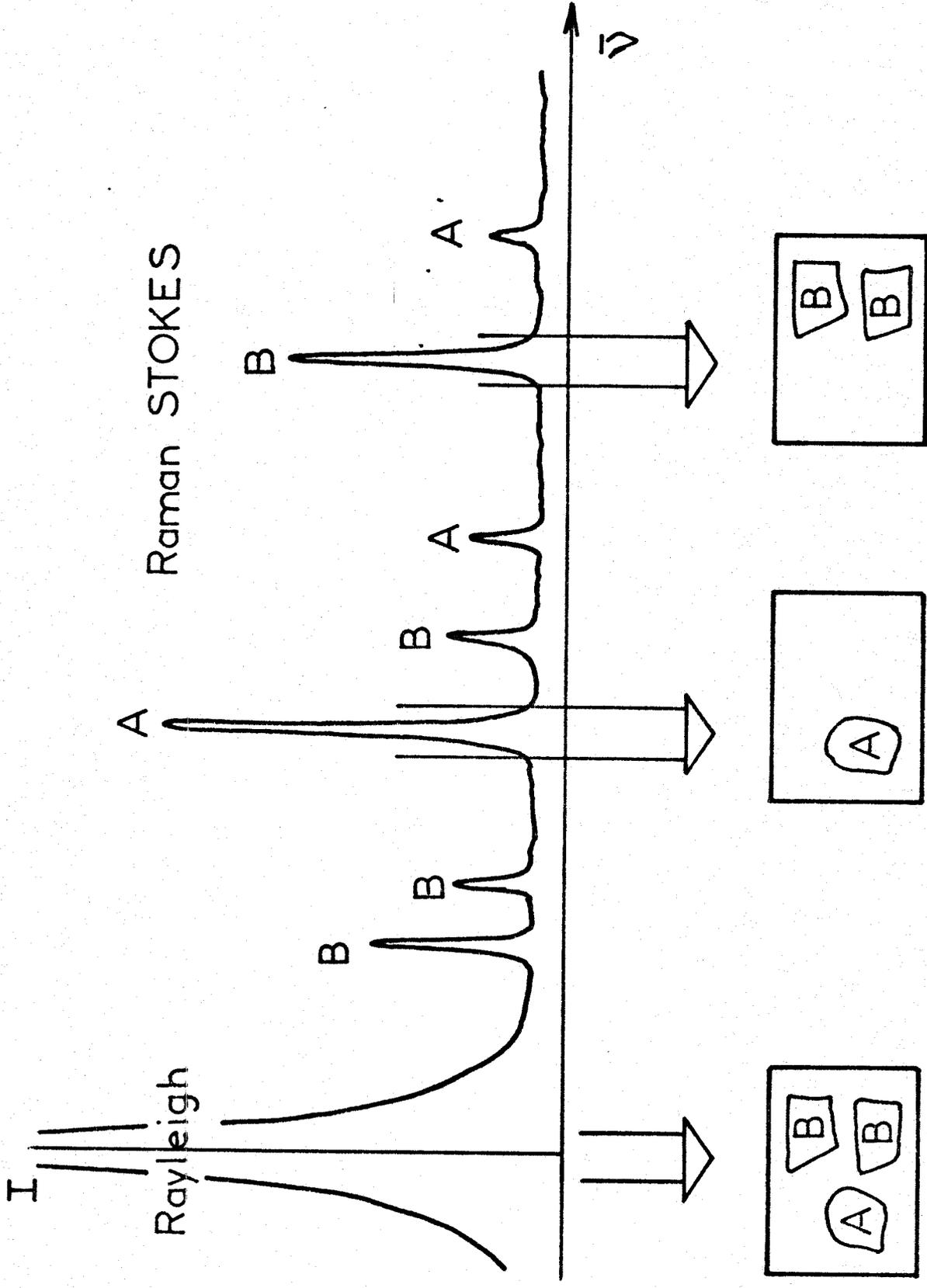
- *Microsonde Raman (8) :*

Un faisceau de photons issus d'un laser provoque l'émission de raies Raman. Ces raies, filtrées par un spectromètre optique, sont utilisées pour caractériser chacune des espèces chimiques contenues dans l'échantillon et en obtenir la répartition sous forme d'une image.

La figure 2 illustre ce principe : Soit un échantillon contenant deux espèces chimiques A et B, visibles mais indiscernables en microscopie classique. En utilisant un faisceau laser monochromatique excitateur, le spectre Raman de l'échantillon présente les raies caractéristiques des deux espèces présentes. Par filtrage optique, il est possible d'isoler une bande étroite du spectre, centrée sur une raie. Dès lors, si l'on sélectionne une raie émise par l'espèce A par exemple, à l'aide d'une optique appropriée, il est possible de réformer une image caractéristique de l'espèce A. L'image obtenue est donc une image sélective dans laquelle seule l'espèce A est visible. Par ce procédé, il est donc en principe possible d'obtenir autant d'images sélectives qu'il y a d'espèces chimiques présentes dans l'échantillon pourvu qu'elles présentent des vibrations actives en diffusion Raman.

III - FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE RAMAN

Le schéma de principe de l'appareil est indiqué sur la figure 3. Un dispositif d'éclairage annulaire focalise le faisceau laser sur la surface



Raman STOKES

Image classique

Images Raman

Fig: 2



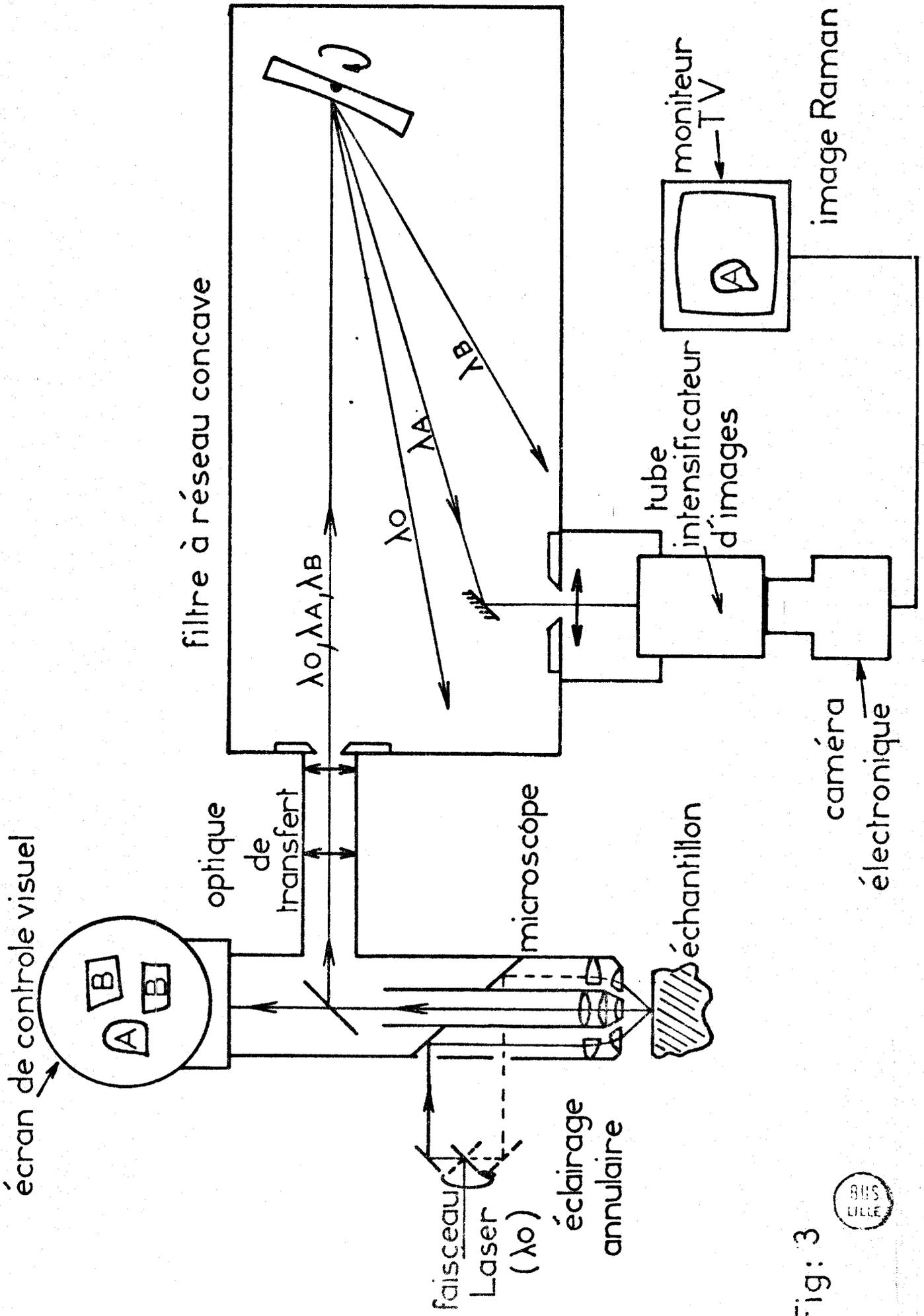


Fig: 3



de l'échantillon. La lumière diffusée, recueillie par l'objectif d'un microscope optique, est séparée en deux faisceaux par une lame semi-transparente. L'un des faisceaux sert à la formation de l'image classique qui apparaît sur un écran de contrôle. L'autre faisceau est envoyé à travers la fente d'entrée d'un filtre à réseau de diffraction.

L'image de l'échantillon, donnée par l'objectif, est reprise par une optique de transfert et réformée au niveau du réseau. A l'aide d'une lentille, une image du réseau (et donc de la préparation) est projetée sur la photocathode d'un tube intensificateur d'images suivi d'une caméra pour bas niveaux et rendue visible sur un moniteur T.V.

Supposons que l'échantillon hétérogène contienne deux constituants de natures chimiques différentes A et B.

En calant convenablement le réseau et en fermant suffisamment la fente de sortie, seul une raie Raman, de A par exemple, sortira du filtre. L'image du réseau (et de l'échantillon) sera donc vue à partir de la raie isolée λ_A , et seuls les constituants de nature A seront visibles sur le moniteur. Cette image Raman constitue alors la carte chimique de répartition de l'espèce A présente dans la zone analysée.

Utilisé en spectrographe ou spectromètre multicanal, cet appareil donnera également le spectre Raman de toute la zone éclairée de la préparation.

L'avantage de la Microsonde Raman est de permettre l'analyse d'échantillons dans les mêmes conditions qu'en microscopie classique : la préparation ne subit aucun traitement de surface particulier, son étude est faite à l'air libre ou sous atmosphère contrôlée. L'échantillon peut être immergé dans un liquide transparent ou placé dans une enceinte régulée en température.

Les limitations de cette technique proviennent principalement :

- de l'échantillon

A cause de ses dimensions ou de sa nature, le spectre Raman de l'espèce chimique choisie, peut être trop peu intense pour être détecté. Ou bien, le spectre Raman est superposé à une bande de fluorescence (on obtient alors l'image de l'échantillon en microscopie de fluorescence, mais la caractérisation est moins précise).

- du filtre optique

La diffusion Rayleigh doit être complètement filtrée pour permettre l'énorme amplification du signal Raman nécessaire à la formation d'images caractéristiques. En effet, en prenant pour unité l'intensité de la diffusion Rayleigh, l'intensité des raies Raman est de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-10} . Le filtre optique doit alors pouvoir isoler une raie Raman située à quelques dizaines d'Angstroms de la raie laser, en masquant suffisamment la diffusion Rayleigh pour permettre l'amplification nécessaire à la visualisation de cette raie.

Le schéma de l'appareil précédent correspond au prototype, étudié par P. DHAMELINCOURT, qui permet d'obtenir les premiers essais concluants (8-9).

Cependant le filtre optique de cet appareil étant un simple monochromateur, l'étude des échantillons dont le spectre Raman se situe dans le domaine des basses fréquences, s'avérait impossible.

Aussi, pour permettre l'exploitation de ce domaine, un second prototype muni d'un double monochromateur a été réalisé au laboratoire.

CHAPITRE II

ETUDE DE L'APPAREIL

La formation d'images à partir d'un phénomène aussi faible que l'effet Raman, exige que les différentes parties de l'installation soient très performantes. Après une brève description des éléments constitutifs du microscope à effet Raman, nous montrerons comment ces éléments ont été étudiés pour répondre aux problèmes d'éclairement de l'échantillon, du transfert d'images, du filtrage et de l'amplification des images obtenues à partir d'une raie Raman.

I - SCHEMA OPTIQUE DU MICROSCOPE A EFFET RAMAN

Le microscope à effet Raman se compose d'un microscope, d'un filtre optique accordable à bande étroite et d'un détecteur multicanal (tube intensificateur d'images et caméra pour bas niveaux) (Fig. 4).

Un condenseur annulaire focalise le faisceau laser excitateur sur la surface S de l'échantillon. Seule la lumière diffusée est reprise par l'objectif qui forme une image S' de l'échantillon. Un système optique

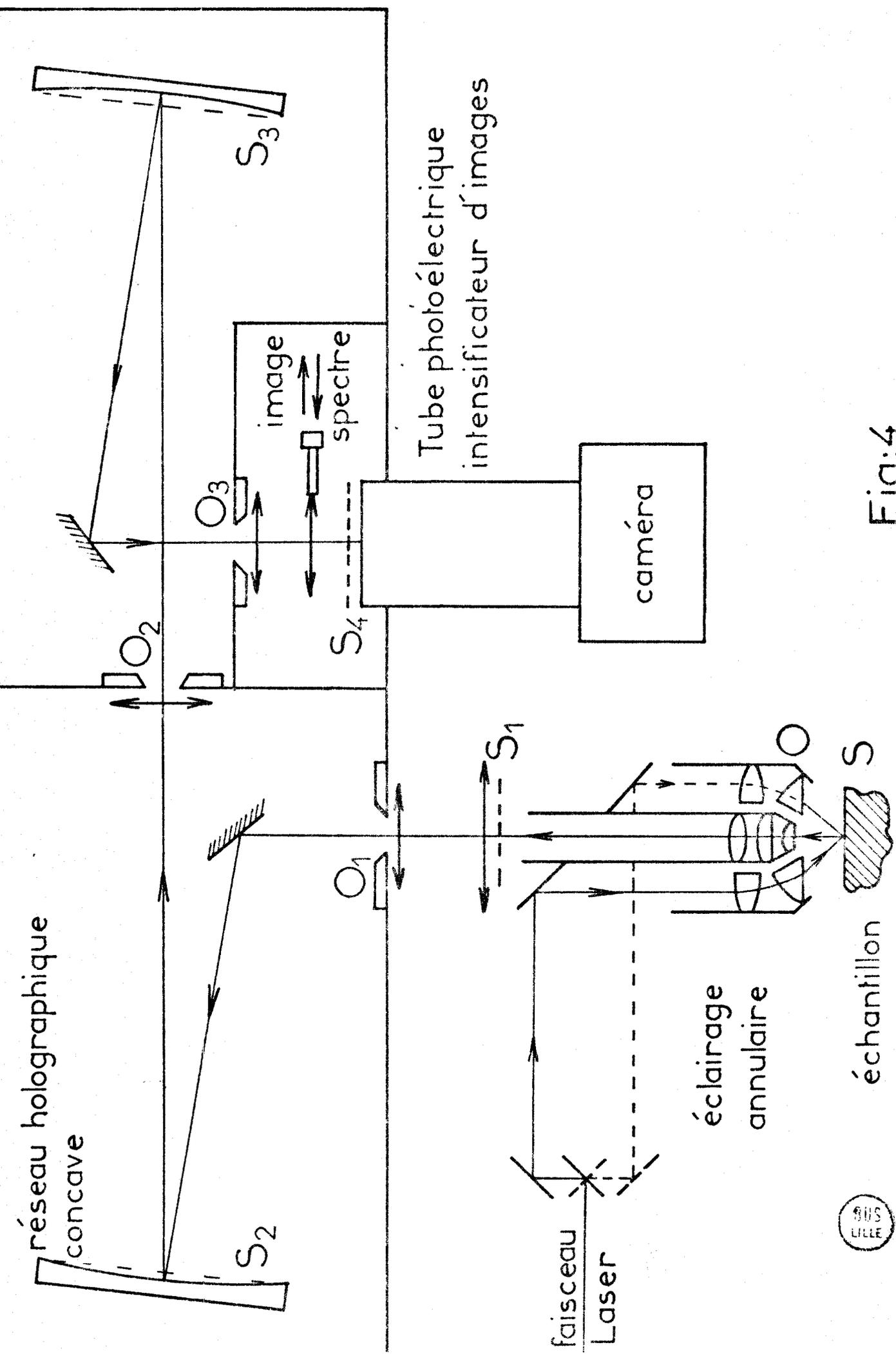


Fig:4

Microscope Raman Laser comportant un filtre à deux étages

constitué de deux lentilles convergentes permet le transfert de la lumière collectée par l'objectif, sur la fente O_1 du spectrographe et la formation d'une image agrandie de la surface de l'échantillon au niveau du premier réseau (S_2).

Une lentille convergente placée au niveau de la fente intermédiaire O_2 , réformé une image de l'échantillon sur le second réseau (S_3). Une lentille convergente placée au niveau de la fente de sortie O_3 , projette cette image sur la photocathode d'un tube intensificateur d'images (S_4). Enfin, pour obtenir le spectre de l'échantillon, une lentille mobile peut être interposée de façon à former l'image de la fente de sortie sur la photocathode du tube intensificateur.

II - LE MICROSCOPE

Nous utilisons un microscope optique classique Wild, modèle M.12, muni d'un système d'éclairage épiscopique annulaire pour fond noir. La figure 5 montre le chemin optique suivi par le faisceau dans les deux modes d'observation possibles :

- *en fond clair* : c'est l'objectif qui focalise le faisceau. Le faisceau réfléchi suit le même trajet que le faisceau incident, le long du corps central de l'objectif.
- *en fond noir* : après réflexion sur un miroir, le faisceau est focalisé par un condenseur annulaire. Contrairement à l'éclairage fond clair, seule la lumière diffusée est recueillie par l'objectif . Ce mode d'éclairage est donc parfaitement adapté à l'observation d'images Raman.

La lumière diffusée reprise par l'objectif est divisée en deux faisceaux par une lame séparatrice. Un des faisceaux traverse un oculaire qui forme alors l'image de la surface de l'échantillon sur un écran de contrôle (verre dépoli). L'autre faisceau est envoyé vers le filtre. Un jeu de lames séparatrices permet de choisir le rapport des intensités des

des deux faisceaux dans les proportions 0/1, 0,25/0,75, 1/0.

Sur la tourelle du microscope sont montés 4 objectifs Epi-achromatiques (épiscopique, corrigé des aberrations de chromaticité) à champ plan.

- x 4 ouverture numérique 0,1
- x 10 ouverture numérique 0,25
- x 20 ouverture numérique 0,45
- x 40 ouverture numérique 0,65

Les accessoires montés sur le microscope (boîte à lumière, répartiteur de faisceaux) multiplient par un facteur 1,75 les grossissements des différents objectifs.

Rappelons que le pouvoir séparateur est la qualité essentielle du microscope et qu'un oculaire ou tout autre système de visualisation ne peut permettre l'observation de détails qui ne sont pas séparés dans l'image de l'échantillon donnée par l'objectif. La limite de résolution d'un objectif optiquement parfait, fixée par les phénomènes de diffraction est :

$$\Delta x = \frac{0,6 \lambda_0}{O_n} \quad (O_n = \text{ouverture numérique})$$

Ainsi par exemple, pour $\lambda_0 = 0,5145 \mu$ et pour les ouvertures numériques 0,25, 0,45 et 0,65, on obtient $\Delta x = 1,2, 0,7$ et $0,5 \mu$

Un filtre coloré escamotable peut être placé après l'objectif. Il coupe alors le rayonnement diffusé sans changement de longueur d'onde et permet l'observation visuelle directe au travers d'un oculaire, de l'échantillon en microscopie de fluorescence.

III. - ILLUMINATION DE L'ECHANTILLON

1 - Eclairage global de la surface de l'échantillon

La détectivité de la microsonde dépendra beaucoup de l'éclairage de l'échantillon et il est impératif de minimiser les pertes de lumière. En fond noir, l'optique d'éclairage adaptée à l'ouverture numérique d'un

objectif, est le condenseur annulaire qui lui est associé. Cependant, on ne peut envoyer le faisceau laser directement sur le miroir d'entrée du système d'éclairage (Fig. 6). En effet, la section du faisceau étant trop petite pour couvrir ce miroir, seule une fraction très réduite du champ vu par l'objectif serait éclairée.

Sur la figure 6, l'optique annulaire (miroir percé en son centre suivi du condenseur) est schématisée par une lentille dont le centre est masqué. Sont également représentés les faisceaux qui traversent le condenseur ; le plan P_2 est celui de la surface de l'échantillon. Le système d'éclairage épiscopique fond noir conçu par le constructeur a les caractéristiques suivantes :

- 1) Le condenseur annulaire admet un faisceau divergent en forme de manchon conique.
- 2) Au champ vu par l'objectif de microscope, correspond une zone optiquement conjuguée, située dans un plan P_1 . La distribution d'intensité au niveau de l'échantillon sera alors identique à celle de la zone située dans le plan P_1 .

De ceci, il résulte qu'il faut modifier la géométrie du faisceau laser pour que, d'une part la zone analysée de l'échantillon soit correctement éclairée et que d'autre part, il n'y ait pas de perte de lumière au niveau du condenseur annulaire.

Tout d'abord, on voit qu'il est impossible d'utiliser une simple expansion de faisceau obtenue à l'aide d'une ou plusieurs lentilles (Fig. 7). En effet, la partie centrale du faisceau est occultée et la lumière correspondante ne peut parvenir sur l'échantillon. De plus, l'intensité émise par un laser ayant une distribution gaussienne, l'échantillon ne reçoit qu'une fraction minime de la lumière initiale et est éclairé de façon inhomogène.

Il existe cependant un système spécialement conçu pour transformer un faisceau cylindrique en un manchon conique : c'est le Reflexicon (axiconic reflector) (10). Ce dispositif est constitué de deux miroirs

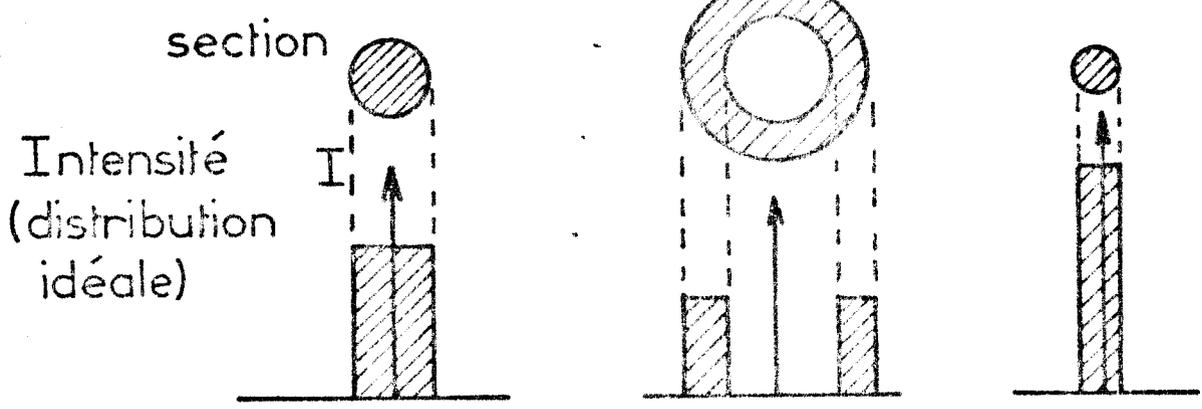
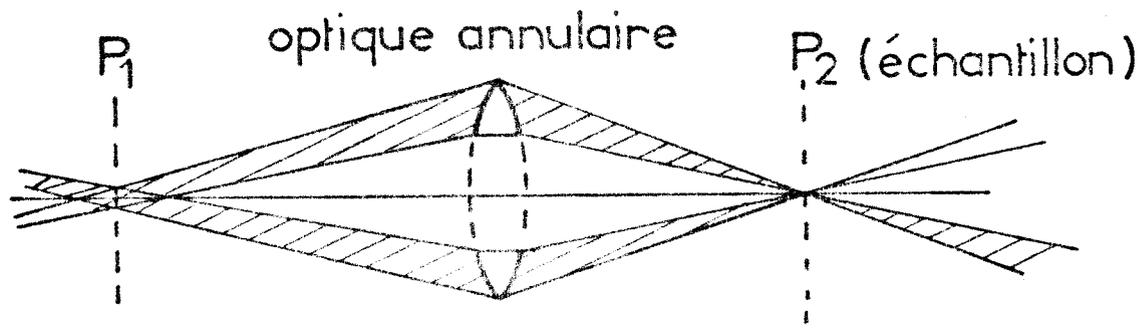


Fig: 6

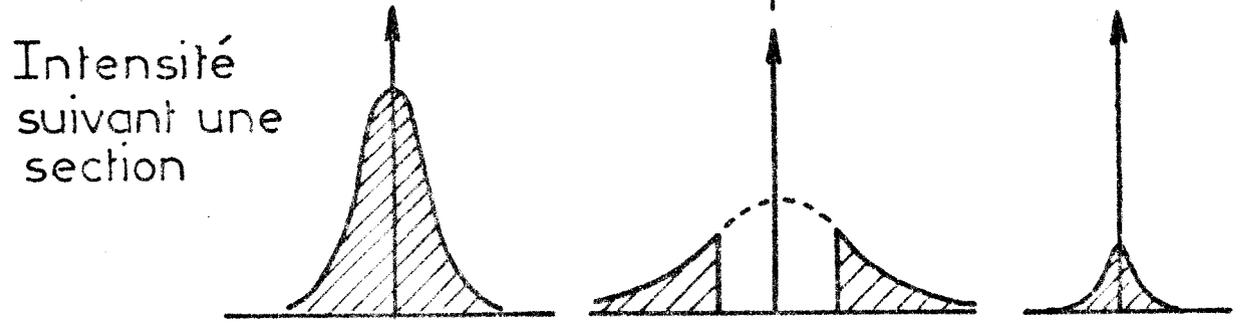
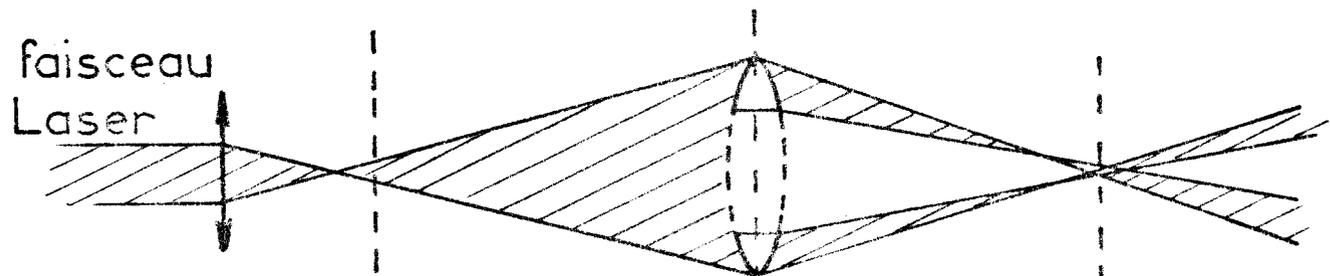


Fig: 7 Expansion du faisceau



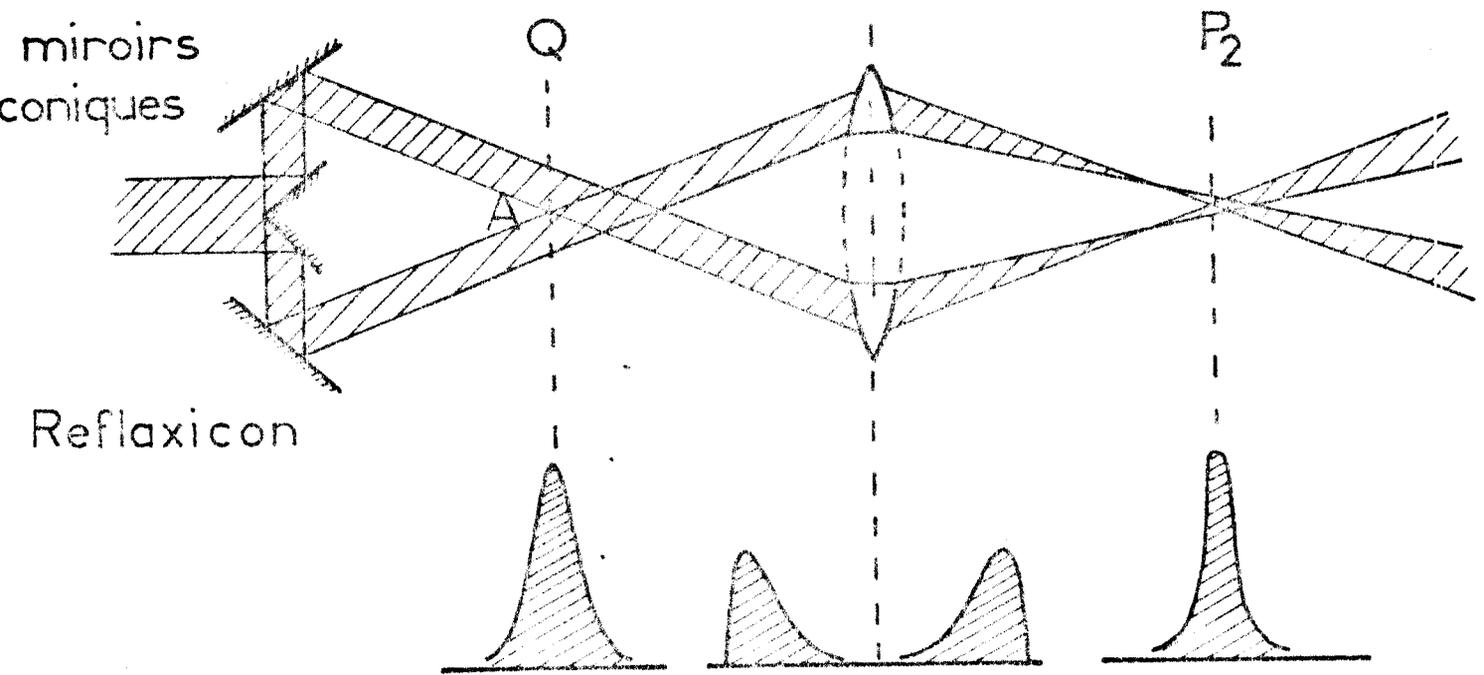


Fig: 8

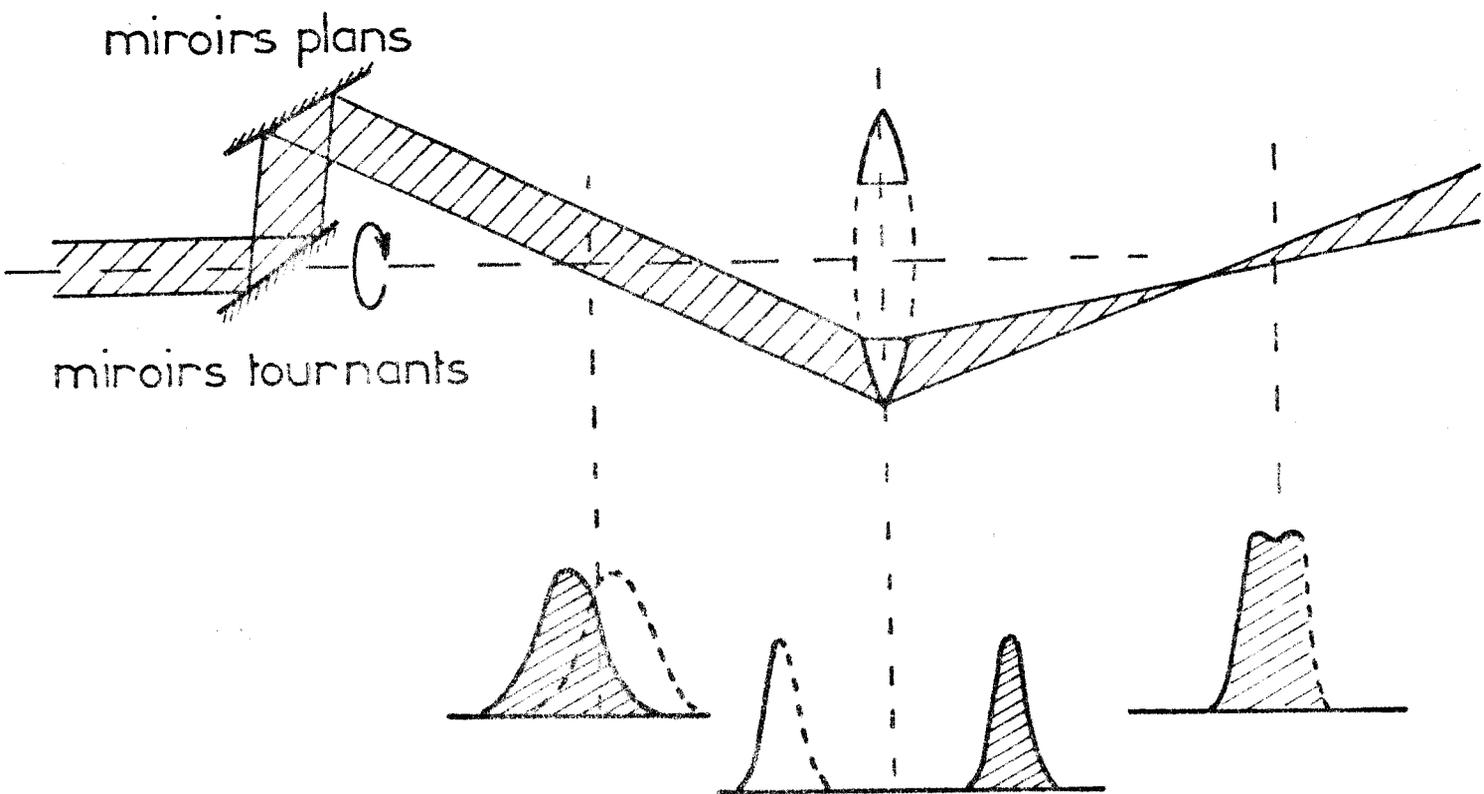


Fig: 9

coniques coaxiaux (Fig. 8). Après deux réflexions, le faisceau est convergent. Après le point de convergence, la section du faisceau obtenue a la forme d'un anneau qui serait susceptible de couvrir parfaitement l'optique annulaire du microscope sans aucune perte de lumière. Un calcul montre que dans le plan Q qui contient le point de focalisation A, on retrouve une distribution gaussienne de l'intensité. La meilleure configuration du système serait celle où le plan Q est conjugué du plan P_2 qui contient l'échantillon. Ce dispositif pourrait alors conduire à un éclairage de la zone observée avec une distribution gaussienne de l'intensité.

Cependant, le reflexicon est peu commode d'emploi : les angles des cônes étant fixes, il faudrait calculer la géométrie particulière du reflexicon le mieux adapté à l'optique annulaire du microscope sans possibilité d'ajustements ultérieurs.

P. DHAMELINCOURT a envisagé une autre solution plus simple consistant à faire dévier le faisceau laser par un montage à deux miroirs plans réglables fixés sur un même support (Fig. 9). Par rotation du support autour d'un axe parallèle à la direction du faisceau incident, on obtient un faisceau tournant qui s'appuie sur un cône de même axe que le faisceau incident. Quand les miroirs ont décrit un tour, la zone observée de l'échantillon a été entièrement balayée par le faisceau. Chacun des miroirs est monté sur un support point-trait-plan ; il est donc possible de régler la déviation du faisceau pour que l'optique annulaire soit parfaitement parcourue par le faisceau. La surface de l'échantillon est éclairée de façon satisfaisante.

De plus, ce système d'éclairage mobile a, sur le système statique précédent, l'avantage de supprimer le phénomène de granularité laser "speckle noise", dû à la cohérence du faisceau, sur les images qui apparaissent sur l'écran. En lumière monochromatique cohérente, chaque défaut de planéité de la surface éclairée est la cause d'interférences localisées dont les franges donnent à la surface un aspect granuleux. Si l'éclairage est mobile, au niveau de ces défauts, la cohérence spatiale du faisceau est en moyenne nulle et la granularité n'apparaît plus.

2 - Eclairement ponctuel de la surface de l'échantillon

Malgré l'énorme amplification apporté par le tube intensificateur d'images et la caméra électronique, l'étude de certains échantillons s'avère difficile avec le système d'éclairage précédent. Il s'agit, soit des échantillons très petits (de l'ordre du micron), soit des échantillons très peu diffusants pour lesquels les raies Raman sont trop faibles pour permettre l'obtention d'une image. Pour augmenter la sensibilité de l'appareil (sans jouer sur la partie détection), il suffit d'augmenter la densité de photons au niveau de l'échantillon.

En utilisant l'éclairage fond clair, l'objectif du microscope permet de focaliser le faisceau laser en un spot d'environ 1 μ de diamètre sur la surface de l'échantillon selon le principe suivant :

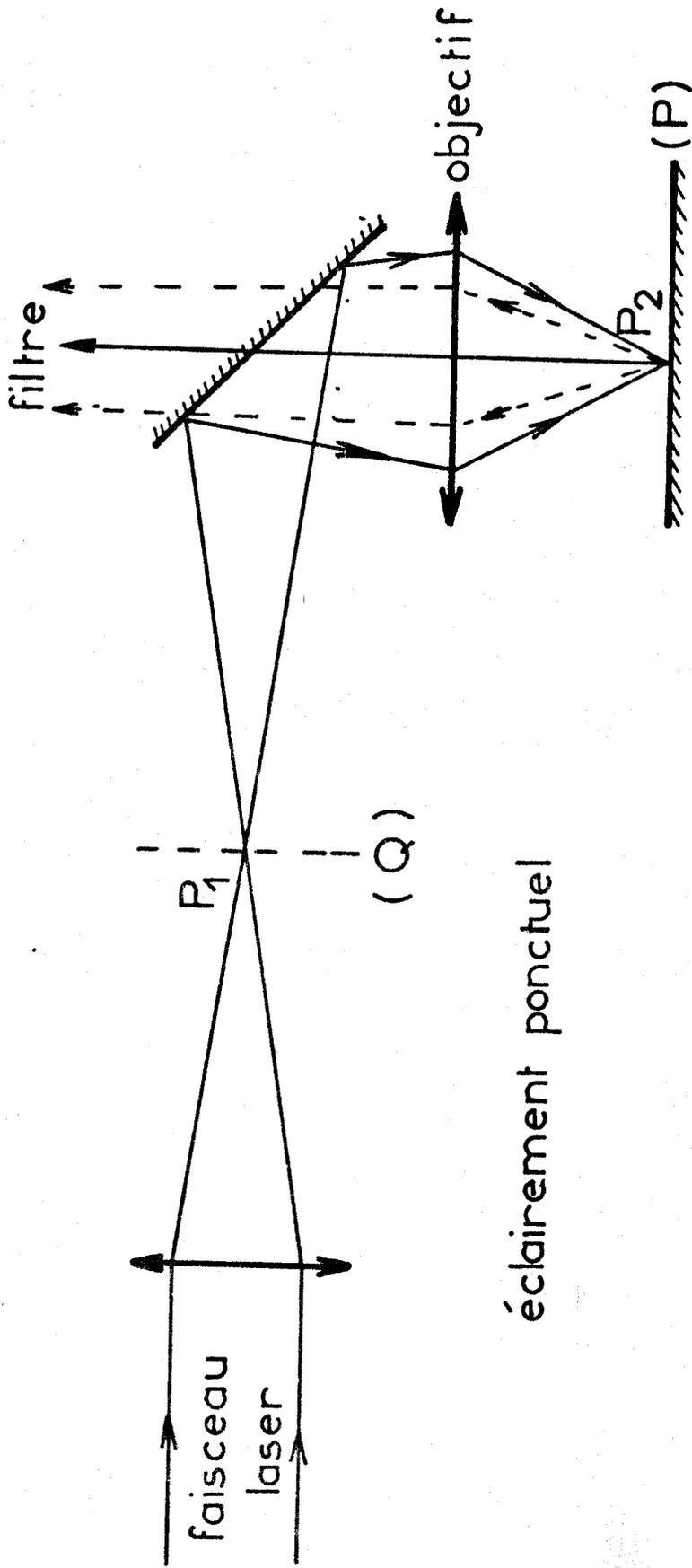
L'objectif du microscope (Fig. 10) donne, de la surface de la préparation (plan P), une image située dans un plan Q. En focalisant le faisceau laser à l'aide d'une lentille, dans ce plan (point P_1), le faisceau reconverge au niveau de l'échantillon, au point P_2 , optiquement conjugué de P_1 .

A ce type d'éclairage, on peut associer :

- une détection monocanale : un photomultiplicateur suivi d'un amplificateur de courant continu, et d'un enregistreur à plume. L'appareil fonctionne alors en microspectrophotomètre.
- une détection multicanale : un tube intensificateur d'images muni d'une caméra électronique pour bas niveaux. L'appareil fonctionne alors en spectrographe.

Remarque :

Avec cet éclairage, pour certains échantillons particulièrement absorbants ou fragiles, il y a un risque de destruction par échauffement. Il faut alors rechercher les meilleures conditions d'analyse : puissance et longueur d'onde du faisceau laser, choix de la matrice susceptible d'atténuer l'échauffement, enceinte régulée en température, jet de gaz froid, etc...



éclairage ponctuel

Fig: 10

IV. - LE FILTRE OPTIQUE

Les caractéristiques essentielles du filtre optique doivent être :

- une bonne résolution spectrale
- un taux de lumière parasite très bas.

Depuis quelques années, un nouveau type de réseau est apparu : le réseau holographique. Contrairement aux réseaux classiques, ces réseaux ne sont pas gravés sur machine mais résultent de l'enregistrement sur une couche photosensible d'un système d'interférences créées par deux points sources cohérents.

Le premier avantage de ce procédé est d'abord d'éliminer complètement les "ghosts", images fantômes dues aux défauts de périodicité du pas du réseau, ainsi qu'une bonne partie de la lumière parasite due aux défauts aléatoires de gravure. Les seuls défauts restants sont des micro-imperfections au niveau de la surface du réseau, ce qui explique que le taux de lumière parasite est très nettement inférieur à celui donné par les réseaux gravés.

La souplesse du procédé permet alors d'obtenir des réseaux de grandes surfaces et à grand nombre de traits. D'autre part, par enregistrement des franges sur un support sphérique, on engendre des réseaux concaves. Leur utilisation dans un monochromateur permet de supprimer les optiques collimatrices, sources importantes de lumière parasite.

L'efficacité de ces réseaux en lumière naturelle ou polarisée est comparable à celle des réseaux gravés quand le pas a du réseau est tel que $0,8 < \lambda/a < 1,7$.

De plus, dans le cas des réseaux concaves le choix de la position des points sources qui donnent le système d'interférences, permet d'obtenir une grande variété de distributions non uniformes des traits du réseau.

Dès lors il est possible de réduire les aberrations du spectre et d'obtenir certaines propriétés de stigmatisme inconnues pour les réseaux concaves classiques. Pour une meilleure compréhension de ces phénomènes, nous donnons en annexe quelques éléments de théorie géométrique des réseaux holographiques concaves.

Pour permettre l'exploitation du domaine des basses fréquences, domaine particulièrement important pour l'étude des solides, l'atténuation suffisante de la diffusion Rayleigh qui masque les raies Raman situées dans son voisinage, n'est possible que par un filtre comportant au moins deux étages monochromateurs. Pour constituer ce double monochromateur à réseaux identiques, deux montages sont possibles :

1° Le montage additif

Le premier réseau disperse la lumière, le second disperse à nouveau la bande spectrale que laisse passer la fente intermédiaire. Le filtre peut alors fonctionner aussi bien en spectromètre qu'en spectrographe à bande passante étroite.

Ce montage est intéressant en microscopie Raman. En effet, en spectrographe, la visualisation de tout un domaine spectral est immédiate. En calant le filtre dans le domaine des fréquences attendues, on peut alors trouver rapidement la zone de l'échantillon qui contient une ou plusieurs espèces chimiques données. De plus, la spectroscopie multicanale permet de suivre dans le temps l'évolution d'une large bande du spectre Raman sans la perte de résolution temporelle caractéristique de l'analyse monocanale. Enfin, pour obtenir des images de bonne qualité, nous verrons qu'il est nécessaire d'utiliser des fentes relativement larges. Un montage additif permet alors de conserver une résolution spectrale suffisante.

2° Le montage soustractif

Le premier réseau disperse la lumière, le second recombine la bande spectrale que laisse passer la fente intermédiaire. Ce montage se révèle moins intéressant. En effet, ce montage n'est pas directement utilisable

en spectrographe. De plus, la séparation de deux espèces chimiques nécessite l'emploi d'une fente intermédiaire étroite. Or, une telle fente entraînerait une dégradation des images.

Le filtre est donc constitué par deux monochromateurs identiques couplés en montage additif. Chaque monochromateur comporte un réseau holographique concave de 2000 traits/mm, de focale 1 m, ouvert à $f/10$ et utilisé en montage Littrow. Les caractéristiques de ces réseaux sont données en annexe. La dispersion réciproque calculée pour l'ensemble est alors de $8 \text{ cm}^{-1}/\text{mm}$ pour $\lambda = 5145 \text{ \AA}$. La rotation des réseaux se fait à l'aide d'une barre cosécante. Un codeur électromécanique permet un affichage direct des nombres d'ondes Raman. Des vis micrométriques permettent de régler l'ouverture des fentes de façon continue jusque 20 mm.

V. - CALCUL DE L'OPTIQUE DE TRANSFERT

Son rôle consiste à former sur le premier réseau une image de la préparation donnée par l'objectif en réduisant au maximum les pertes de flux lumineux par l'adaptation des ouvertures du microscope et du filtre. L'optique de transfert, calculée par P. DHAMELIN COURT, se compose de deux lentilles, dont l'une travaille en verre de champ et l'autre transfère l'image de la préparation sur le réseau.

La figure 11 résume les éléments de base utilisés pour le calcul de l'optique de transfert.

Nous avons adopté les notations suivantes :

- h : dimension de la préparation
- h_0 : grandeur de l'image de la préparation formée par l'objectif
- h_1 : grandeur de l'image virtuelle de la préparation formée par L_1
(image de h_0 par L_1)
- H : grandeur de l'image de la préparation sur le réseau
- P_0 : diamètre de la pupille d'entrée de l'objectif
- P_1 : diamètre de l'image donnée de P_0 par L_1 , lentille de champ

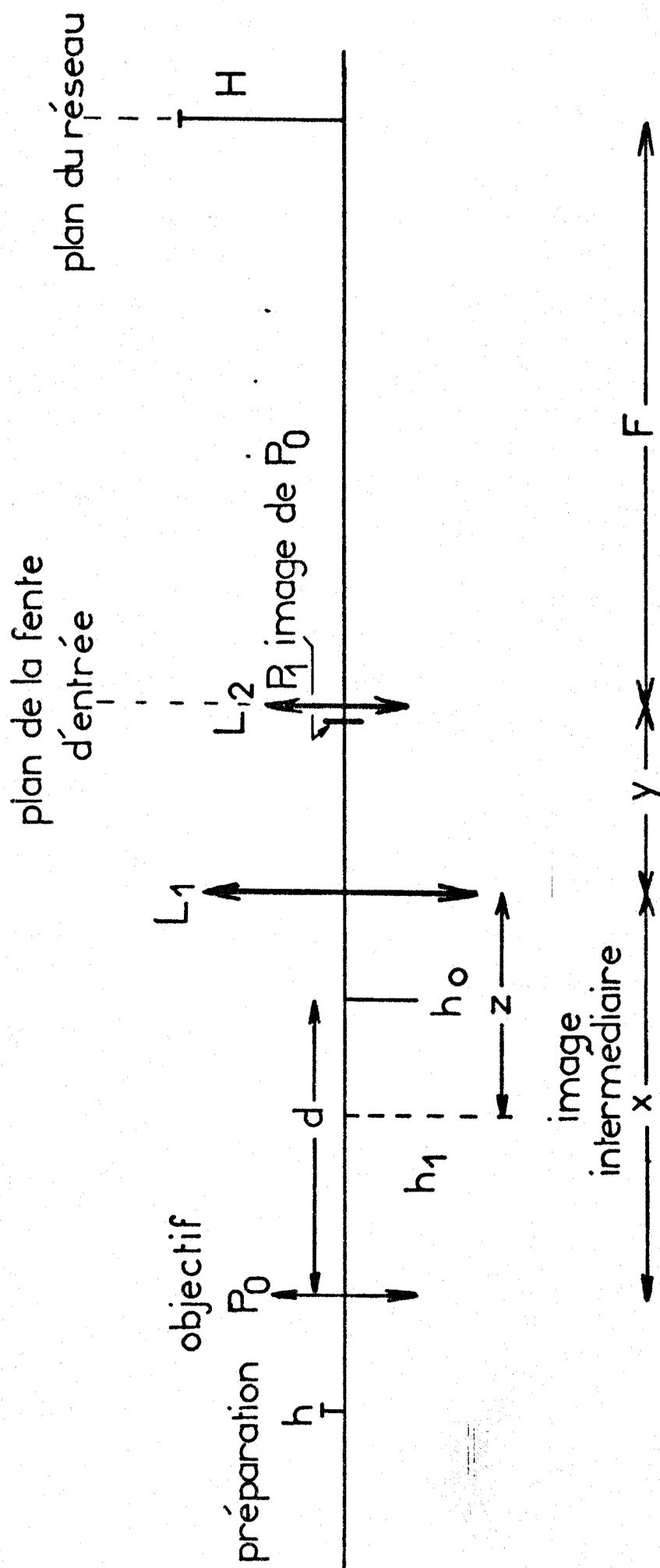


Fig:11



d : distance de la pupille P_0 à l'image de la préparation h_0
 z : distance entre l'image intermédiaire virtuelle h_1 et L_1
 x : distance séparant la pupille P_0 de L_1
 y : distance de L_1 à la fente d'entrée
 F, f_1, f_2 : distances focales respectives du réseau de L_1 et L_2 .

Les données dont nous disposons, relatives au microscope et au réseau sont les suivantes :

P_0 : 5 mm, $h_0 = 20$ mm
 x : 210 mm (distance de la pupille de l'objectif à l'extrémité du tube, côté filtre)
 d : 185 mm, $F = 1012$ mm
 y, f_1 et f_2 sont alors les variables du système.

Pour que L_1 travaille en verre de champ, il faut qu'elle soit placée le plus près possible de l'image de la préparation. Nous l'avons donc fixée à l'extrémité du tube, côté filtre. L_1 forme alors l'image (P_1) de la pupille d'entrée (P_0) de l'objectif sur la fente d'entrée du filtre. Le transfert de l'image s'effectue en deux étapes :

- L_1 forme de h_0 une image virtuelle h_1
- Cette image intermédiaire est reprise par L_2 qui la projette sur le réseau.

L_2 est placée sur la fente d'entrée car on limite ainsi les aberrations puisque la lentille travaille en son centre (conditions de Gauss). Il nous reste alors à déterminer les valeurs de f_1, f_2 et y conduisant au meilleur couplage possible entre le microscope et le filtre. Pour cela, nous chercherons à exprimer ces valeurs en fonction d'un seul paramètre. Deux conditions essentielles sont à satisfaire :

A) Condition de netteté de l'image (P_1) de la pupille P_0 sur la fente d'entrée du filtre : elle s'exprime par la relation :

$$\frac{1}{x} + \frac{1}{y} = \frac{1}{f_1}$$

Prenons pour paramètre $\alpha = \frac{P_0}{P_1}$, on a alors $\alpha = \frac{x}{y}$ (1) et on en déduit
 $f_1 = \frac{x}{1 + \alpha}$ (2).

B) Transfert de l'image de la préparation sur le réseau

a) Formation d'une image intermédiaire (virtuelle) h_1 de h_0 par la lentille L_1 ; on doit avoir :

$$\frac{1}{x-d} - \frac{1}{z} = \frac{1}{f_1} = \frac{1+\alpha}{x}$$

$$\text{d'où } z = \frac{x(x-d)}{\alpha(d-x) + d} \quad (3)$$

la valeur de h_1 est donnée par l'expression :

$$\frac{h_1}{h_0} = \frac{z}{x-d}$$

soit en remplaçant z par sa valeur :

$$h_1 = \frac{h_0 x}{\alpha(d-x) + d}$$

b) Formation par L_2 de l'image intermédiaire sur le réseau.

La condition de netteté s'écrit :

$$\frac{1}{y+z} + \frac{1}{F} = \frac{1}{f_2} \quad (4)$$

et la grandeur de l'image sur le réseau s'exprime par :

$$\frac{h_1}{y+z} = \frac{H}{F}$$

soit en remplaçant h_1 et z par leurs valeurs et tenant compte de (1)

$$H = \alpha h_0 \frac{F}{d} \quad (5)$$

F, d, h_o étant imposés, le choix de α détermine donc H ainsi que $\frac{H}{h_o}$, grandissement de l'optique de transfert.

Avec F = 1012 mm, d = 185 mm, $h_o = 20$ mm

on trouve : $H = 109,4 \alpha$ (mm).

Enfin le choix de α détermine également f_1 , y et f_2 par les relations :

$$y = \frac{x}{\alpha} \quad f_1 = \frac{x}{1 + \alpha}$$

et

$$f_2 = \frac{F d x}{dx + F \alpha (d-x) + d}$$

(relations que l'on tire des expressions (1), (3) et (4).

Choix de α

α sera déterminé de façon à réduire au maximum les pertes de flux lors du transfert de la lumière entre le microscope et le filtre.

En négligeant les pertes dues au facteur de transmission des lentilles, on peut définir un facteur de transmission du système T, fonction de deux termes.

Au niveau de la fente : un facteur de transmission T_1 ,

$$T_1 = \frac{\text{surface éclairée de la fente}}{\text{surface de l'image de la pupille d'entrée}} \quad (\text{Fig. 12.a})$$

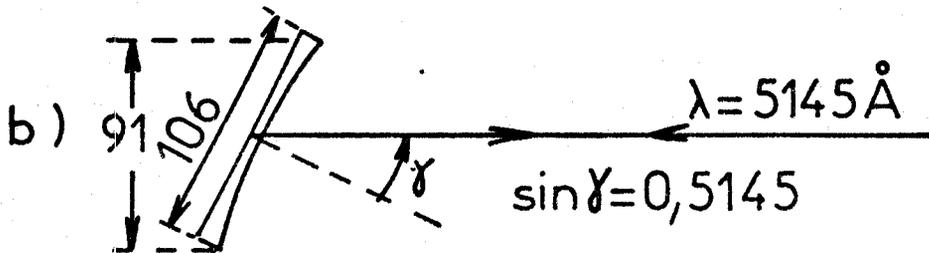
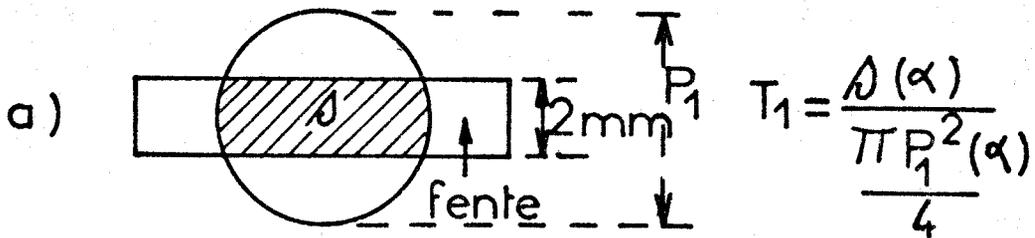
soit

$$T_1 = \frac{s(\alpha)}{\frac{P_1^2(\alpha)}{4}} \quad (P_1 = \frac{P_o}{\alpha})$$

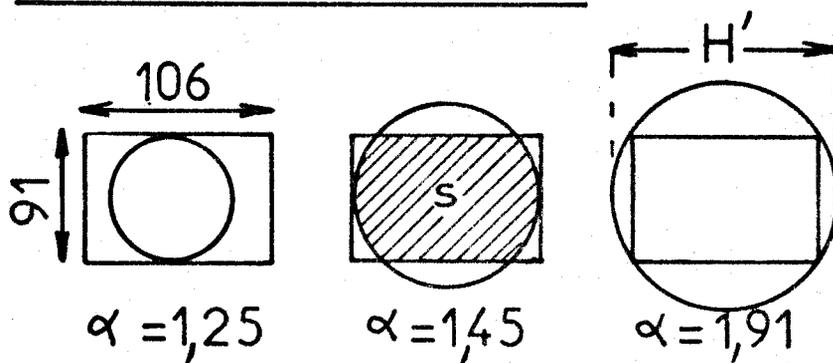
Au niveau du réseau : un facteur de transmission T_2

$$T_2 = \frac{\text{surface effectivement éclairée du réseau}}{\text{surface de l'image au niveau du réseau}} \quad (\text{Fig. 12.b\&c})$$

Eclairement de la fente



Eclairement du réseau



c)

$$T_2 = \frac{s(\alpha)}{\frac{\pi H'^2(\alpha)}{4}}$$

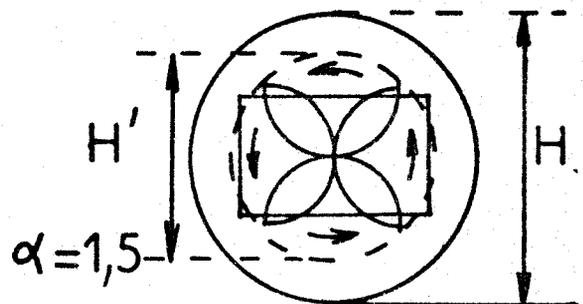
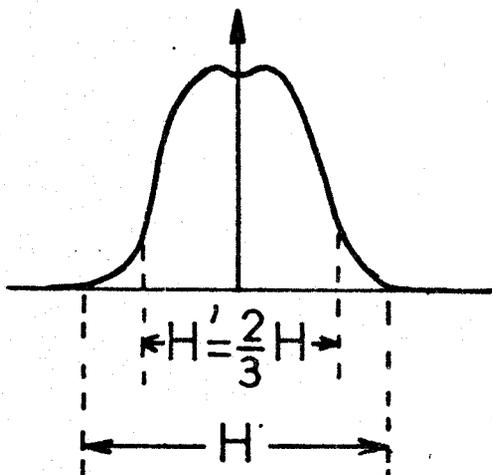


Fig: 12

$$\text{soit } T_2 = \frac{S(\alpha)}{\frac{\pi H'^2(\alpha)}{4}}$$

Cependant, à cause de la forme gaussienne de l'intensité du faisceau laser, le système d'éclairage à miroirs tournants ne permet pas d'éclairer uniformément au niveau de l'échantillon, tout le champ couvert par l'objectif, mais environ les 2/3. De ce fait, la partie éclairée de l'image donnée par l'objectif a pour dimension :

$$h'o = 2/3 h_o$$

Au niveau du réseau, la grandeur de l'image effectivement éclairée est alors :

$$H'(\alpha) = \frac{2}{3} H = \frac{2}{3} \times 109,4 \alpha$$

Le réseau étant incliné, l'intersection du faisceau incident avec le réseau est celle d'un cercle par un rectangle (de dimension 106 x 91 mm pour $\lambda = 5145 \text{ \AA}$). La figure 12.c montre différents cas d'éclairage du réseau en fonction de α .

La transmission totale à l'efficacité du réseau près est alors :

$$T = T_1 \times T_2$$

La figure 13 reproduit les variations de T_1 et T_2 en fonction de α pour une fente de largeur $a = 1,2$ ou 3 mm et pour une pupille correspondant à l'objectif G x 20. d'utilisation plus courante.

Seul T_1 dépend de la largeur de la fente.

On constate alors que, quelque soit l'ouverture de la fente, on obtient un maximum de transmission pour $\alpha \approx 1,5$. L'optique de transfert a donc été calculé pour cette valeur.

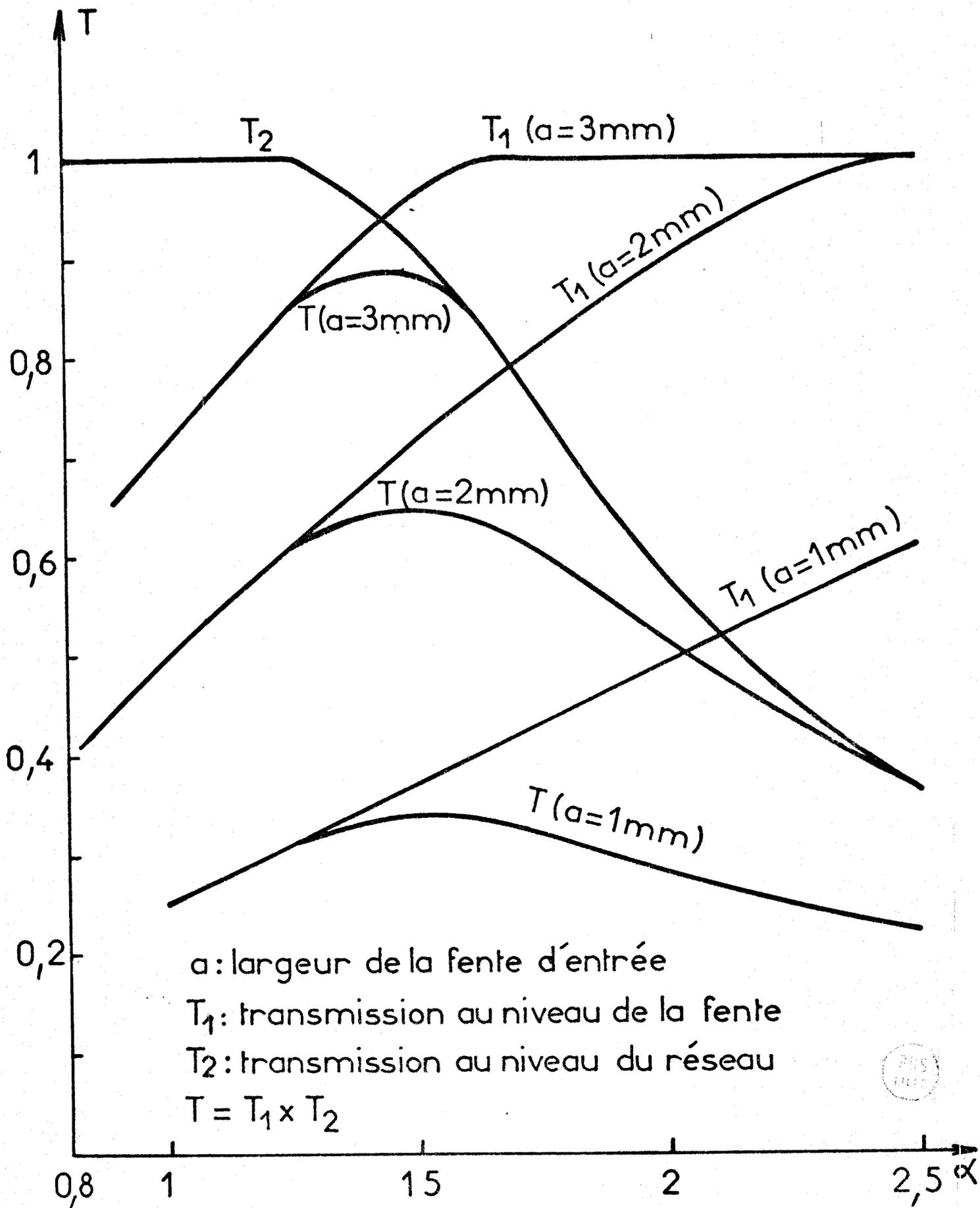


Fig:13

A partir de $\alpha = 1,5$, on calcule :

$$y = 140 \text{ mm} \quad f_1 \approx 85 \text{ mm} \quad f_2 \approx 150 \text{ mm}$$

et le grandissement de l'optique de transfert :

$$\frac{H}{h_0} = 8,2$$

VI. DETECTION ET OBSERVATION DES IMAGES

a) La détection :

La détection multicanale (11) est assurée par un tube intensificateur d'images à 3 étages. Nous avons utilisé des tubes du type R.C.A. 4549 ou I.T.T. - P.F. 403 KC, dont le gain très élevé en luminance ($\approx 30\ 000$) permet, pour certains échantillons, l'observation visuelle directe du spectre Raman ainsi que des images obtenues à partir d'une raie Raman. Le principe de fonctionnement du tube intensificateur est le suivant (Fig. 14) :

Chaque étage comporte une photocathode, une optique électronique et un écran fluorescent. L'image optique est transformée en une image électronique par la photocathode. Les électrons, accélérés par un champ électrique, viennent frapper un écran fluorescent qui transforme l'image électronique en une image optique plus intense que celle reçue par la photocathode. Le transfert des images entre la fenêtre d'entrée du tube et la photocathode du 1er étage, entre les étages, puis finalement entre l'écran fluorescent du 3ème étage et la fenêtre de sortie, se fait par fibres optiques.

Pour obtenir une bonne sensibilité, on place derrière le tube intensificateur, une caméra électronique pour bas niveau, du type S.E.C. ou S.I.T. (12, 13). L'image Raman ou le spectre est alors rendu visible sur un moniteur T.V.

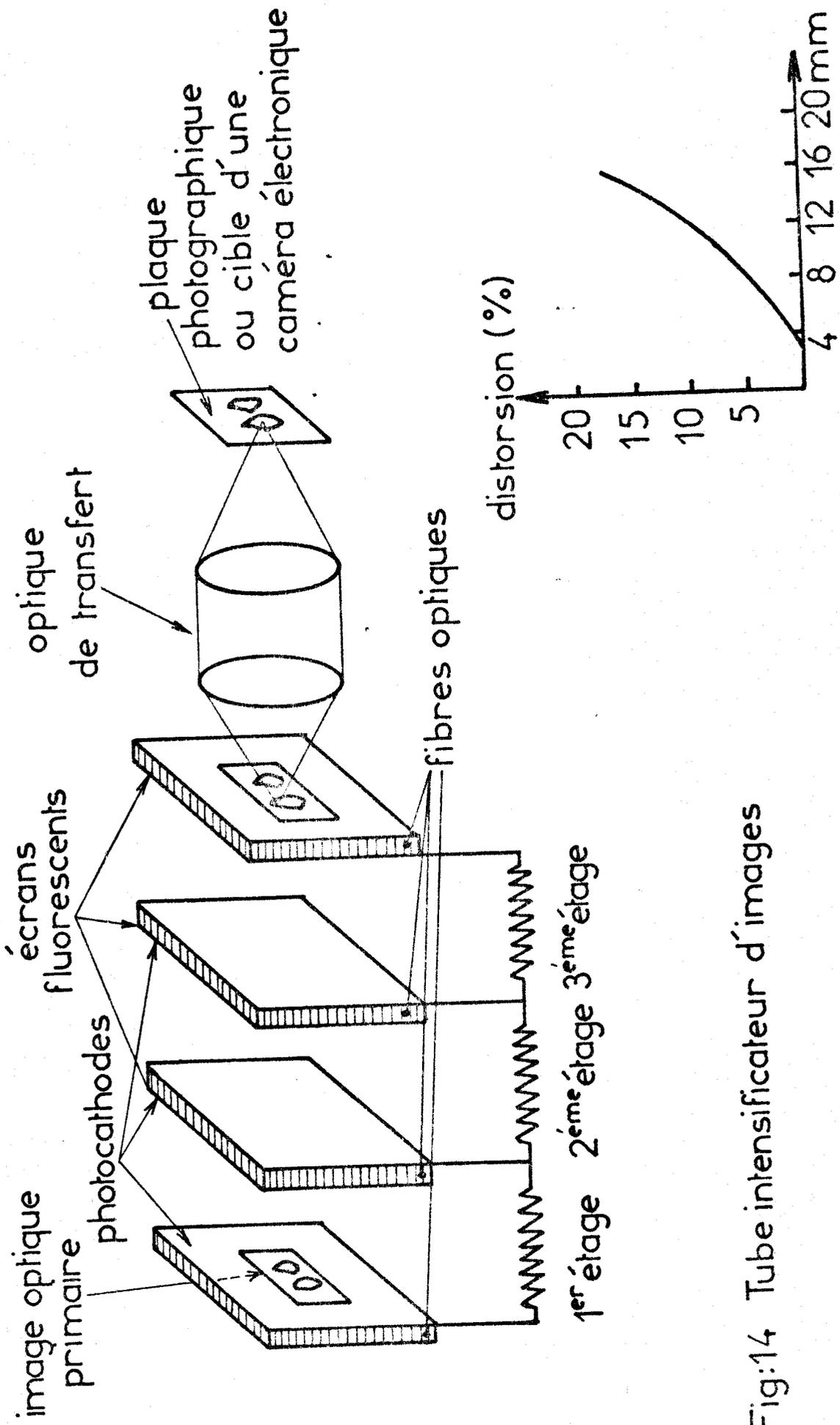


Fig:14 Tube intensificateur d'images

b) Optique associée au détecteur photoélectrique :

Cette optique permet :

- l'observation de l'image de l'échantillon. On utilise pour cela une lentille L_3 placée sur la fente de sortie (Fig. 15) qui transfère sur la photocathode du tube intensificateur, l'image de la préparation située au niveau du réseau
- l'observation de l'image du spectre Raman de l'échantillon. Pour cela, on intercale une lentille L_4 qui forme sur la photocathode, au rapport 1, l'image du plan d'étalement des raies.

c) Choix des lentilles L_3 et L_4 :

La courbe de la figure 14 montre que la distorsion introduite dans l'image augmente rapidement du centre vers la périphérie de la photocathode. De ce fait, il est nécessaire que l'image formée reste de dimensions inférieures à 20 mm pour une photocathode de diamètre 40 mm. Afin de réduire les aberrations, nous plaçons L_3 au niveau de la fente de sortie (lentille utilisée en son centre). En prenant pour L_3 une lentille identique à L_2 (focale = 150 mm), on obtient une image de la préparation de 19 mm de longueur, centrée sur la photocathode. La distance entre la fente de sortie et la photocathode est alors de 176 mm.

Pour observer le spectre, nous plaçons approximativement à mi-distance entre le plan d'étalement des raies et la photocathode, une lentille L_4 de 40 mm de focale qui forme alors au grandissement 0,9, l'image du spectre sur la photocathode du tube intensificateur d'images.

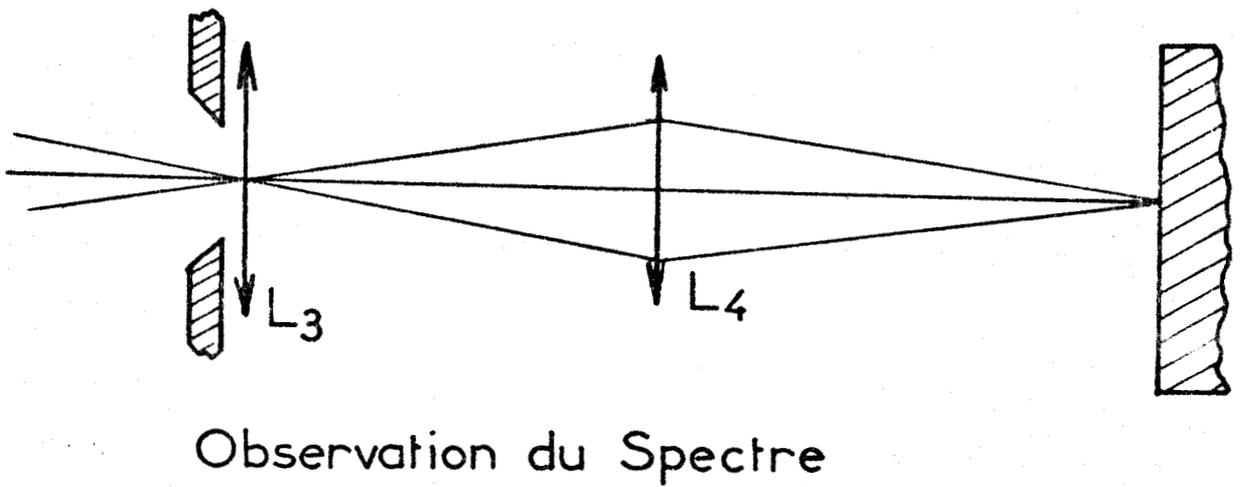
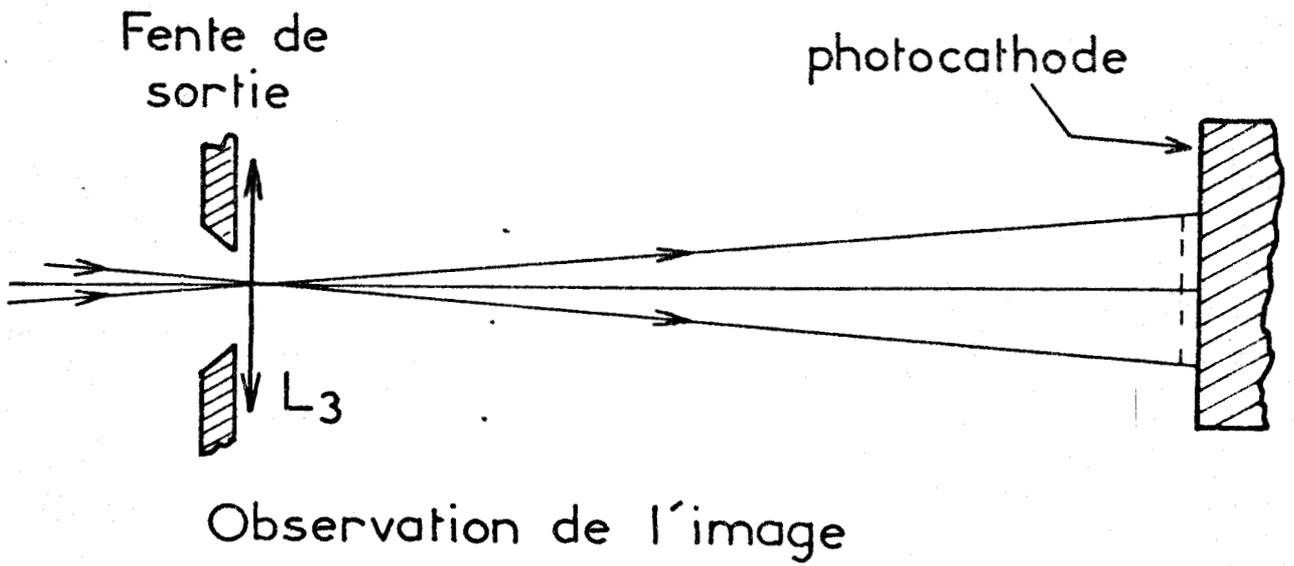


Fig : 15



CHAPITRE III

UTILISATION DE LA MICROSONDE À EFFET RAMAN

I - CHOIX DE L'OUVERTURE DES FENTES

La limite de résolution du microscope étant de l'ordre du micron, il convient de déterminer les conditions nécessaires à la conservation de cette résolution au cours du transfert des images.

Rappelons que pour un instrument optiquement parfait, c'est-à-dire donnant des images dépourvues d'aberration, le pouvoir séparateur intrinsèque n'est limité que par la diffraction qui provient de la limitation des faisceaux par les pupilles de l'instrument.

Quand l'instrument est associé à un récepteur d'images (plaque photographique, tube intensificateur), le pouvoir séparateur de l'ensemble de l'instrument dépendra également de la limite de résolution permise par la structure du récepteur. D'autre part, si l'objet a une certaine profondeur, le pouvoir séparateur du récepteur déterminera la tolérance de netteté, c'est-à-dire la profondeur du champ.

Dans le cas présent, l'instrument est utilisé à la fois en spectrographe et en microscope, il faut donc distinguer une résolution spectrale et une résolution spatiale de l'image. Pour obtenir une résolution de l'image de l'ordre de 1μ , il faut s'assurer que :

- cette résolution est conservée au cours du transfert de l'image sur chacun des réseaux
- la résolution du tube intensificateur est suffisante pour ne pas dégrader l'image finale.

1. - Projection de l'image sur le 1er réseau :

Considérons l'ensemble constitué par l'objectif du microscope, de l'optique de transfert et du premier réseau. La pupille d'entrée de l'objectif est conjuguée optiquement de la fente d'entrée. La fente est donc la pupille qui diaphragme les faisceaux. La dimension de cette pupille est égale à la largeur de la fente quand celle-ci est inférieure à la dimension de l'image de la pupille d'entrée de l'objectif.

Pour une fente de largeur a , la limite de résolution est donnée par l'interfrange du phénomène de diffraction de Fraunhofer dans le plan de l'image géométrique située au niveau du réseau,

$$\text{soit : } i = \frac{\lambda F}{a}$$

où F est la distance de la fente d'entrée au réseau.

Soit alors ε , l'élément de longueur résolu au niveau de l'échantillon ($\varepsilon \approx 1\mu$). Il faut alors que cet élément ait sur le réseau une image ε' telle que $\varepsilon' > i$. En utilisant l'équation 5 du chapitre II ($H = \alpha h_o \frac{F}{d}$), on obtient :

$$\varepsilon' = \alpha \varepsilon_o \frac{F}{d}$$

où ε_o est l'image de ε donnée par l'objectif de grandissement γ et suivi

de l'optique additionnelle de grandissement 1,75 soit :

$$\varepsilon_0 = 1,75 \gamma \varepsilon$$

la condition $\varepsilon' > i$ s'écrit alors :

$$\alpha \times 1,75 \gamma \varepsilon \frac{F}{d} > \frac{\lambda F}{a}$$

$$\text{soit } a > \frac{\lambda d}{1,75 \gamma \varepsilon \alpha}$$

avec $\lambda = 0,55 \mu$, $d = 185 \text{ mm}$, $\varepsilon = 1$, et $\alpha = 1,5$, on obtient :

$$a > 1,9 \text{ mm pour } \gamma = 20$$

$$a > 0,95 \text{ mm pour } \gamma = 40$$

Donc, pour ne pas dégrader l'image on utilisera une fente d'entrée ouverte respectivement au moins à 2 mm et 1 mm pour les objectifs x 20 et x 40.

2. - Transfert de l'image sur le second réseau :

L'image située sur le premier réseau est transférée sur le deuxième réseau par la lentille placée sur la fente intermédiaire. En considérant que les réseaux ne servent que de support réfléchissant dans une direction, et n'interviennent pas dans la formation d'images, on obtient sur le deuxième réseau une image de même dimension. Soit a la largeur de la fente intermédiaire (supposée égale à la largeur de la raie Raman qui est la véritable pupille), l'interfrange de diffraction au niveau du deuxième réseau est alors :

$$i = \frac{\lambda F'}{a} \quad (F' = \text{ focale du deuxième réseau, } F' = F)$$

Puisqu'il n'y a pas de grandissement de l'image, (en effet, les réseaux sont dans les plans anti-principaux de la lentille), l'intervalle résolu au niveau du second réseau est $\varepsilon'' = \varepsilon'$. Le raisonnement du paragraphe 1 conduit donc ici aux mêmes ouvertures de fentes que précédemment.

3. - Projection de l'image sur la photocathode :

Au niveau du second réseau, l'élément $\varepsilon = lu$ a pour image $\varepsilon'' = \varepsilon' = \alpha \varepsilon_0 F/d$. Son image projetée sur la photocathode a pour dimension :

$$e = \frac{\ell}{F'} \varepsilon'$$

avec ℓ = distance de la fente de sortie à la photocathode.

L'interfrange de diffraction au niveau de la photocathode valant $i = \lambda \ell/a$, il faut donc $e > i$

$$\text{soit : } \frac{\ell}{F'} \varepsilon' > \frac{\lambda \ell}{a}$$

$$\text{soit : } a > \frac{\lambda F'}{\varepsilon'} \text{ avec } \varepsilon' = \alpha \varepsilon_0 \frac{F}{d}$$

$$\text{donc : } a > \frac{\lambda F' d}{\alpha \varepsilon_0 F} \text{ et } \varepsilon_0 = 1,75 \gamma \varepsilon$$

$$\Rightarrow a > \frac{\lambda F' d}{1,75 \gamma \varepsilon F \alpha}$$

Puisque $F' \approx F$ on obtient la même condition que précédemment.

D'autre part, la résolution du tube intensificateur est de 1/25 mm (25 paires de lignes à 11 mm du centre de la photocathode), il faut donc avoir $e > 1/25$ mm

$$\text{soit : } e = \frac{\ell \varepsilon'}{F'} = \frac{\ell}{F'} \alpha \varepsilon_0 \frac{F}{d} \approx \frac{\ell}{d} \alpha \varepsilon_0 > \frac{1}{25} \text{ mm} = 40 \mu$$

avec $\ell = 176$ mm, $d = 185$ mm, on obtient :

$$e \approx 50 \mu \text{ pour l'objectif } \gamma = 20$$

$$e \approx 100 \mu \text{ pour l'objectif } \gamma = 40$$

On a donc toujours $e > 40 \mu$: la résolution du récepteur est suffisante pour ne pas dégrader l'image donnée de la préparation par l'objectif.

4. - Profondeur de champ :

La netteté de l'image du deuxième réseau sur la photocathode dépend de l'ouverture de la fente de sortie et de la résolution du tube. Considérons les deux points M et N, projections des extrémités du réseau sur l'axe optique (Fig. 16), la mise au point étant faite pour un plan passant par le centre du réseau, les images M' et N' se trouvent à 1 mm de part et d'autre de la photocathode. Pour que ces points paraissent nets, il faut que le cercle de diffusion (intersection du faisceau avec la surface de la photocathode) ait un diamètre au plus égal à la limite de résolution du tube (1/25 mm).

Soit x , le diamètre du cercle de diffusion et a , l'ouverture de fente. La condition étant :

$$x < 1/25$$

et puisque $\frac{a}{175} = \frac{x}{1}$

il faut donc $a < 175 x = \frac{175}{25} = 7,5 \text{ mm}$

L'utilisation d'une telle ouverture de fente est fréquente pour l'exploration du spectre mais pas pour la formation des images. En effet, pour obtenir une image contrastée, il est préférable de limiter l'ouverture de la fente à la largeur de la raie Raman pour éviter la lumière parasite. La profondeur de champ au niveau du réseau est alors toujours largement suffisante.

II - TESTS

1. - Résolution spatiale de l'image :

Pour s'assurer que le filtre optique peut transmettre des images de bonne qualité, l'image d'une lame micrométrique a été photographiée directe-

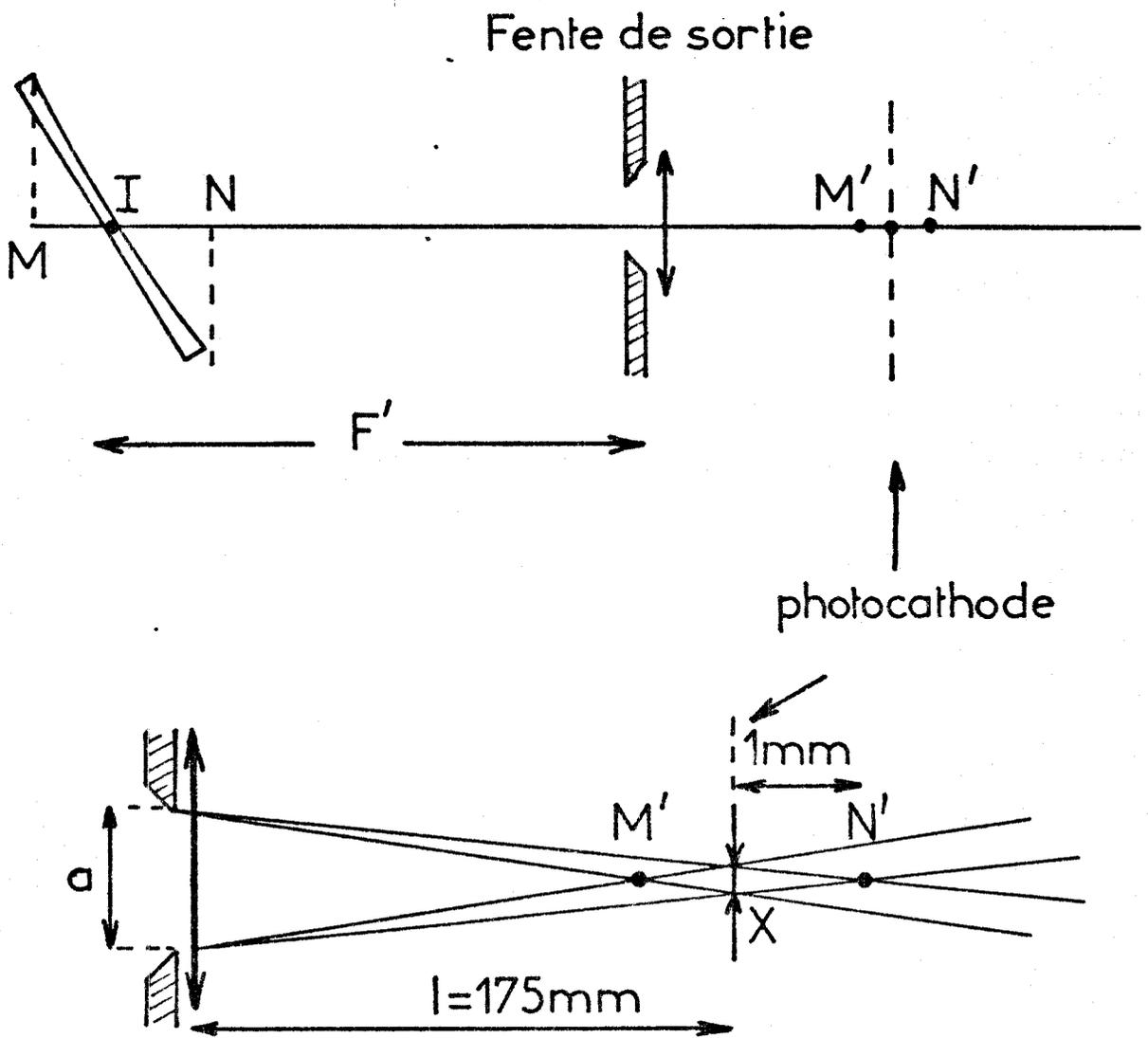


Fig: 16

ment à la sortie de l'appareil, le tube intensificateur étant enlevé pour éviter la légère distorsion en croissant qui lui est caractéristique. La lame micrométrique, placée sur la platine du microscope est éclairée en fond noir à l'aide d'une lampe haute pression à vapeur de mercure. Les fentes sont ouvertes à 2,5 mm pour éviter la dégradation de l'image par diffraction. La figure 17 montre la photographie de la lame, obtenue à partir de la raie 5461 A.

Cette image ne présente aucune distorsion mesurable, de ce fait, la résolution que permet l'objectif utilisé ($\approx 1\mu$) ne se trouve pas diminuée. Il faut remarquer que l'image du second réseau apparaît comme un trapèze. Cette anamorphose est due à l'inclinaison importante du réseau ($\approx 30^\circ$). Par contre, l'image de la lame ne présente pas cette anamorphose. En effet, en considérant que les réseaux n'interviennent qu'en tant que support réfléchissant en direction des fentes, il est possible de montrer que quelque soit le type de montage, un filtre optique construit à partir de deux réseaux identiques, n'introduit aucune anamorphose dans l'image finale située au niveau de la photocathode du tube intensificateur.

2. - Images Raman en basses fréquences :

Pour que l'étude d'échantillons, à partir de raies Raman de basses fréquences, soit possible, il faut que le taux de lumière parasite soit réduit à un niveau extrêmement bas. En réglant les fentes au minimum compatible avec la résolution spatiale, il est possible d'envisager de telles études comme le montre la figure 18.

Un échantillon de pentabromure de phosphore, très hygroscopique, est enfermé dans un tube scellé de 6 mm de diamètre. Avec l'objectif x 10 dont la distance frontale de visée est suffisante, on obtient sur l'écran de contrôle une image de l'échantillon à partir du faisceau laser focalisé au niveau de la paroi interne du tube de verre. A cause des multiples réflexions du faisceau laser dans le tube, l'image classique de l'échantillon est très peu discernable et inexploitable.

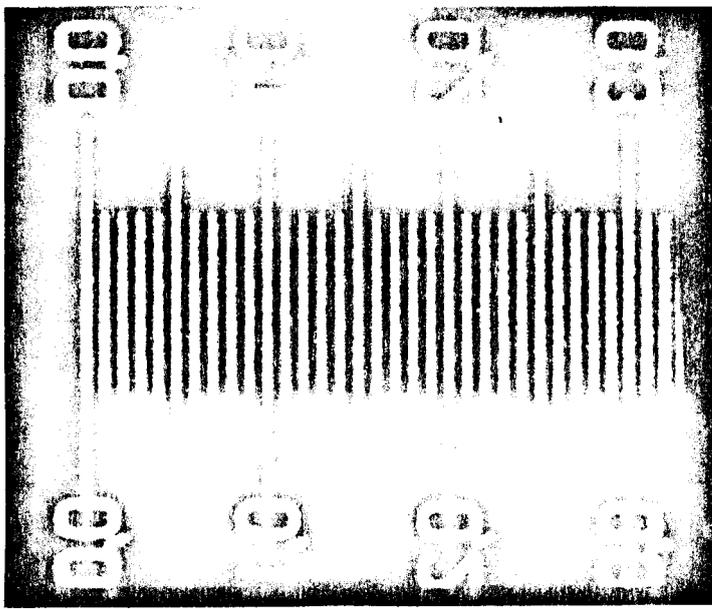
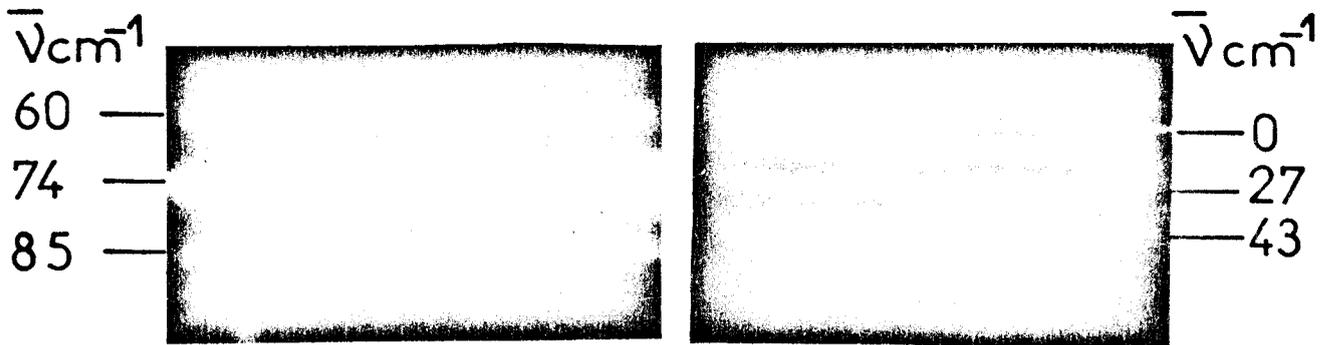
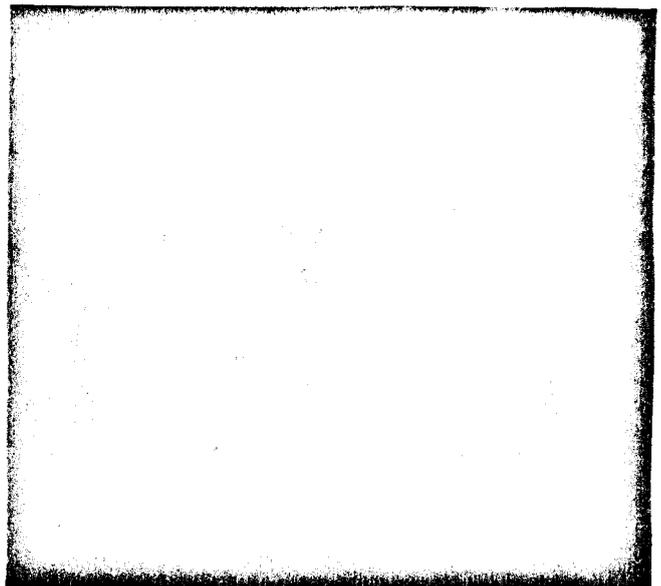


Fig:17



400μ

PBr₅



200μ

S₈



Fig :18

Par contre, à la sortie du tube intensificateur d'images, le filtre étant calé sur la raie Raman 72 cm^{-1} caractéristique de l'ion Fbr_4^+ , on obtient une image bien contrastée.

L'image du soufre S_8 a été obtenue à partir des raies Raman situées dans le domaine $27-50 \text{ cm}^{-1}$. A ce niveau, la lumière parasite résiduelle fait apparaître l'image des poussières déposées sur le réseau.

Les photographies des spectres obtenus avec une fente d'entrée de $0,3 \text{ mm}$ montrent que le filtre permet d'observer le spectre Raman dans le domaine de basses fréquences.

III - OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE RAMAN

Parmi les nombreuses observations effectuées en microscopie Raman, nous avons sélectionné quelques exemples susceptibles de montrer la diversité des études qui peuvent être envisagées grâce à cette nouvelle technique. Les photographies que nous présentons ont été obtenues à l'aide d'un appareil photographique reflex NIKON. Les films utilisés étaient de sensibilité 400 A.S.A (ILFORD 4.P.4 ou AGFAPAN 400). Tous les échantillons ont été observés dans les conditions ordinaires de microscopie optique classique : à l'air libre, sans préparation spéciale, sans traitement de surface. La radiation excitatrice utilisée est la raie 5145 \AA fournie par un laser à Argon ionisé.

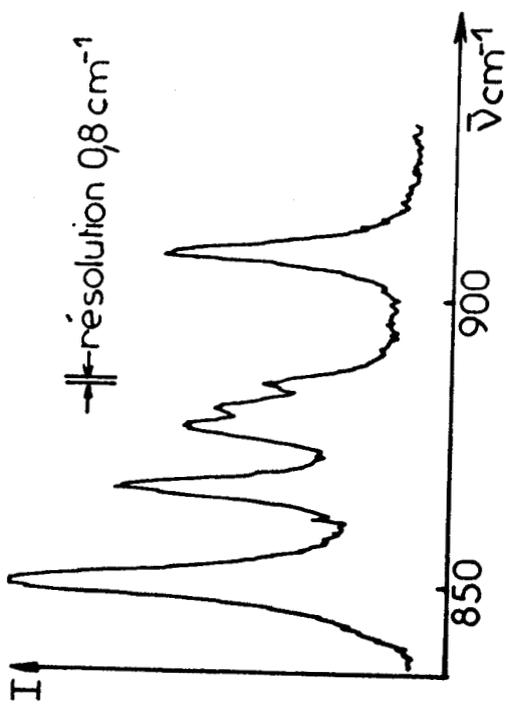
1) Manipulation illustrant le principe de l'identification et de la localisation des constituants d'un échantillon solide hétérogène

Sur une lamelle, est déposée un mélange de cristaux de trioxyde de Molybdène et de chromate de potassium.

L'échantillon est observé successivement (Fig. 19) :

- en lumière blanche à travers une bande spectrale étroite

Enregistrement microdensitométrique
du spectre Raman obtenu sur film



$M_2O_3 + K_2CrO_4$

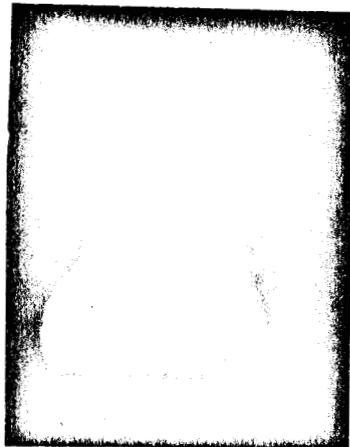
lumière blanche

100 μ



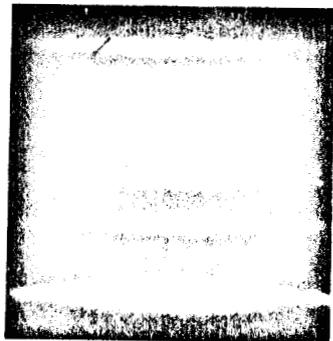
M_2O_3

$\nu_s M_2O-O = 818\text{ cm}^{-1}$



K_2CrO_4

$\nu_s Cr-O = 850\text{ cm}^{-1}$



K_2CrO_4

- à partir d'une raie caractéristique de MoO_3 ($\nu_1 = 818 \text{ cm}^{-1}$, élongation symétrique des liaisons Mo-O)
- à partir d'une raie caractéristique de l'ion CrO_4^- ($\nu_1 = 850 \text{ cm}^{-1}$, élongation symétrique des liaisons Cr-O).

Bien que les raies soient relativement proches, on obtient de bonnes images sélectives de chacun des constituants. Sur la même figure est représenté l'enregistrement microdensitométrique du spectre Raman du chromate de potassium dans la région $850-900 \text{ cm}^{-1}$.

L'utilisation de l'appareil en spectrographe s'avère particulièrement utile pour la reconnaissance quasi immédiate de l'espèce chimique présente dans la zone analysée. En utilisant une caméra S.E.C. ou S.I.T., on peut alors visualiser sur moniteur T.V. le spectre ou l'image Raman de l'échantillon pour la comparer à l'image classique qui apparaît sur l'écran de contrôle. Pour tout objet situé dans le champ du microscope, on observe immédiatement une région spectrale choisie ou l'image de la répartition sélective d'un des constituants. On peut alors analyser rapidement toute la préparation par déplacement de l'échantillon sur la platine du microscope.

2) Observation de cristaux mixtes en phase solide

Nous avons observé en phase solide la réaction du chlorure mercurique sur le bromure mercurique: $\text{HgBr}_2 + \text{HgCl}_2 \rightarrow 2 \text{HgBrCl}$.

En utilisant la raie de vibration caractéristique de Br-Hg-Cl, il est possible de visualiser la formation de cristaux mixtes. Le mélange de bromure de mercure et de chlorure de mercure est pastillé pour obtenir d'une part un contact étroit entre les cristaux pour faciliter la réaction, et d'autre part pour obtenir une surface à peu près plane pour l'observation microscopique. Après chauffage modéré de la pastille, l'échantillon est observé à la microsonde (Fig. 20). On peut alors observer l'image de nombreux cristaux mixtes qui apparaissent brillants sur fond sombre en utilisant la raie à

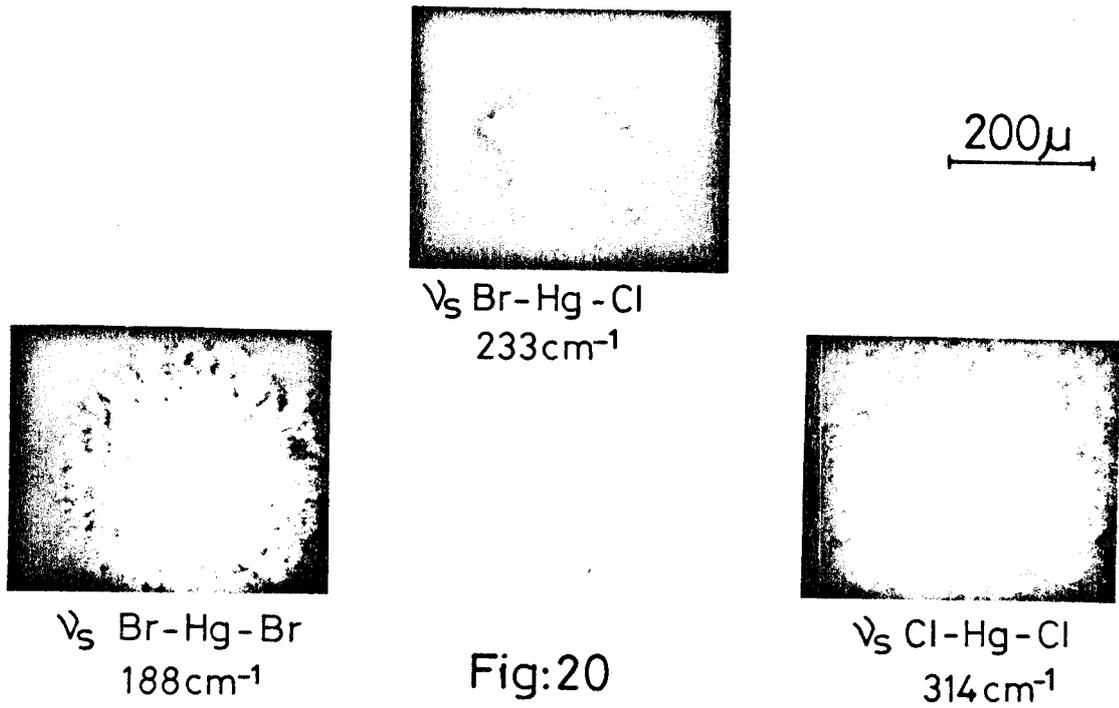
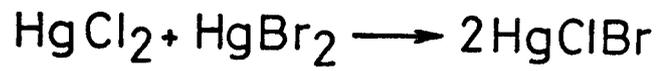


Fig:20

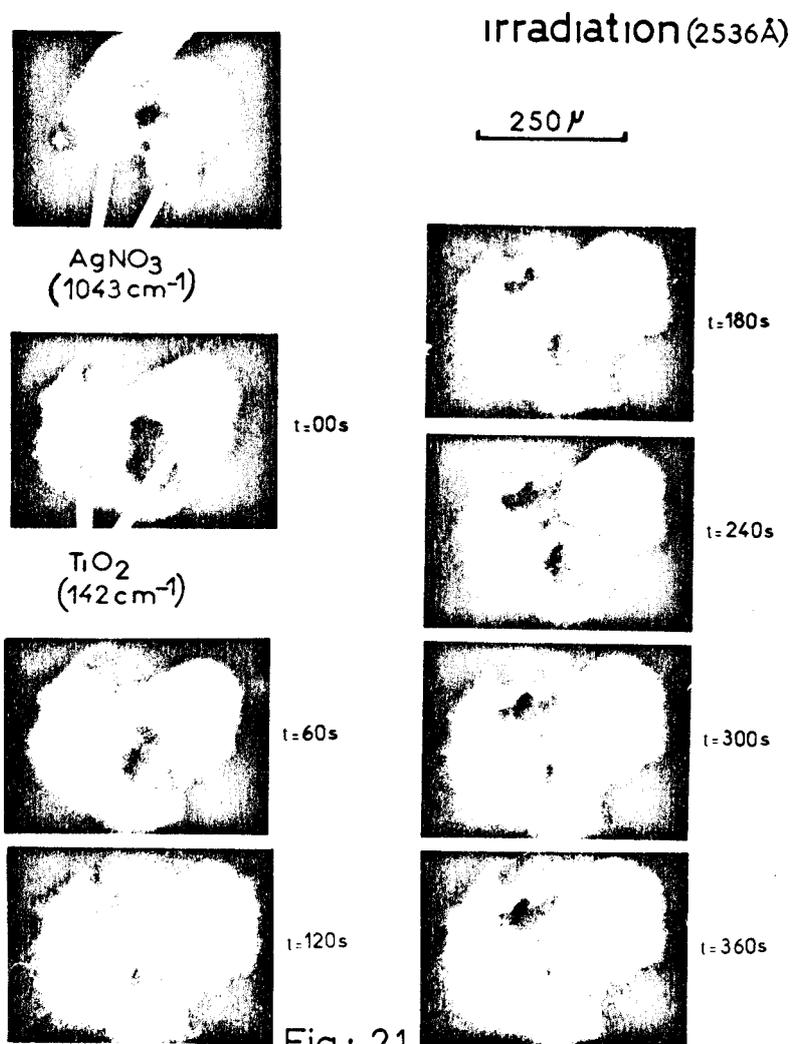
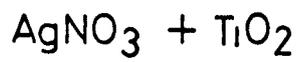


Fig: 21



233 cm^{-1} caractéristique du composé mixte. De façon analogue, il est possible de visualiser les cristaux mixtes dans des systèmes tels que $\text{HgBr}_2\text{-HgI}_2$ ou $\text{HgCl}_2\text{-HgI}_2$ (14). Sous platine chauffante, la détection multi-canal permet de suivre la formation des cristaux en temps réel.

3) Observation d'une réaction photochimique

Des études en infrarouge de la réaction photocatalysée entre l'oxyde de titane et le nitrate d'Argent ont déjà été réalisées (15). Il a été prouvé que le noircissement du mélange $\text{AgNO}_3\text{-TiO}_2$ obtenu après irradiation par ultra-violet, est dû à la réduction des ions Ag^+ en argent métallique. Sous l'irradiation, se produit une desorption d'oxygène à la surface de l'oxyde de titane, augmentant la concentration des électrons à la surface. Cet excédent d'électrons attirerait et extrairait les ions Ag^+ de leur environnement dans le cristal de nitrate d'Argent. Les ions Ag^+ réagiraient ensuite avec ces électrons piégés pour donner de l'argent métallique.

Pour observer la réaction, nous avons fait une pastille des deux composés (1g. AgNO_3 pour 0,3g. de TiO_2). La figure 21 montre les images d'une zone de l'échantillon avant irradiation, obtenues à partir des raies caractéristiques du nitrate d'Argent ($\nu_1 = 1045 \text{ cm}^{-1}$, élongation symétrique des liaisons N-O de l'ion NO_3^-) et de l'oxyde de titane ($\nu = 142 \text{ cm}^{-1}$). Puis l'échantillon étant soumis à l'irradiation, nous observons à différents temps l'évolution de la réaction dans l'image de l'oxyde de titane. Les photographies montrent l'attaque de l'oxyde par migration des ions Ag^+ . Aucune raie Raman nouvelle n'a pu être détectée. La région qui s'obscurcit correspond vraisemblablement à la formation d'argent métallique qui migre sur l'oxyde de titane.

4) Dégradation thermique du P.V.C. (en collaboration avec C. BASSEZ)

Il est connu que lorsque l'on chauffe du polychlorure de vinyle, il y a élimination d'acide chlorhydrique et formation dans les chaînes polymériques de séquences de doubles liaisons conjuguées (16). La bande d'absorption du produit glisse alors vers le domaine visible et il est

possible de bénéficier de l'effet Raman de prérésonance en utilisant par exemple comme source excitatrice visible, un laser à Argon ionisé pour mettre en évidence de faibles pourcentages de séquences de doubles liaisons conjuguées dans les chaînes polymériques (17). En fin de réaction, le pourcentage en poids d'HCl libéré n'excède pas 10^{-2} .

Quelques grains de polychlorure de vinyle sont disposés sur une lame de verre. Pour éliminer en grande partie la fluorescence de l'échantillon, il a été préalablement chauffé pendant quelques minutes vers 50°C . Nous avons pris l'image de ces grains dans la raie 1430 cm^{-1} correspondant au mode de déformation des groupements CH_2 (Fig. 22, photographie de gauche). Puis la lame porte objet étant soumise à un gradient de température, nous avons pris une photographie des grains à partir de la raie 1500 cm^{-1} correspondant au mode d'élongation des doubles liaisons carbone-carbone. On constate que deux grains ont effectivement subi une deshydrohalogénéation alors que pour le dernier, elle n'a été que partielle. Une étude de la dégradation du P.V.C. est actuellement en cours (18).

5) Observation d'un échantillon biologique :

Il nous a été possible de mettre en évidence la répartition du β carotène au niveau des cellules dans une coupe de racine de carotte potagère.

Nous avons choisi ce végétal car sa teneur en carotène est très élevée (19) : $8,25\text{ mg}/100\text{ g}$. de composé . Le carotène γ est présent principalement sous les deux formes isomères :

β carotène : 11 liaisons conjuguées ; teneur : $7,6\text{ mg}/100\text{ g}$
 α carotène : 10 liaisons conjuguées ; teneur : $0,65\text{ mg}/100\text{ g}$

DEGRADATION THERMIQUE DU PVC
grains de poudre

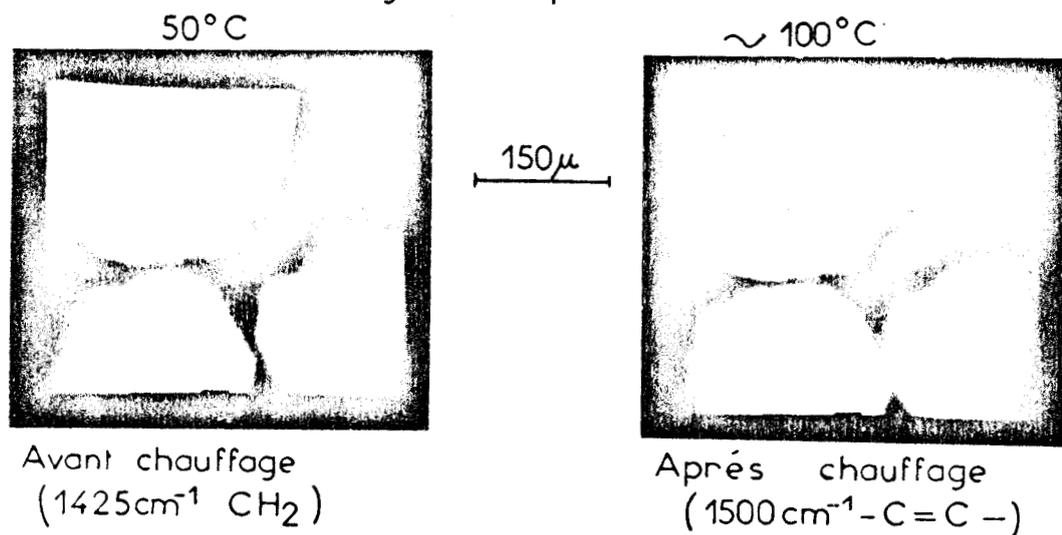


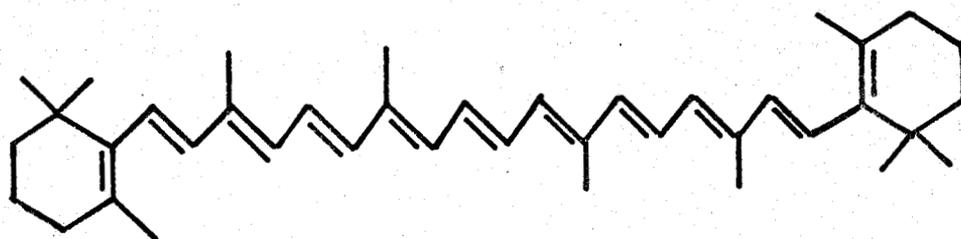
Fig: 22



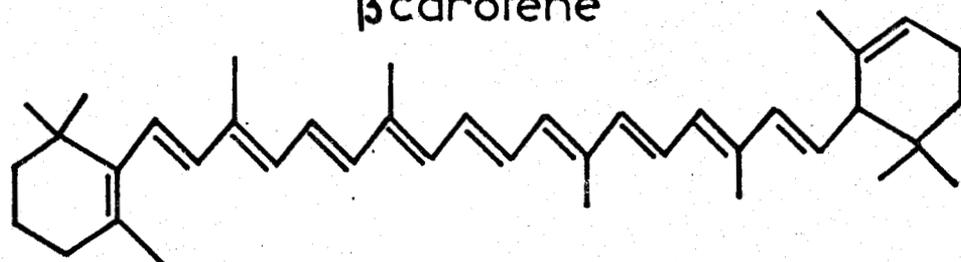
200μ

Image obtenue à partir de la raie
Raman 1527cm^{-1} correspondant aux
vibrations éthyléniques du carotène.

Fig: 23



β carotène



α carotène

Les substituants sont des groupements méthyl

Ce grand nombre de doubles liaisons conjuguées fait que le spectre d'absorption se situe dans le domaine visible. Les études du spectre Raman du β carotène (20, 21) montrent que l'on bénéficie encore d'un effet Raman de résonance lorsque l'on utilise la raie excitatrice $\lambda = 5145 \text{ \AA}$.

L'échantillon, une fine coupe pratiquée dans la racine, est observé directement à l'air libre, sans aucun traitement préalable. Le spectre de l'échantillon présente deux raies intenses 1158 cm^{-1} et 1527 cm^{-1} correspondant respectivement aux vibrations des liaisons C-C et C=C. Nous avons observé l'échantillon à partir de la raie Raman 1527 cm^{-1} qui est la plus intense. La photographie obtenue est présentée figure 23.

Nous constatons que :

- les zones sombres correspondent aux vacuoles
- les liserets brillants correspondent aux zones cytoplasmiques où se situent les chromoplastes qui recèlent le carotène

Les membranes cellulaires sont de dimension trop petite pour apparaître sur l'image. La photographie montre que la vacuole ne contient pas de carotène. l'image Raman confirme donc bien la répartition connue depuis longtemps de ce pigment à l'intérieur de la cellule.

Les pigments caroténoïdes étant très répandus en milieu végétal, nous envisageons d'autres observations de ce type. Nous avons également cherché à localiser des pigments chlorophylliens sur des coupes de quelques plantes. Mais le spectre Raman de la chlorophylle, bien que très visible, est toujours accompagné d'une intense fluorescence ce qui ne nous a pas permis d'obtenir d'image significative à partir d'une raie Raman.

Néanmoins, nous avons obtenu des résultats intéressants avec le β carotène malgré les conditions sommaires d'observation de l'échantillon (coupe relativement épaisse, aucun traitement). D'autre part, l'utilisation de molécules colorées ayant fonction de marqueur, pourrait également être envisagée. En effet, même en très faible concentration, ces molécules peuvent être détectées par effet Raman de résonance. Dans les conditions habituelles d'observation d'échantillons biologiques, la microscopie par effet Raman pourrait donc être une méthode intéressante de localisation et d'identification sans destruction, de molécules d'intérêt biologique.

6) Analyse d'un échantillon géologique - Etude d'une inclusion fluide dans un cristal de quartz :

La plupart des minéraux qui constituent les roches terrestres contiennent de petites cavités dont le contenu est très variable tant en phases (liquide, vapeur, solide) qu'en composition chimique. L'intérêt pour ces inclusions fluides, témoins de la genèse des minéraux, s'est vivement accru ces dernières années au cours desquelles les différentes techniques de microanalyse se sont beaucoup améliorées (22).

L'obstacle majeur à leur étude est la faible taille de ces inclusions dont la dimension, parfois de l'ordre de quelques dizaines de microns, atteint le plus souvent quelques microns. Les techniques d'analyse chimique de la composition des inclusions sont la microthermie, la chromatographie et la spectrométrie. Il est cependant difficile d'obtenir une analyse complète sans avoir à endommager ou détruire l'échantillon. La spec-

rométrie Raman s'est déjà révélée comme une technique non destructive et très intéressante d'analyse de tels échantillons (23).

La microsonde Raman a été utilisée pour vérifier les résultats d'analyse par microthermométrie et a permis d'identifier sans ambiguïté la nature d'une des phases incluses dans le fluide.

L'échantillon est un fragment du grand cristal (73 Kg) de quartz trouvé en 1965 près de Brigue (Valais). Il nous a été proposé par B. POTY (C.R.P.G., Nancy).

Le cristal se présente comme une lame à face parallèle de 1,2 mm d'épaisseur et ayant reçu un poli optique. L'examen du cristal au microscope optique fait apparaître de nombreuses inclusions fluides toutes semblables (Fig. 24). Chaque inclusion se compose de : une bulle de vapeur, une solution, un cristal cubique isotrope (NaCl) et un petit cristal birefringent supposé être de l'anhydrite CaSO_4 . Les études microthermométriques antérieures (24) ont de plus conclu que la bulle est du gaz carbonique, que la solution est saline.

1) Eclairage ponctuel de l'échantillon

Afin d'effectuer l'analyse spectrométrique de chacune des phases de l'échantillon, nous utilisons l'éclairage ponctuel. La focalisation du faisceau laser et l'extraction de la lumière diffusée sont assurées par un objectif de grandissement 40, utilisé en fond clair par réflexion. Le faisceau est successivement focalisé dans la bulle de gaz, dans la solution saline et dans l'inclusion de nature indéterminée. La puissance du faisceau est de l'ordre de 30 mW au niveau de l'échantillon.

a) Bulle de gaz

L'enregistrement du spectre montre la présence des raies 1286 cm^{-1} et 1388 cm^{-1} caractéristiques du CO_2 (Fig. 25), ce qui confirme les résultats antérieurs (formation de l'hydrate $\text{CO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à basse température).



400 μ

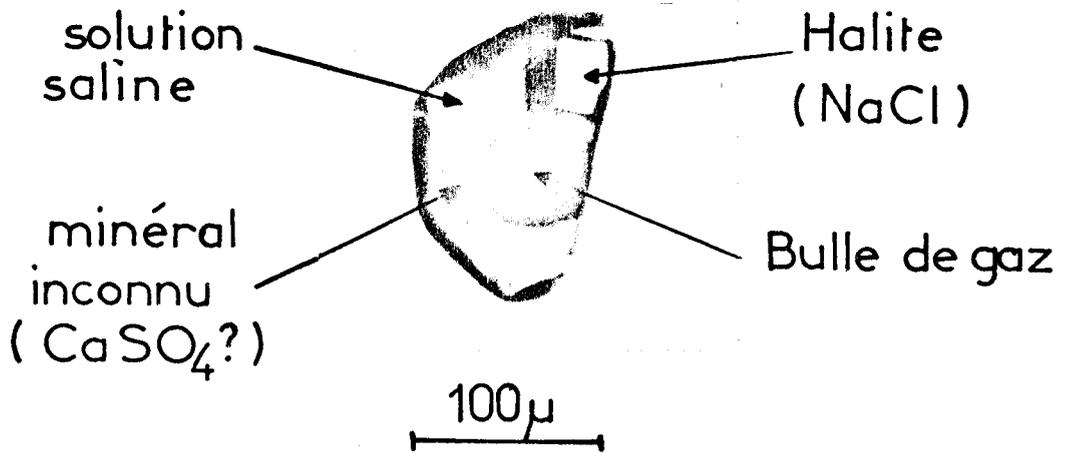


Fig: 24

BULLE DE GAZ

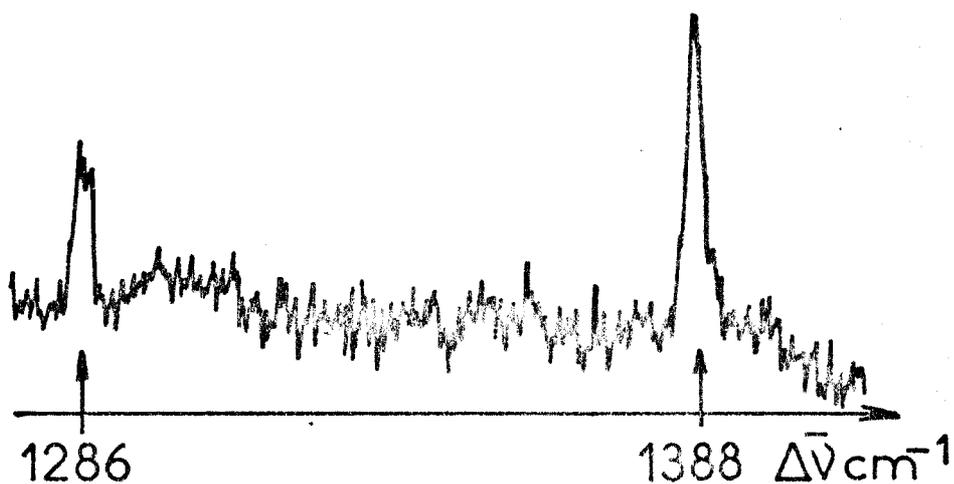


Fig: 25

SOLUTION SALINE

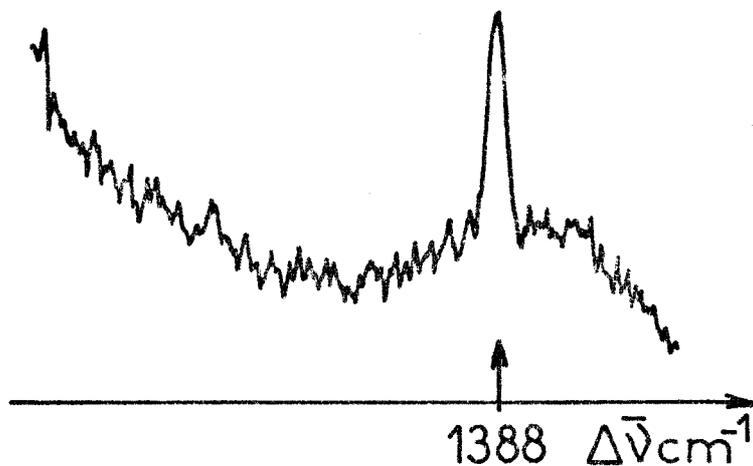


Fig: 26

INCLUSION SOLIDE (Calcite)

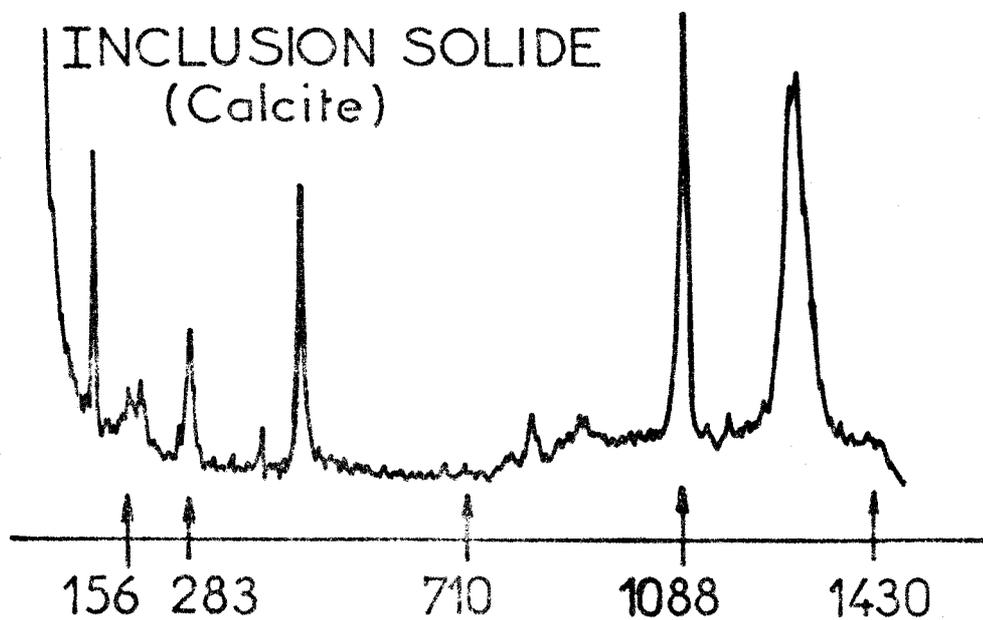


Fig: 27



b) *Solution saline*

Les bandes de l'eau à 1640, 3200 et 3400 cm^{-1} sont détectées, de plus, la raie 1388 cm^{-1} indique la présence de CO_2 dissous (Fig. 26).

c) *Inclusion solide*

Le spectre obtenu permet d'identifier sans ambiguïté la calcite CaCO_3 alors que les études antérieures suggéraient l'anhydrite CaSO_4 . Les raies de la matrice de quartz sont également visibles (Fig. 27). En effet, le faisceau laser focalisé sur l'inclusion doit nécessairement traverser une certaine épaisseur de quartz avant d'atteindre l'inclusion.

2) Eclairage mixte

Le faisceau laser éclairant toujours de façon ponctuelle l'échantillon, nous pratiquons un éclairage supplémentaire en lumière blanche de toute l'inclusion (Fig. 28). Si le spot est focalisé par exemple dans l'inclusion de calcite, et le filtre calé sur une de ses raies caractéristiques, sur l'écran du moniteur T.V., on voit alors en surimpression dans l'image classique l'image Raman du spot. Si l'on déplace alors légèrement l'échantillon, le spot lumineux s'éteint dès que la focalisation s'effectue hors de cette inclusion. Par ce procédé de visualisation en Raman du point de focalisation dans l'échantillon, on s'assure que le spectre Raman précédemment obtenu provient bien de l'inclusion éclairée et non d'une zone située à sa proximité. De plus, ce procédé permet une recherche rapide des meilleures conditions d'enregistrement.

3) Eclairage global

Pour préciser la distribution de la calcite dans le fluide, nous éclairons globalement l'inclusion par le faisceau laser. En isolant la raie à 1088 cm^{-1} (Fig. 29), seule apparaît l'inclusion de calcite (Fig. 30). On vérifie ensuite que chacune des raies caractéristiques de la calcite peut être utilisée pour donner la même image.

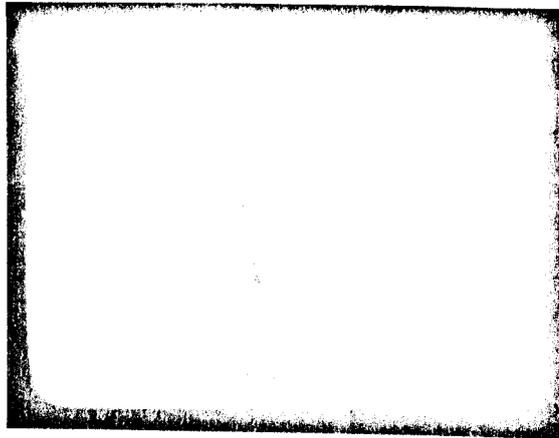


Fig:28 Inclusion lumière blanche

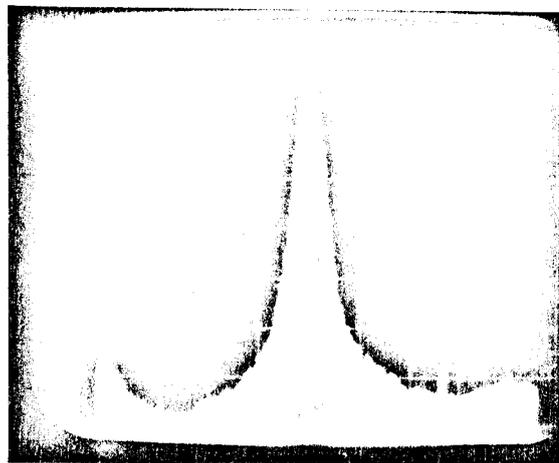


Fig:29 Raie calcite $\nu_1 = 1088\text{cm}^{-1}$

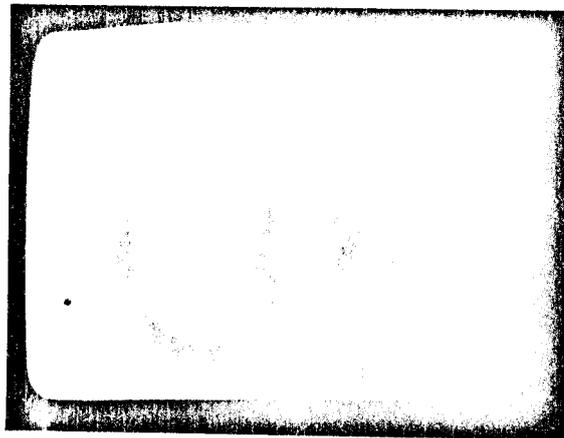


Fig:30 Calcite 1088cm^{-1}



CONCLUSION

Cette étude a montré qu'en associant un microscope optique classique, un double monochromateur et une détection multicanale ou monocanale, il est possible de résoudre de façon satisfaisante les principaux problèmes que pose l'analyse d'un échantillon hétérogène microscopique.

En effet, cette association permet, par de simples opérations de commutation, d'analyser ponctuellement ou globalement la surface d'un échantillon pour déterminer la nature chimique et la répartition de chacun de ses constituants.

A l'aide d'un éclairage global de l'échantillon et d'un tube intensificateur d'images, il est possible d'obtenir le spectre et la répartition de chacune des espèces, sous forme d'images sélectives.

L'utilisation d'un éclairage ponctuel et d'un photomultiplicateur permet d'identifier, par son spectre, la nature d'un échantillon dont la dimension peut atteindre un micron.

Nous avons montré que l'utilisation de réseaux holographiques concaves a résolu de façon très efficace le problème du filtrage optique. Le taux de rejection de la lumière parasite est suffisant pour qu'il soit possible d'étudier des échantillons dans le domaine des basses fréquences.

Les systèmes optiques utilisés pour les transferts de l'image microscopique réalisent dans de bonnes conditions le couplage du microscope et du filtre. Ce couplage ne dégrade pas de façon sensible les qualités du microscope optique ; en particulier la résolution spatiale qui est de l'ordre du micron.

Les tests que nous avons effectués ont montré que la microscopie Raman est une technique non destructive d'identification et de localisation des constituants d'échantillons tels que : roches, plastiques, matériaux composites, molécules d'intérêt biologique, etc....

Dans les prochaines années, la microscopie par effet Raman devrait s'affirmer en tant que technique complémentaire des autres méthodes de micro-analyse.

-00000-

ANNEXE
~~~~~

CARACTERISTIQUES DE QUELQUES RÉSEAUX  
HOLOGRAPHIQUES CONCAVES

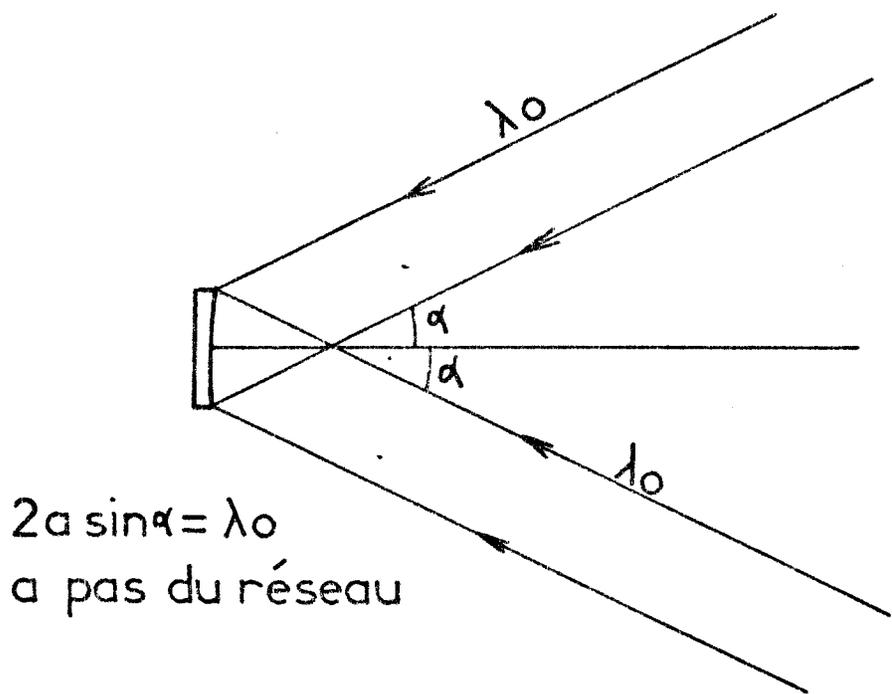
I. - CLASSIFICATION DES RESEAUX HOLOGRAPHIQUES CONCAVES (25)

La méthode de production des réseaux holographiques a été mise au point dans les laboratoires de la Société JOBIN-YVON à partir des travaux effectués par LABEYRIE et FLAMAND.

Deux points sources issus de faisceaux Laser enregistrent un système d'interférence sur une couche photosensible. Après un traitement chimique et une métallisation sous vide de cette surface, on obtient un réseau par réflexion.

Suivant la position des points d'enregistrement, on distingue les réseaux de :

- Type I : Les points sources sont à l'infini ; deux faisceaux parallèles et symétriques par rapport à la normale au réseau donnent le système d'interférences (Fig. 1). Le réseau obtenu est équivalent aux réseaux gravés classiques.



$2a \sin \alpha = \lambda_0$   
 $a$  pas du réseau

Fig:1

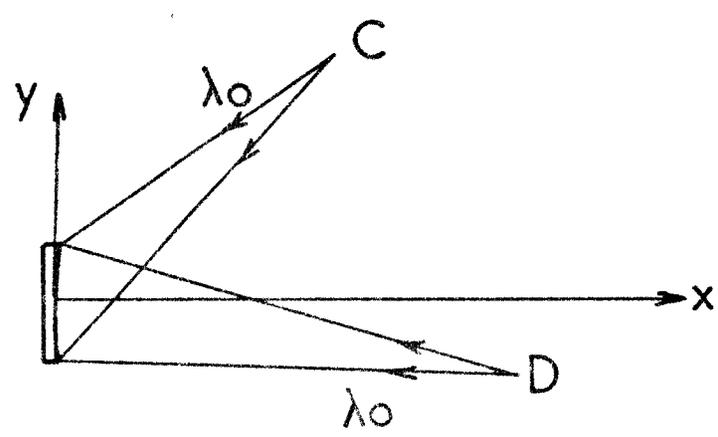


Fig: 2



- Type II : Les positions des points sources (C et D) sont calculées de façon à corriger certaines aberrations (Fig. 2) ; en particulier, on réduit l'astigmatisme d'un réseau travaillant sur le cercle de Rowland.
- Type III : Un des points sources est en général situé au centre de courbure. La théorie montre alors que le réseau est rigoureusement stigmatique pour trois longueurs d'onde .
- Type IV : Les positions des points d'enregistrement sont calculées de façon à corriger certaines aberrations, selon le type de montage et le domaine spectral intéressant l'utilisateur.

## II. - ELEMENTS DE THEORIE DES RESEAUX HOLOGRAPHIQUES CONCAVES (26)

Soient C et D les points sources cohérents qui déterminent le système d'interférence. Les sillons du réseau résultent de l'intersection des surfaces équiphasées du volume d'interférence avec la surface sphérique photosensible ; ils ne sont en général ni droits ni équidistants. Soit M un point situé sur le  $n^{\text{ième}}$  trait en prenant pour origine  $n = 0$  le trait passant par I, centre du réseau (Fig. 3).

La position du trait  $n$  est alors fonction de la variation de différence de marche :

$$n \lambda_0 = (MC-MD) - (IC-ID) \quad (1)$$

avec  $\lambda_0$ , longueur d'onde d'enregistrement.

Le réseau étant réalisé, soit A un point source polychromatique et B son image à la longueur d'onde  $\lambda$  dans l'ordre  $k$ . Prenons la longueur  $IA + IB$  pour chemin optique de référence, correspondant à la diffraction sur le trait  $n = 0$ .

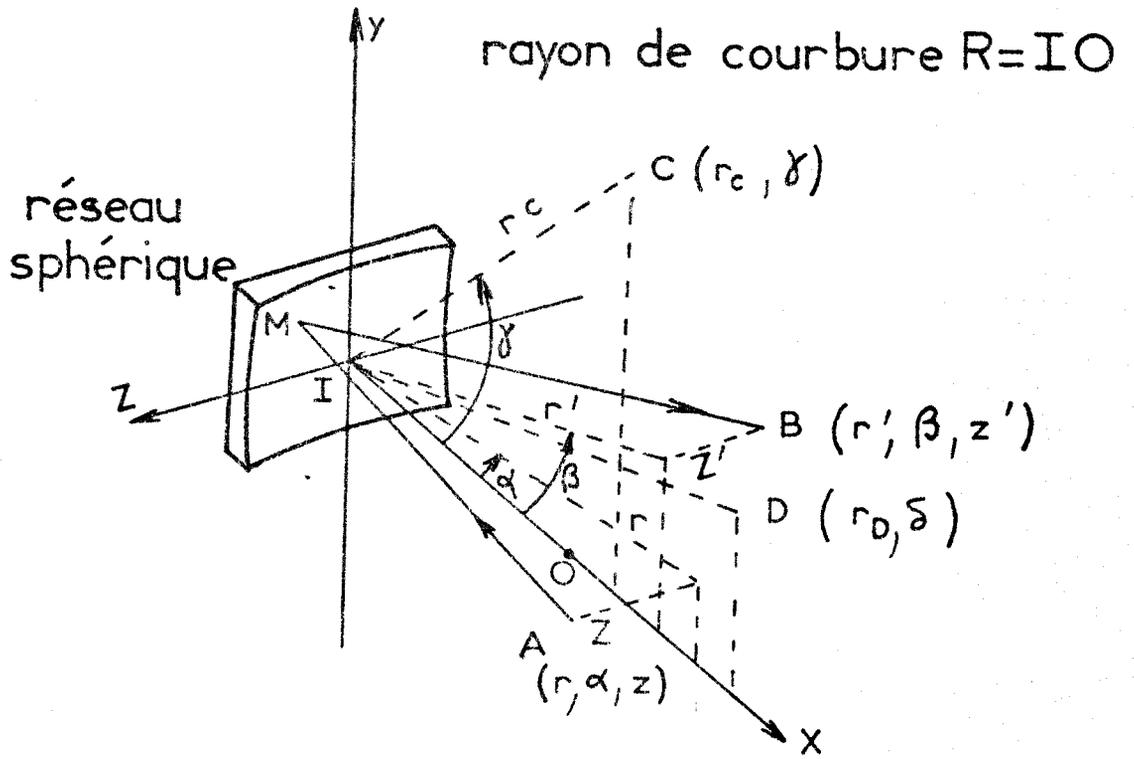
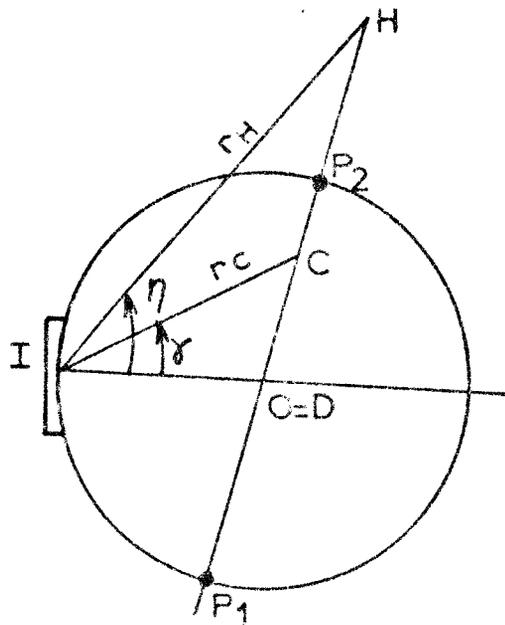


Fig: 3



$$OC = \frac{R}{m}$$

$$OH = mR$$

$$\sin \eta = m \sin \delta$$

$$r_H = m r_C$$

Fig: 4



D'après le principe de Fermat appliqué au système diffractant, B est une image parfaite de A si le chemin  $AM + MB$  est constant le long du trait  $n$  et varie de  $nk\lambda$  entre les  $n$  traits séparant les points I et M ;  $n$  étant donné par l'équation (1).

En général, il n'y a pas stigmatisme :

$$AM + MB \neq AI + IB + nk\lambda$$

On appelle alors  $\Delta (M)$  la fonction d'écart au stigmatisme :

$$\Delta (M) = AM + MB - (AI + IB + nk\lambda)$$

$\Delta (M)$ , fonction des coordonnées  $(x, y, z)$  du point M considéré, décrit alors les caractéristiques (positions et distorsions) de l'image B obtenue.

Pour faire apparaître ces caractéristiques, on fait un développement en série des expressions analytiques des chemins optiques composant la fonction  $\Delta$  et on élimine la coordonnée  $x$  à l'aide de  $(x-R)^2 + y^2 + z^2 = R^2$  on obtient :

$$\Delta = Fy + \frac{1}{2} Dy^2 + \frac{1}{2} Az^2 + \frac{1}{2} C_1 y^3 + \frac{1}{2} C_2 yz^2 + \dots$$

Chacune des fonctions  $F, D, A, C_1, C_2$  est alors caractéristique de l'image :

- Les fonctions  $F$  et  $D$  déterminent la position du spectre

$F = 0$  conduit à l'équation classique du réseau soit :

$$F = \left[ 1 + \left( \frac{z}{R} \right)^2 \right]^{-1/2} \sin \alpha + \left[ 1 + \left( \frac{z'}{R'} \right)^2 \right]^{-1/2} \sin \beta - k \frac{\lambda}{a} = 0$$

$a$  étant le pas du réseau :  $a = \frac{\lambda_0}{\sin \gamma - \sin \delta}$  ( $\gamma > \delta$ )

Les angles étant positifs quand ils sont mesurés du côté  $y > 0$  (Fig. 3)

Si A est dans le plan de symétrie du réseau, on a :  $z = z' = 0$   
d'où :

$$\sin \alpha + \sin \beta = k \frac{\lambda}{a} \quad (2)$$

D = 0 définit la focale tangentielle (lieu du spectre) soit :

$$D = \frac{\cos^2 \alpha}{r} + \frac{\cos^2 \beta}{r'} - \frac{\cos \alpha + \cos \beta}{R} + k \frac{\lambda}{\lambda_0} \left( \frac{\cos^2 \delta}{rd} - \frac{\cos^2 \gamma}{rc} - \frac{\cos \delta - \cos \gamma}{R} \right) = 0 \quad (3)$$

- Les fonctions A, C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> décrivent les défauts des raies spectrales (aberrations du spectre).

L'équation A = 0 définit la focale sagittale et rend compte de l'astigmatisme du réseau, soit :

$$A = \frac{1}{r} + \frac{1}{r'} - \frac{\cos \alpha + \cos \beta}{R} + k \frac{\lambda}{\lambda_0} \left( \frac{1}{rd} - \frac{1}{rc} - \frac{\cos \delta - \cos \gamma}{R} \right) = 0 \quad (4)$$

C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> sont les comas de première et deuxième espèce :

$$C_1 = \frac{\sin \alpha}{r} \left( \frac{\cos^2 \alpha}{r} - \frac{\cos \alpha}{R} \right) + \frac{\sin \beta}{r'} \left( \frac{\cos^2 \beta}{r'} - \frac{\cos \beta}{R} \right) + \frac{k\lambda}{\lambda_0} \frac{\sin \delta}{rd} \left( \frac{\cos^2 \delta}{rd} - \frac{\cos \delta}{R} \right) - \frac{\sin \gamma}{rc} \left( \frac{\cos^2 \gamma}{rc} - \frac{\cos \gamma}{R} \right) \quad (5)$$

$$C_2 = \frac{\sin \alpha}{r} \left( \frac{1}{r} - \frac{\cos \alpha}{R} \right) + \frac{\sin \beta}{r'} \left( \frac{1}{r'} - \frac{\cos \beta}{R} \right) + \frac{k\lambda}{\lambda_0} \frac{\sin \delta}{rd} \left( \frac{1}{rd} - \frac{\cos \delta}{R} \right) + \frac{\sin \gamma}{rc} \left( \frac{1}{rc} - \frac{\cos \gamma}{R} \right) \quad (6)$$

### Les réseaux de type III :

Ce type de réseau est enregistré avec l'un des points au centre de courbure : D ( $\delta = 0$ ,  $rd = R$ ). Le pas du réseau est alors :  $a = \lambda_0 / \sin \delta$

On montre que la relation de stigmatisme est vérifiée pour trois points alignés D, C et H. C et H étant conjugués harmoniques par rapport aux

points  $P_1$  et  $P_2$  situés sur le cercle de rayon  $R$  (Fig. 4). On a donc :

$$\frac{MH}{MC} = \text{cste} = \frac{rh}{rc} = m \text{ et } OC.OH = R^2$$

Les points  $O = D$ ,  $C$  et  $H$  déterminent le lieu de la focale sagittale ; c'est une droite. Il n'y a stigmatisme en ces points que si la source (fente d'entrée) est placée en l'un d'eux. Le lieu du spectre est alors une courbe en forme de S (équation 3). La figure 5 montre les courbes des focales de ce type de réseau.

L'utilisation conjointe des relations de conjugaison harmonique et de l'équation d'une des fonctions  $D$ ,  $A$ ,  $C_1$ ,  $C_2$ .... permet de déterminer les longueurs d'onde de stigmatisme. Ces longueurs d'onde sont reportées dans le tableau I.

Il est également possible d'enregistrer le réseau avec un point source placé au centre de courbure ( $D$ ), l'autre point étant en  $H$ . L'utilisation de ces mêmes équations conduit au tableau II. On remarque que l'on peut avoir un point de stigmatisme en autocollimation au point  $C$  ( $\alpha = \beta$ ) pour une longueur d'onde variable  $\lambda = \frac{2 \lambda_0}{km}$  ce qui permettrait d'utiliser un tel réseau pour un montage de spectromètre en configuration Littrow.

### III. - ETUDE D'UN RESEAU DE TYPE III

Au laboratoire, certains réseaux de type III, prévus normalement pour fonctionner en spectrographe, ont été utilisés en montage Littrow. A partir des équations des R.H.C., nous avons fait une étude comparative des variations des caractéristiques d'un réseau suivant :

- 1°) le montage en spectrographe :  $\alpha = 0$
- 2°) le montage en spectromètre :  $\alpha = \beta$  (Littrow)

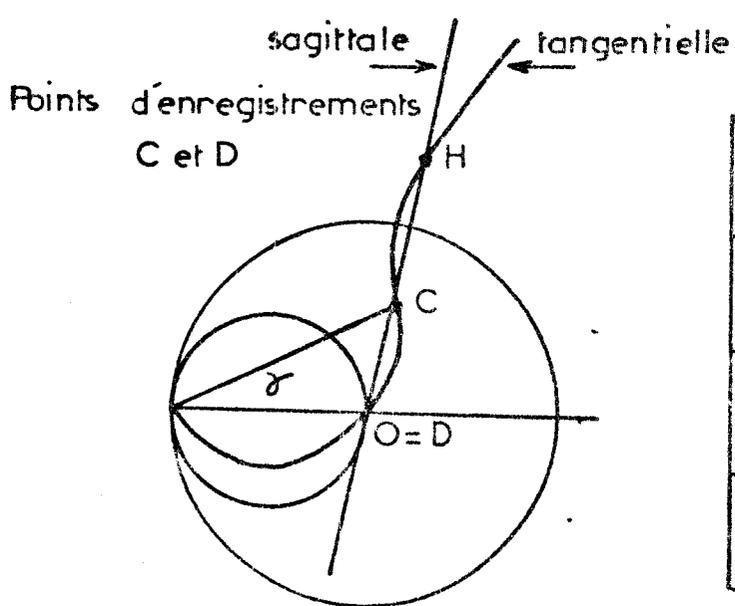


Fig: 5

| Pt source \ Pt image | O=D                    | D C                        | H                          |
|----------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| O=D                  | $\lambda = 0$          | $\frac{\lambda}{k}$        | $\frac{m\lambda}{k}$       |
| C                    | $\frac{\lambda_0}{k}$  | $\frac{2\lambda_0}{k}$     | $\frac{(m+1)\lambda_0}{k}$ |
| H                    | $\frac{m\lambda_0}{k}$ | $\frac{(m+1)\lambda_0}{k}$ | $\frac{2m\lambda_0}{k}$    |

Tableau: I

| Pt source \ Pt image | O=D                    | C                            | H                            |
|----------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|
| O=D                  | $\lambda = 0$          | $\frac{\lambda_0}{km}$       | $\frac{\lambda_0}{k}$        |
| C                    | $\frac{\lambda_0}{km}$ | $\frac{2\lambda_0}{km}$      | $\frac{(m+1)\lambda_0}{m k}$ |
| H                    | $\frac{\lambda_0}{k}$  | $\frac{(m+1)\lambda_0}{m k}$ | $\frac{2\lambda_0}{k}$       |

Points d'enregistrement en D et H

Tableau: II

La figure 6 donne les courbes des focales du réseau utilisé en spectrographe (fente d'entrée au centre de courbure, angle d'incidence nul).

La figure 7 donne les nouvelles focales correspondant au montage spectromètre où  $\alpha = \beta$  et  $r = R$ . On constate que :

- la focale sagittale n'est plus une droite mais une hyperbole
- la distance réseau fente de sortie varie beaucoup avec  $\lambda$

Les équations de base du réseau permettent d'étudier les variations des caractéristiques du spectromètre pour différentes distances, fente d'entrée - réseau ( $r$ )

Soit  $r_T$  = distance réseau - fente de sortie

$r_s$  = distance réseau - focale sagittale

La défocalisation ( $r_T$ ) est étudiée sur la figure 8 pour différentes valeurs de  $r$  en fonction de  $\lambda$ .

L'astigmatisme, mesuré par la hauteur de focale  $h_T$  est représenté sur la figure 9, par définition :

$$h_T = \frac{r_T - r_s}{r_s} \times Z \quad (Z = \text{dimension du réseau prise pour valeur unité})$$

Les comas de première et seconde espèce qui limitent la résolution du spectre sont représentées sur les figures 10 et 11. Les valeurs de  $C_1$  et  $C_2$  correspondants au montage spectrographe sont également représentées.

Il est visible d'après les courbes que la correction d'une aberration en accroît une autre, un compromis est donc nécessaire. On demande en général :

1°) une défocalisation réduite

2°)  $C_1$  faible

90HC 51

$\lambda_0 = 4880 \text{ \AA}$   $r = R = 500 \text{ mm}$   $\alpha = 0$   
1200 traits/mm  $\sin \beta = n k \lambda$

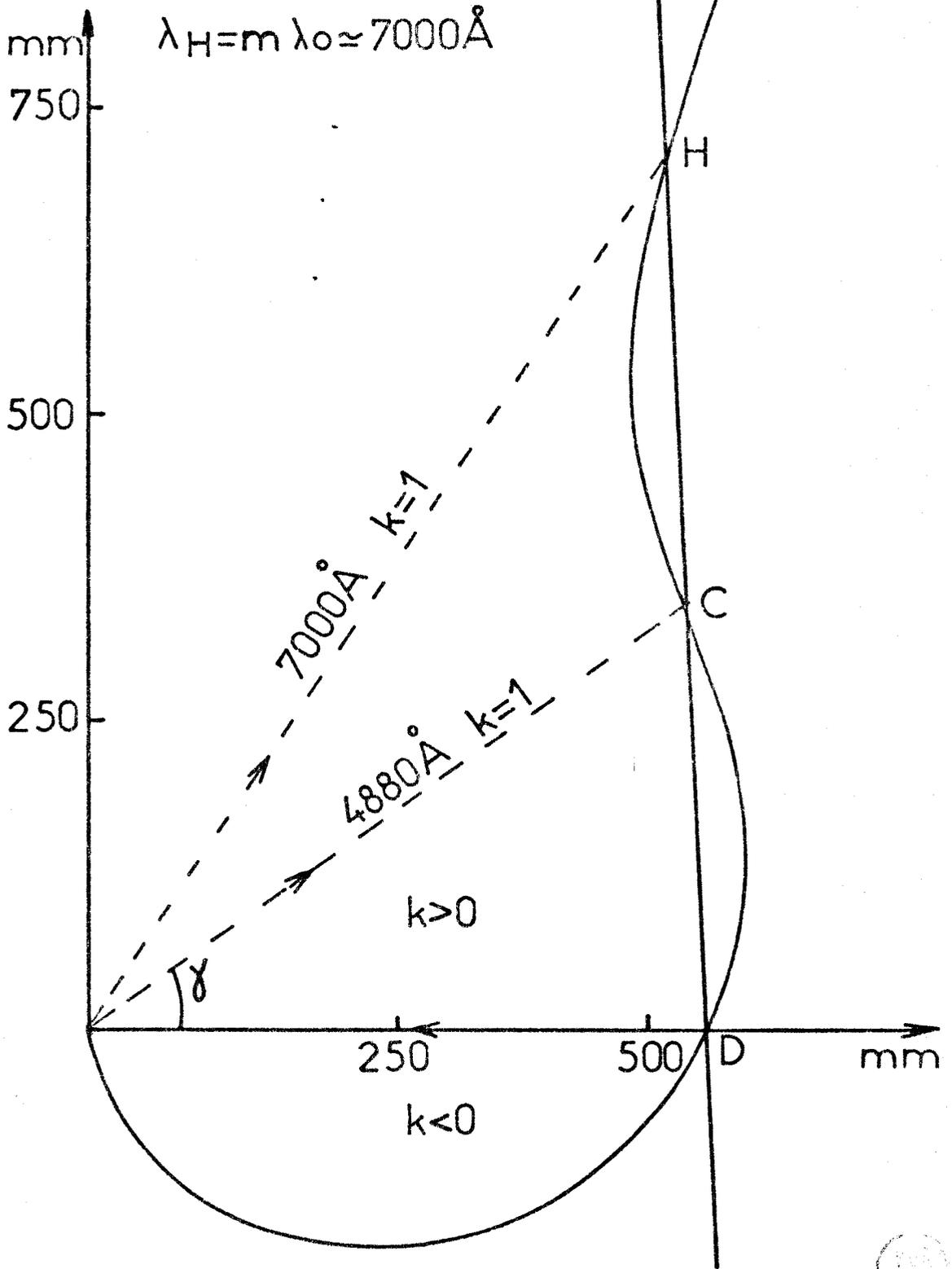


Fig:6

90 H C 51  
autocollimation  $r=500$   
 $2 \sin \beta = n k \lambda$

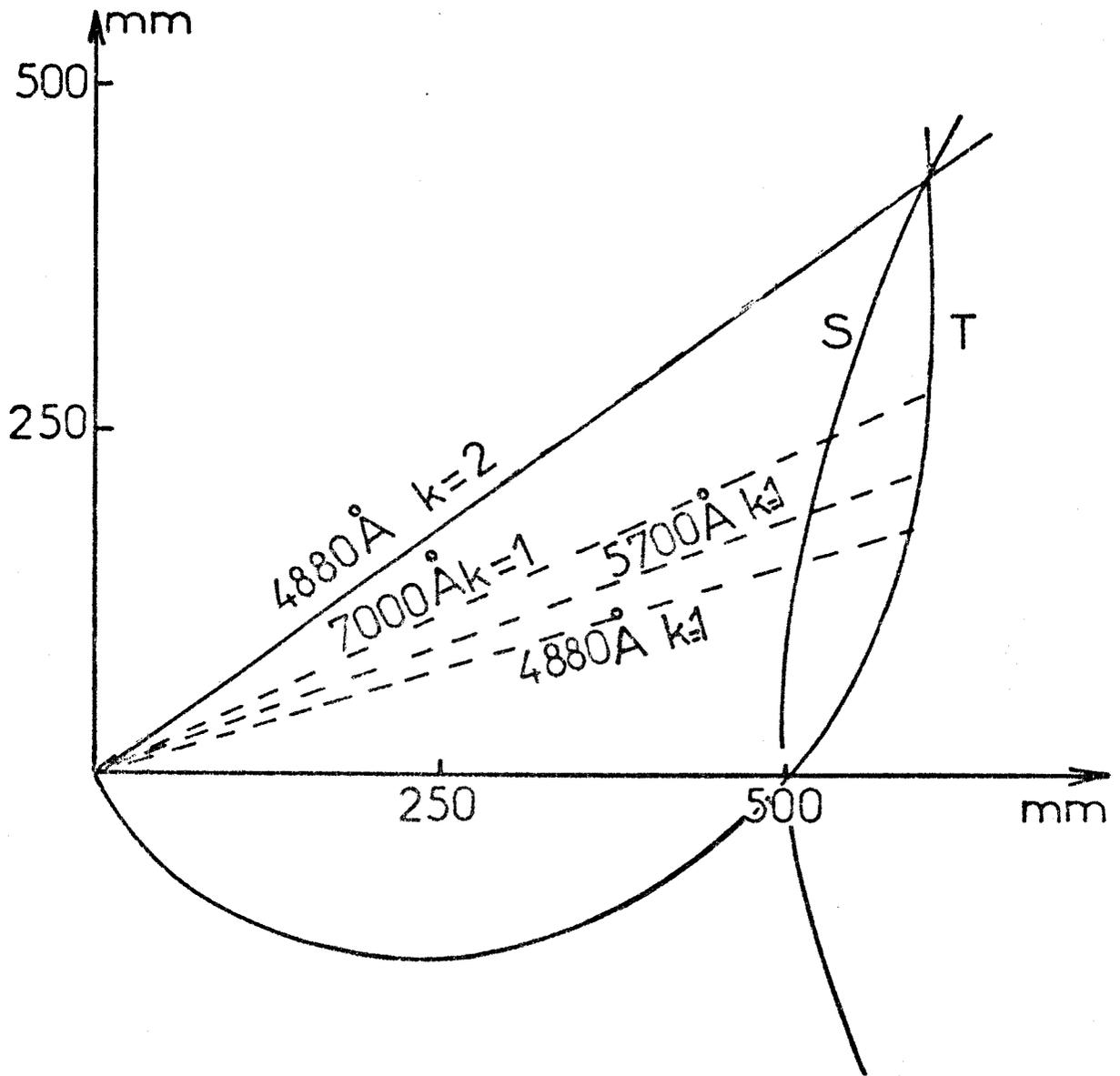


Fig: 7

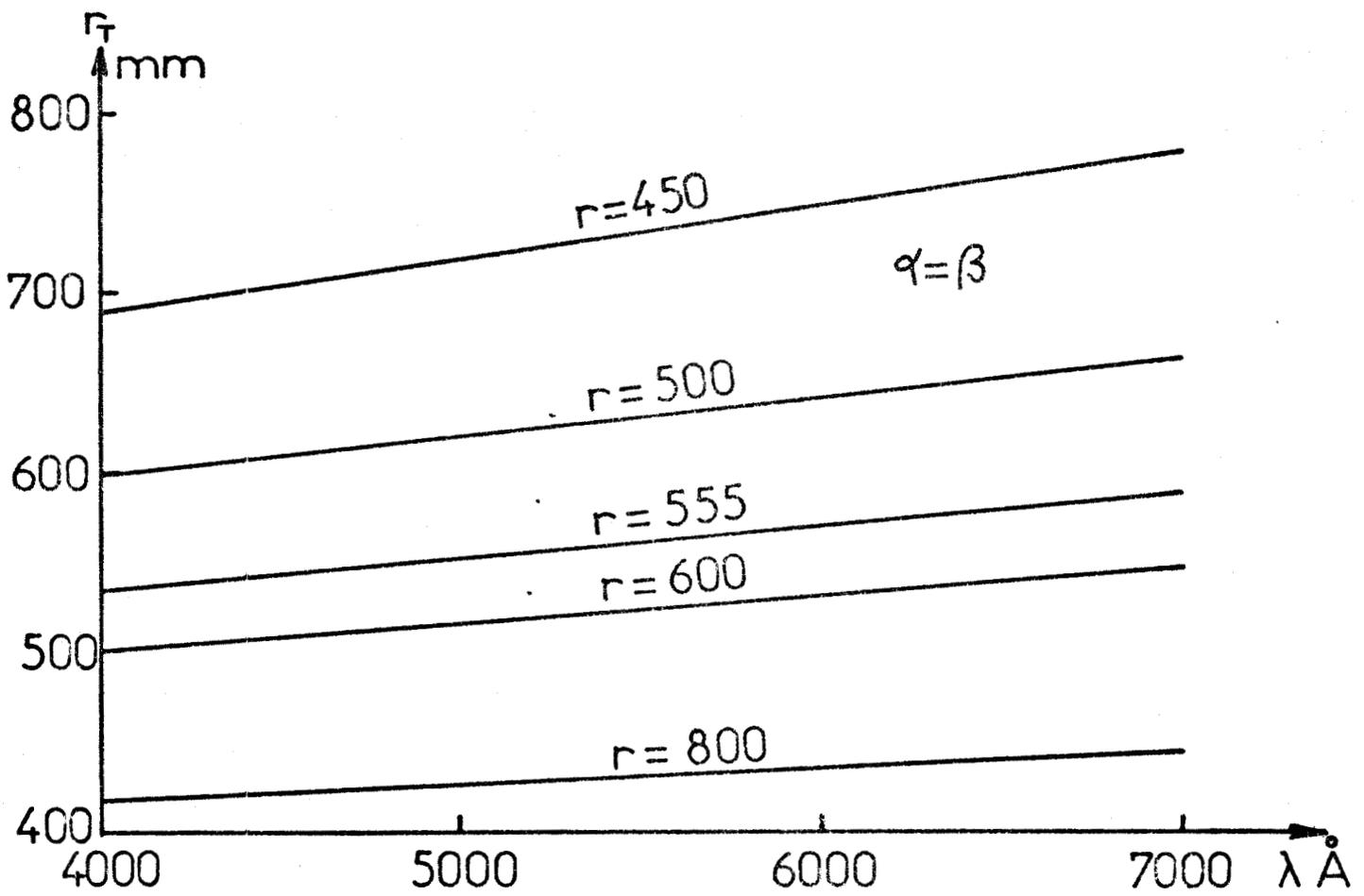


Fig:8 DEFOCALISATION

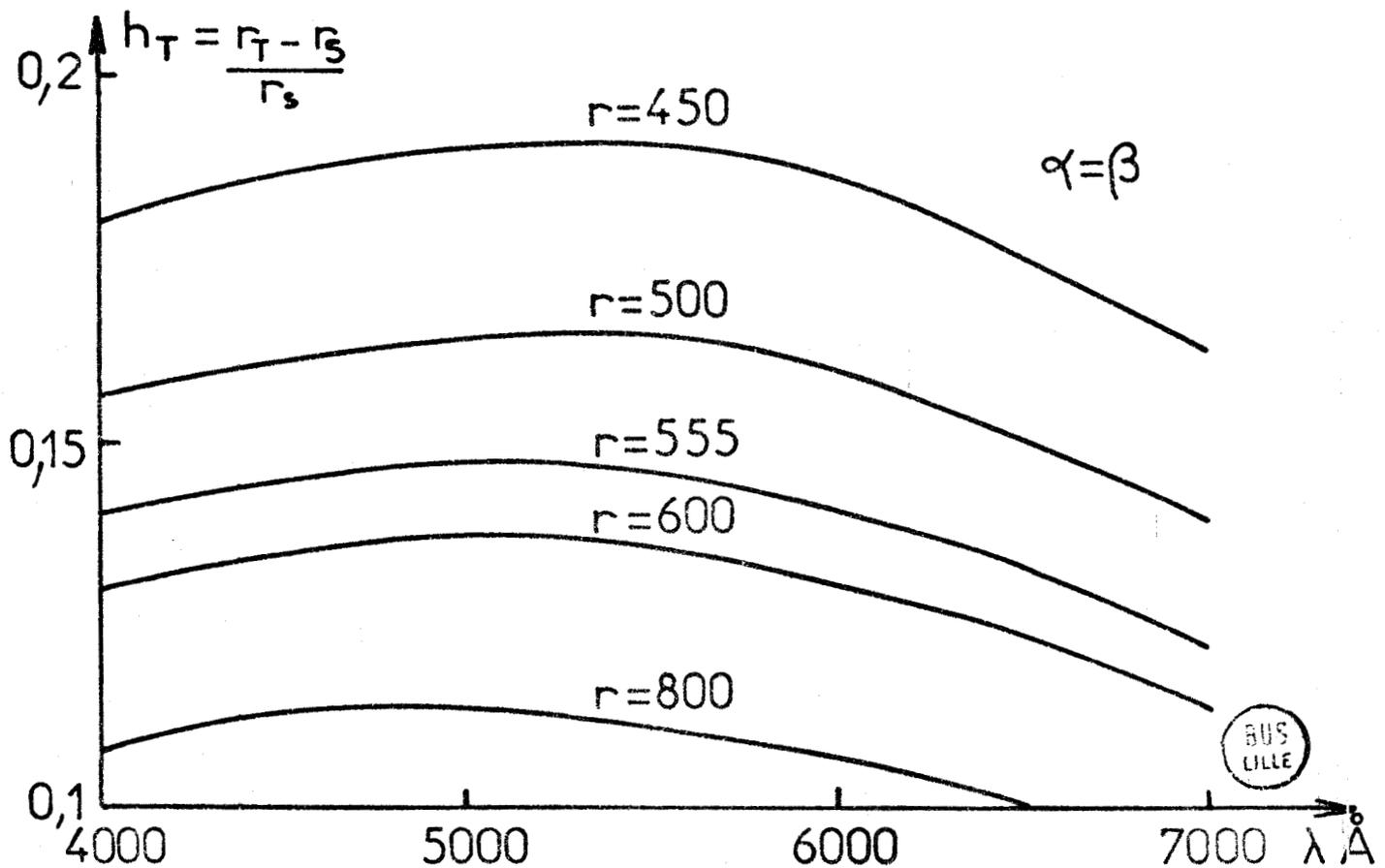


Fig:9 HAUTEUR DE FOCAL D'ASTIGMATISME

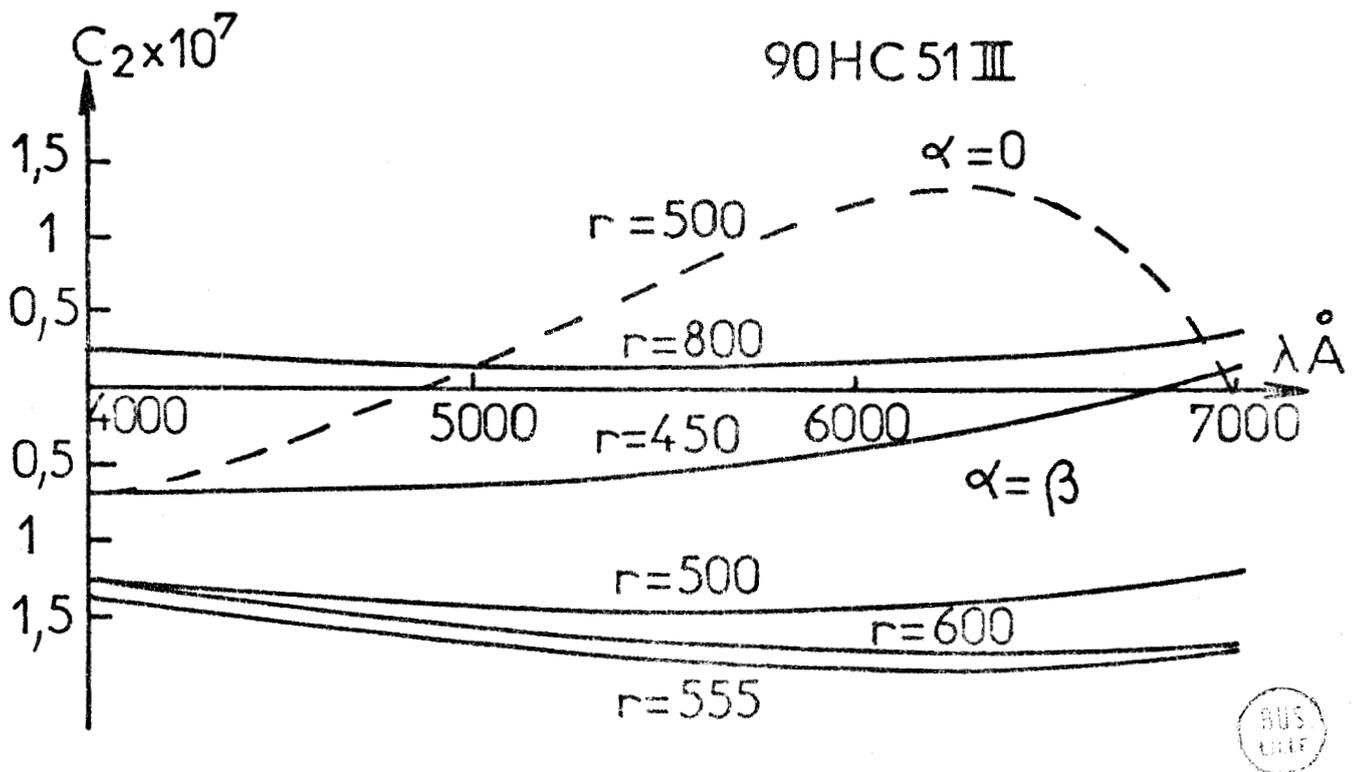
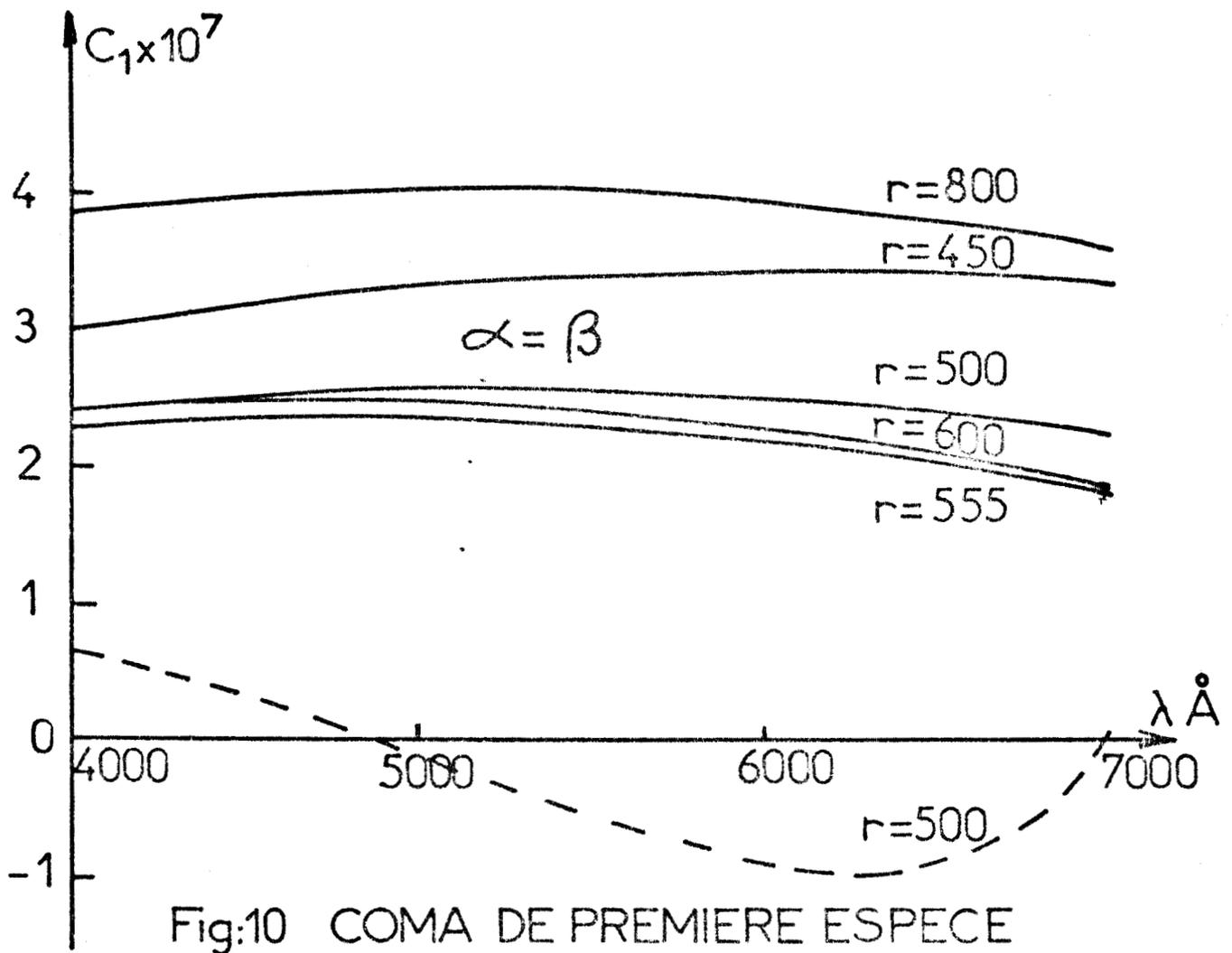


Fig:11 COMA DE SECONDE ESPECE

Le choix de  $C_1$  faible impose  $r \approx 555$  mm (le réseau travaille avec des bras sensiblement égaux autour de  $\lambda = 5200 \text{ \AA}$ ). Cependant, quelque soit  $r$  choisi, les courbes de défocalisation montrent que ce réseau utilisé en spectromètre ne peut travailler que sur un petit domaine de longueur d'onde.

Remarques :

- Les courbes précédentes sont utilisables en première approximation pour le montage spectrographe tel que  $\beta \approx \alpha = \text{cste}$ .
- Le montage en autocollimation est obligatoirement un montage "hors plan". Les fentes d'entrée et de sortie sont en général situées symétriquement de part et d'autre du plan de symétrie ; les rayons incidents et diffractés faisant un angle  $\theta \approx 1$  à  $3^\circ$  avec le plan de symétrie (Fig. 12).

L'équation 1 n'est alors plus rigoureuse ; ce n'est qu'en (bonne) approximation que l'on a  $2 \sin \beta = N k \lambda$ . Si l'on considère que l'on a  $\frac{Z}{r} \approx \frac{Z'}{r}$ , (Fig. 13), on a alors :

$$2 \sin \beta \left[ 1 + \left( \frac{Z}{r} \right)^2 \right]^{-1/2} = N k \lambda$$

Pour  $\lambda$  donné, en parcourant la fente,  $Z$  varie et  $\beta$  ne peut être constant, la raie est inclinée. Un calcul approximatif montre que l'on obtient une inclinaison dont l'angle est de l'ordre de  $\theta$ . La figure 14 indique le sens de cette inclinaison.

Pour obtenir un spectromètre performant utilisant des R.H.C., il faut alors des réseaux dont on a corrigé les aberrations pour une configuration d'utilisation bien particulière (type IV).

#### IV. - LES RESEAUX DE TYPE IV DE LA MICROSONDE RAMAN

Le filtre optique de la microsonde Raman est constitué de deux réseaux travaillant en montage additif de Littrow. Ce sont deux réseaux pra-

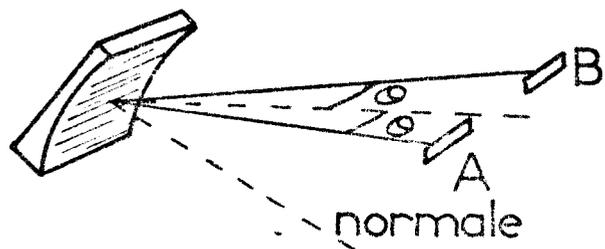


Fig:12

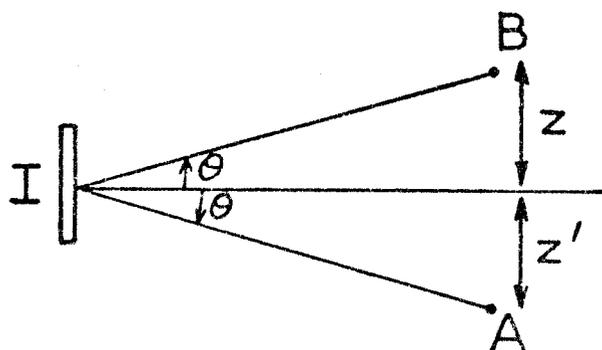


Fig:13

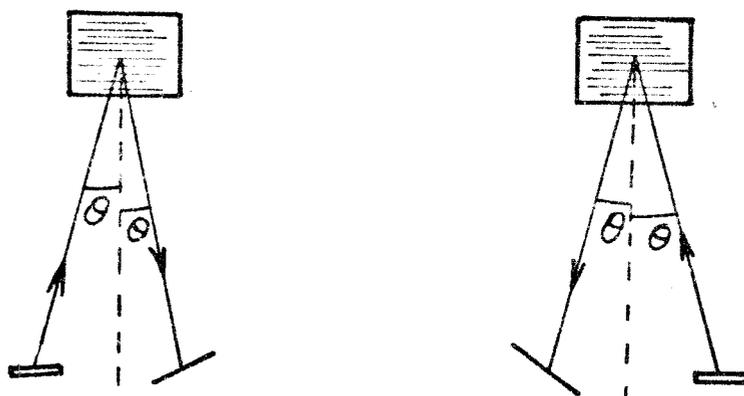


Fig:14

tiquement identiques (2000 traits/mm, un mètre de focale, et ouverts à  $f/10$ ). Les positions des points d'enregistrement ont été calculés de façon à corriger la coma et à rendre la défocalisation négligeable dans le domaine 5000-6000 Å.

Comment enregistrer un réseau ayant ces qualités ? D'abord, pour réduire la défocalisation, il faut que la focale tangentielle soit localement circulaire autour d'une longueur d'onde fixée d'avance, c'est-à-dire que dans l'équation (3), il faut imposer  $\frac{dr'}{d\alpha} = 0$  avec  $r = \text{cste}$ ,  $\alpha = \beta$ .

Le calcul donne alors la relation :

$$\frac{r}{r+r'} = \frac{R}{2} \cos \alpha (1 + \sin^2 \alpha)$$

Raisonnons sur un type III : en plaçant les points d'enregistrement en D et H (Figure 5), on peut avoir stigmatisme en autocollimation pour  $\lambda = \frac{2 \lambda_0}{m}$  les bras étant égaux. Donc, dans la relation précédente, on a  $r = r' = R \cos \alpha (1 + \sin^2 \alpha)$ . Cette relation, appliquée aux réseaux de type IV que nous utilisons est très bien vérifiée : les rayons de courbure des réseaux valent :

$$R_1 = 931,1 \text{ mm et } R_2 = 913,7 \text{ mm}$$

En prenant  $5000 < \lambda < 6000 \text{ Å}$ , et à l'aide de l'équation  $2 \sin \alpha = N \lambda$  ( $N = 2000$  traits/mm), on trouve alors :  $r_1 = 1012 \text{ mm}$  et  $r_2 = 995 \text{ mm}$ .

Ces valeurs sont exactement celles données par le constructeur. D'autre part, la propriété de stigmatisme en montage Littrow du type III précédent, fait comprendre que ces types IV seront enregistrés approximativement de la même façon.

A l'aide d'un ordinateur, la Société JOBIN-YVON détermine les meilleurs paramètres d'enregistrement du réseau par le calcul point par point des images des raies diffractées.

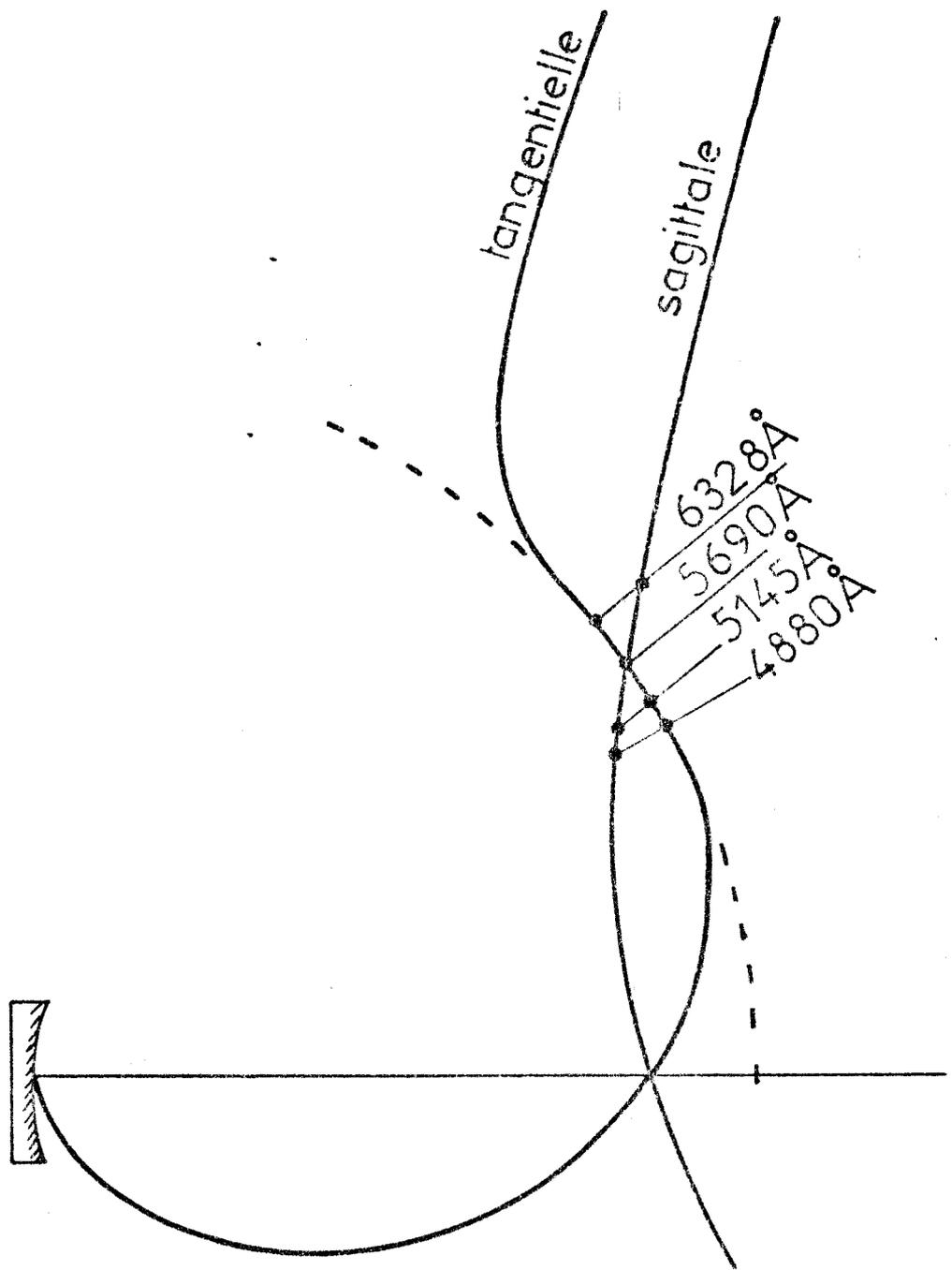
A partir des coordonnées des points d'enregistrement fournis par le constructeur, nous avons tracé les courbes des focales de chaque réseau

(Figures 15 et 16). De façon plus précise, la figure 17 donne les distances focales en fonction de la longueur d'onde dans le domaine utile en spectrométrie Raman. Nous constatons que :

- la défocalisation est très réduite ( $< 1$  mm sur le domaine utilisé) c'est-à-dire que la focale tangentielle est localement circulaire
- l'astigmatisme est important : l'écart entre les focales est d'environ 50 mm pour  $\lambda = 5145 \text{ \AA}$ . C'est aux environs de  $\lambda = 5700 \text{ \AA}$  soit à  $2000 \text{ cm}^{-1}$  de la raie excitatrice  $5145 \text{ \AA}$  que les réseaux sont le moins astigmatés.

Le couplage des deux réseaux en montage additif accroît l'astigmatisme. La figure 18 donne l'écart théorique entre les focales, obtenu à l'aide des équations correspondantes. Le réseau de rayon  $R = 931$  mm étant celui du 1er étage. Sur la même figure est reportée la courbe expérimentale obtenue par mesure directe près de la fente de sortie du 2ème étage. La translation entre ces deux courbes provient probablement du fait que les réseaux ont été enregistrés selon des paramètres très légèrement différents de ceux que nous avons : une variation inférieure au degré sur la coordonnée angulaire d'un point d'enregistrement fait glisser le point de "stigmatisme" de quelques centaines de  $\text{cm}^{-1}$ . Le couplage des réseaux a pratiquement doublé l'astigmatisme du premier monochromateur.

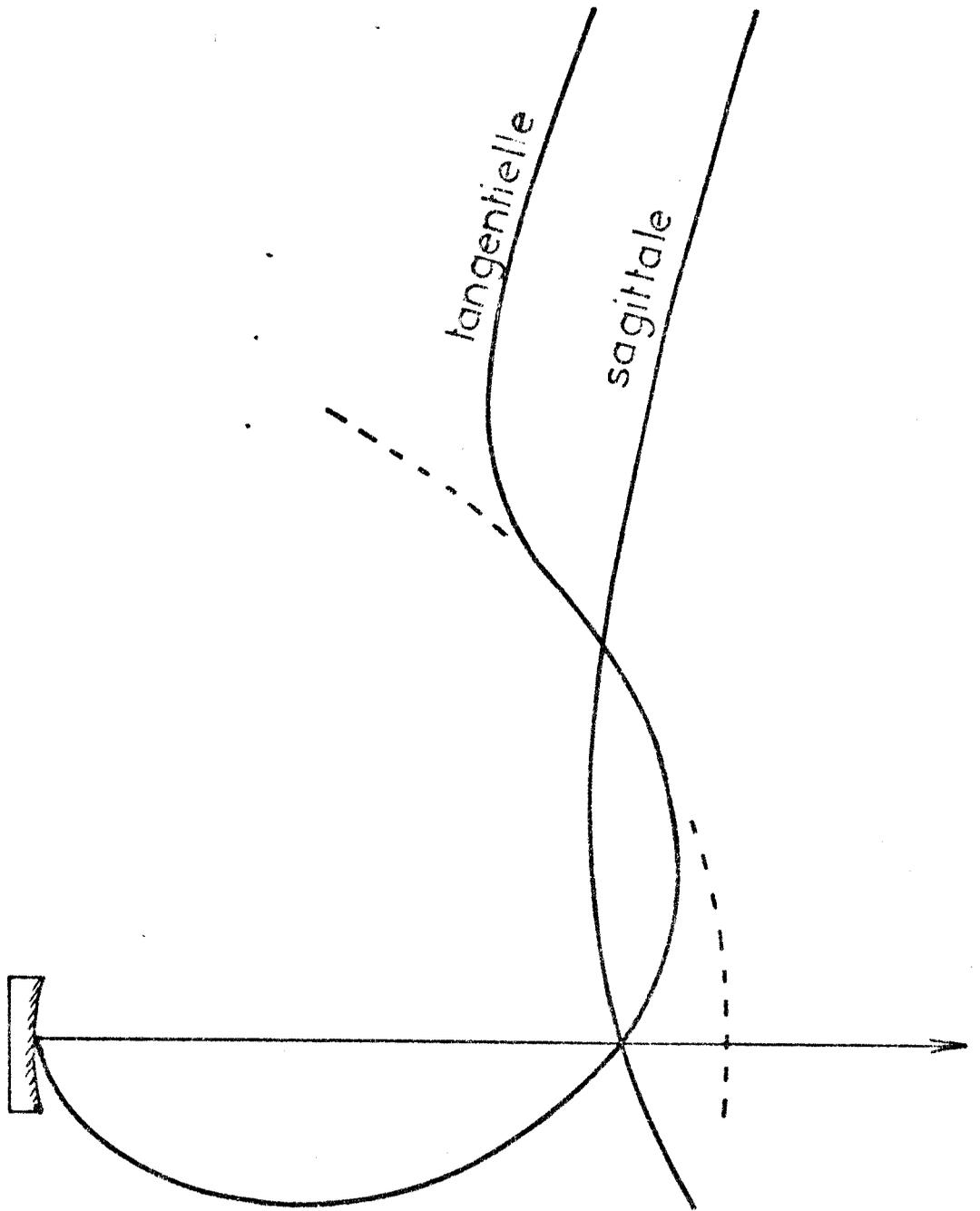
Les valeurs de  $C_1$  et  $C_2$  des comas sont indiquées sur la figure 19. La coma classique  $C_1$  s'annule pour la valeur précédente  $\lambda = 5700 \text{ \AA}$ . Expérimentalement, on constate que c'est vers cette longueur d'onde que le spectre obtenu est le meilleur.



R.H.C 2000 tr/mm  
 rayon de courbure 931,1mm  
 $LA = LB = 1012\text{mm}$

Fig: 15





R.H.C 2000 tr/mm  
rayon de courbure 913,7 mm  
 $LA = LB = 995$  mm

Fig: 16



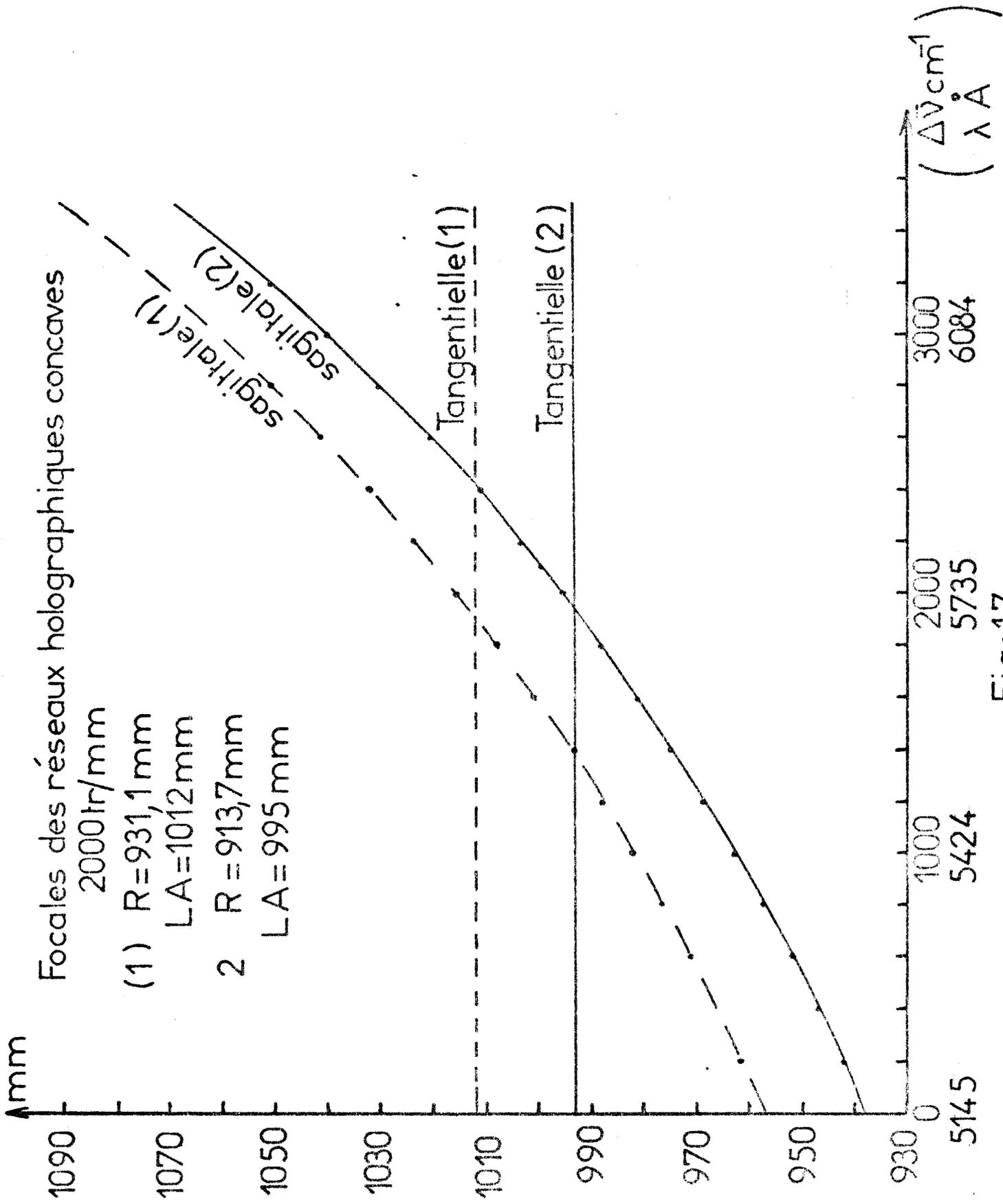


Fig. 17

# Astigmatisme du monochromateur à deux étages

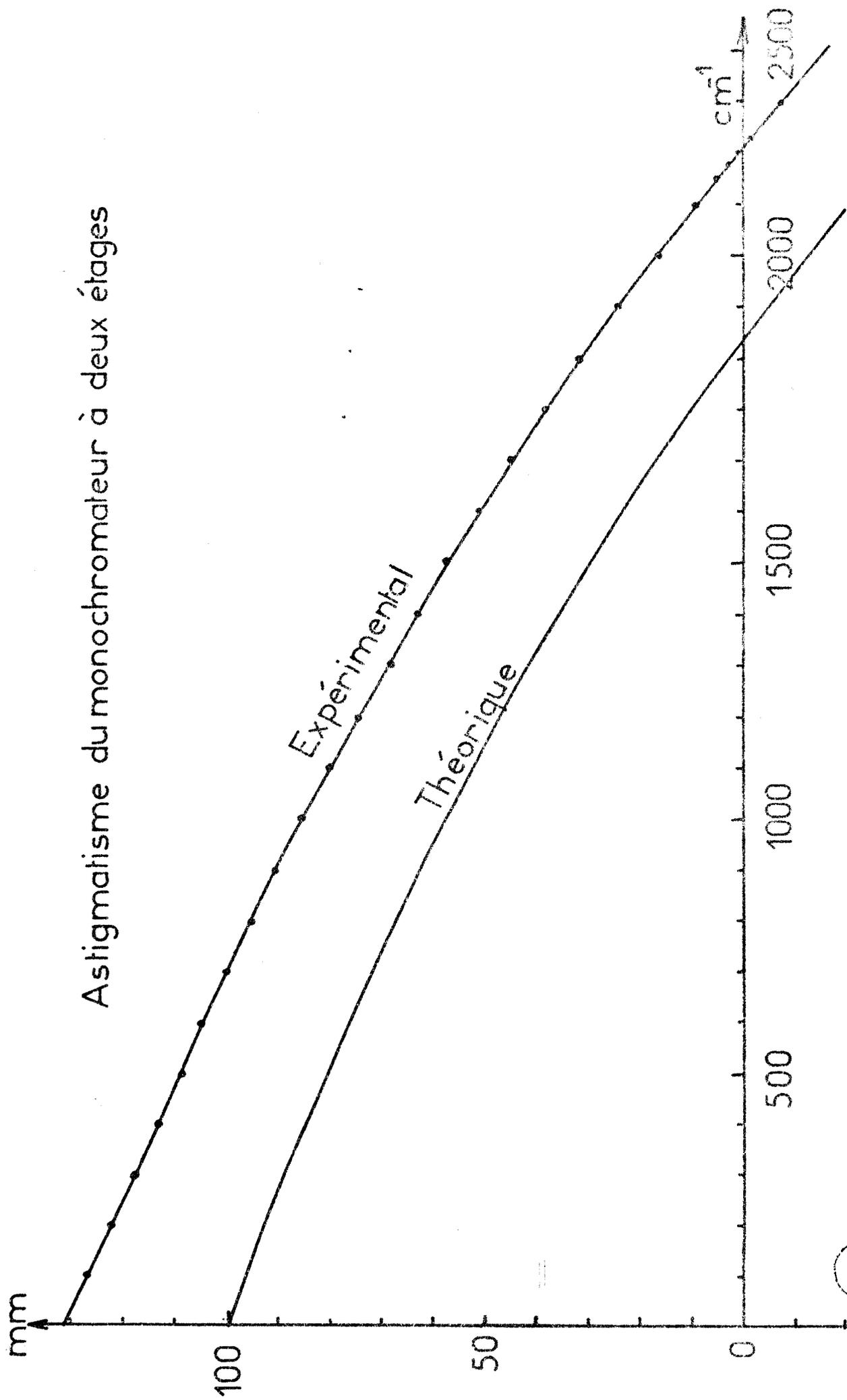


Fig:18

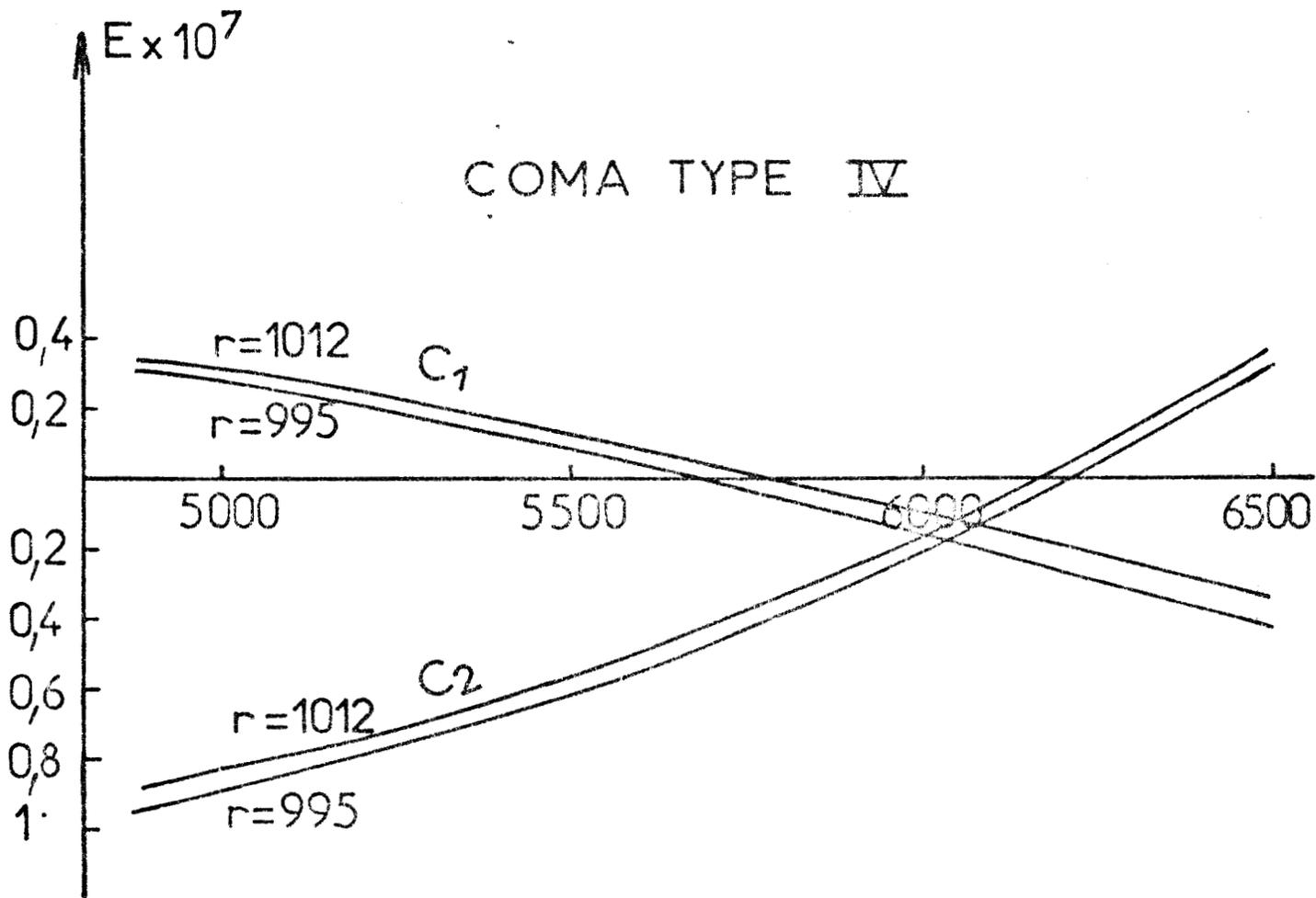


Fig: 19



## BIBLIOGRAPHIE

1. - Brevets A.N.V.A.R. n° 528 804 et n° 76 21 539  
*par M. DELHAYE, P. DHAMELINCOURT et Y. MOSCHETTO*
2. - Contrat I.N.S.E.R.M. - A.T.P. n° 37 324
3. - Congrès de Microscopie - Créteil 1975
4. - P. DAVIDOVITS et M.D. EGGER  
*Appl. Opt. 10, (1971), 1615*
5. - T. SAWATARI  
*Appl. Opt. 12 (1973) 2668*
6. - R. CASTAING  
*Thèse, PARIS, Pub. O.N.E.R.A. n° 54, (1951)*
7. - G. SLODZIAN  
*Ann. Phys. Franc., 3, 13, (1964)*
8. - M. DELHAYE et P. DHAMELINCOURT  
*J. of Raman Spectry, 3 (1975), 33-43*
9. - M. LECLERCQ  
*Thèse, LILLE, (1975)*
10. - EDMONDS  
*Appl. Opt., 12 (1973), 8*
11. - M. BRIDOUX  
*Thèse, LILLE (1966)*

12. - A. DEFFONTAINE  
*Thèse, LILLE (1975)*
13. - H. TOURBEZ  
*Thèse, LILLE (1975)*
14. - S. NAKASHIMA, H. MISHIMA, H. TAI  
*J. Phys. Solids, 35, (1974), 531*
15. - W.C. CLARCK, A.G. VONDJIDIS  
*J. of Catalysis, 4 (1965), 691*
16. - W.C. GEDDES  
*Rubber Chemistry and Technology*  
*Rubber Reviews, 40, 1 (1967), 177-216*
17. - G. PEITSCHER, W. HOLTRUP  
*Angewandte Makromolekuläre chemie, 47 (1975), 111-128*
18. - C. BASSEZ  
*Thèse LILLE (à paraître)*
19. - J. NAEF, G. TURIAN  
*Phytochemistry, (G.B), 3, n° 2, (1963), 173*
20. - L. RIMAI, R.G. KILPONEN, D. GILL  
*J. Am. Chem. Soc., 92, 12, (1970)*
21. M. TASUMI, F. INAGAKI, I. MIYAZAMA  
*Chem. Phys. Lett., 22, (1973), 30*
22. - ROEDDER  
*DATA of Geochemistry, Fifth Edition, Chapter JJ*  
*Editeur : U.S. Government printing office Washington (1972)*
23. - G.J. ROSASCO  
*SCIENCE, 190 (1975), 557-560*



24. - H.A. STALDER

*Bull. Soc. Fr. Mineral Cristallogr.* 99, (1976), 80-84

25. - Handbook of diffraction gratings ruled and holographic

Publ. JOBIN & YVON

26. - H. NODA, T. NAMIOKA, M. SEYA

*J. Opt. Soc. Amer.* 64, 8, (1974), 1031-1048

-00000-

