

376
979
82
ordre : 441

50376
1979
82

THÈSE

présentée à

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

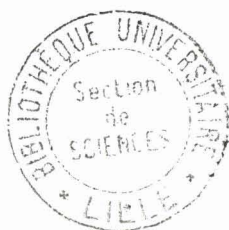
pour obtenir le grade de

DOCTEUR ES-SCIENCES PHYSIQUES

par

Paul DHAMELINCOURT

**ETUDE ET REALISATION
D'UNE MICROSONDE MOLECULAIRE
A EFFET RAMAN
QUELQUES DOMAINES D'APPLICATION**



Soutenue le 12 janvier 1979 devant la Commission d'Examen
Messieurs

M. DELHAYE	}	Président et Rapporteur
R. DUPEYRAT		
M. BRIDOUX	}	Rapporteurs
G.J. ROSASCO		
J. BELLET		
B. POTY	}	Examineurs
M. SOUTIF		
E. DA SILVA		Invité

DOYENS HONORAIRES De l'Ancienne Faculté des Sciences

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

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

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

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

MM. R.DEFRETIN, M.PARREAU, J.LOMBARD.

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. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
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. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Organique

MAITRES DE CONFERENCES (et Chargés d'Enseignement)

M.	AL FAKIR Sabah	Algèbre
M.	ANTOINE Philippe	Analyse
M.	BART André	Biologie Animale
Mme	BATTIAU Yvonne	Géographie
M.	BEGUIN Paul	Mécanique
M.	BOBE Bernard	Sciences Economiques
M.	BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M.	BOSCO Denis	Probabilités
M.	BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M.	BRUYELLE Pierre	Géographie
M.	CHAMLEY Hervé	Géotechnique
M.	COQUERY Jean-Marie	Psychophysiologie
M.	COURBIS Bernard	Sciences Economiques
M.	COUTURIER Daniel	Chimie Organique
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.	DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M.	DUBOIS Henri	Physique
M.	DUBRULLE Alain	Physique
M.	DUEE Gérard	Géologie
M.	DYMENT Arthur	Mécanique
M.	ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M.	FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M.	FONTAINE Hubert	Physique
M.	GAMBLIN André	Géographie
M.	GOBLOT Rémi	Algèbre
M.	GREVET Patrick	Sciences Economiques
M.	JACOB Gérard	Informatique
M.	KREMBEL Jean	Biochimie
M.	LAURENT François	Automatique
Mle	LEGRAND Denise	Algèbre
Mle	LEGRAND Solange	Algèbre
M.	LEVASSEUR Michel	Sciences Economiques
M.	LHENAFF René	Géographie
M.	LOCQUENEUX Robert	Physique Théorique
M.	LOSFELD Joseph	Informatique
M.	MACKE Bruno	Physique
M.	MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M.	N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M.	PARSY Fernand	Mécanique
Mle	PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M.	PERROT Pierre	Chimie Appliquée
M.	PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M.	PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M.	POVY Lucien	Automatique
M.	RICHARD Alain	Biologie
M.	RIETSCH François	Chimie
M.	ROGALSKI Marc	Analyse
M.	ROY Jean-Claude	Psychophysiologie
M.	SALAMA Pierre	Sciences Economiques
Mme	SCHWARZBACH Yvette	Mathématiques
M.	SIMON Michel	Sociologie
M.	SOMME Jean	Géographie

Mle SPIK Geneviève
M. STERBOUL François
M. TAILLIEZ Roger
M. TOULOTTE Jean-Marc
M. TREANTON Jean-René
M. VANDORPE Bernard
M. WALLART Francis
Mme ZINN-JUSTIN Nicole

Biochimie
Informatique
Biologie
Automatique
Sociologie
Chimie Minérale
Chimie
Algèbre

A ma femme

A ma famille

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (L.P. 2631) sous la direction de Monsieur le Professeur DELHAYE. Je tiens ici à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour m'avoir proposé ce sujet de thèse tout à fait original. Tout au long de ces années, il m'a fait bénéficier constamment de son expérience et de sa compétence. J'ai toujours trouvé auprès de lui les encouragements et les conseils qui m'ont permis de mener à terme cette étude.

Messieurs G.J. ROSASCO du National Bureau of Standards (Washington U.S.A), R. DUPEYRAT, Professeur à l'Université de Paris VI et M. BRIDOUX, Directeur de l'I.U.T. de Béthune me font l'honneur de juger ce travail. Je leur suis vivement reconnaissant d'apporter à celui-ci la caution de leur autorité scientifique.

Monsieur B. POTY, Directeur de recherches au C.R.P.G. de Nancy, a prêté une grande attention à ce travail et nous avons eu souvent de fructueuses discussions. Je le remercie sincèrement de participer à ce jury.

Je remercie également vivement Messieurs J. BELLET, Professeur à l'Université de Lille I et M. SOUTIF, Professeur à l'Université de Grenoble, d'avoir bien voulu me faire l'honneur de participer à ce jury.

Au cours de ce travail, j'ai eu avec Monsieur E. DA SILVA, Directeur de la Société DILOR (Lille) de fréquents et amicaux contacts. Sa compétence et son dynamisme m'ont beaucoup aidé. Qu'il ait accepté de faire partie de ce jury me fait particulièrement plaisir.

Je remercie Monsieur R. DEMOL pour l'aide qu'il m'a apportée lors de la réalisation des divers prototypes.

Que P. BISSON avec qui j'ai travaillé pendant quelques années dans une atmosphère de franche camaraderie et qui a contribué à la réalisation de ce travail trouve ici le témoignage de mon amitié.

Je tiens également à témoigner mon amitié à M. LECLERCQ et A.T. N'GUYEN de la Société DILOR. Nous avons eu depuis le début de la réalisation du prototype industriel de fructueux échanges d'idées et travaillé dans un climat d'entraide amicale.

Je ne saurais bien sûr oublier tous ceux avec qui j'ai collaboré et qui m'ont aidé lors de la recherche de domaines d'application. Je leur adresse mes sincères remerciements.

Je remercie tous les collègues qui m'ont aidé, en particulier J.C. MERLIN et B. DE BETTIGNIES. Depuis notre entrée au laboratoire, l'amitié qui s'est établie entre nous a été pour moi un stimulant et une aide précieuse.

Enfin je remercie tout particulièrement J.P. LABAEVE qui a eu la tâche difficile d'exécuter les schémas de ce mémoire et Madame C. DESCAMPS pour le soin avec lequel elle l'a dactylographié et mis en forme.

- SOMMAIRE -

	<i>Page</i>
INTRODUCTION.....	1
<u>PREMIÈRE PARTIE</u> : ETUDE ET REALISATION D'UN PROTOTYPE DE LABORATOIRE	
CHAPITRE I : LA MICROANALYSE PAR EFFET RAMAN.....	5
CHAPITRE II : ETUDE ET REALISATION D'UN PROTOTYPE DE LABORATOIRE D'UNE MICROSONDE RAMAN.....	37
CHAPITRE III : CONTRÔLE ET ESSAI DU PROTOTYPE DE LABORATOIRE.....	127

DEUXIÈME PARTIE : DESCRIPTION DU PROTOTYPE
INDUSTRIEL

CHAPITRE I	: CRITIQUE DU PROTOTYPE DE LABORATOIRE.....	147
CHAPITRE II	: SOLUTIONS ADOPTÉES POUR LE PROTOTYPE INDUSTRIEL ET LES INSTRUMENTS DE SÉRIE....	150

TROISIÈME PARTIE : QUELQUES DOMAINES D'APPLICATION

CHAPITRE I	: APPLICATION A LA MINÉRALOGIE ET A LA GEMMOLOGIE.....	157
CHAPITRE II	: APPLICATION AU CONTRÔLE DES MATÉRIAUX INDUSTRIELS.....	173
CHAPITRE III	: ÉTUDE DE CATALYSEURS.....	180
CHAPITRE IV	: ANALYSE DE POUSSIÈRES ATMOSPHÉRIQUES...	184
CHAPITRE V	: BIOLOGIE.....	186
CONCLUSION.....		191
BIBLIOGRAPHIE.....		194

- INTRODUCTION -

- INTRODUCTION -

Depuis une vingtaine d'années, de nombreuses méthodes physiques de microanalyse ont été créées. En particulier, les microscopes et microsondes électroniques, la microsonde ionique (1) ont doté l'analyste de puissants moyens d'investigation de la forme, des dimensions et de la composition élémentaire d'échantillons à l'échelle du micron.

Cependant ces méthodes ne nous renseignent que très indirectement sur la manière dont les atomes se lient entre eux pour former des édifices polyatomiques (ions, molécules, cristaux). Malheureusement les techniques d'analyse permettant la détermination des structures moléculaires - diffraction des rayons X, diffusion des neutrons, résonance magnétique nucléaire, spectroscopie de vibration infrarouge et Raman n'ont pas été étendues à la microanalyse.

Avec l'avènement du laser qui permet de concentrer l'énergie du faisceau lumineux sur une très petite surface, une de ces techniques, l'analyse par effet Raman, mal commode jusque là s'est brusquement avérée être une

méthode de choix pour l'analyse de petits volumes d'échantillon. Déjà en 1966, M. Delhaye et M. Migeon (2) montraient l'intérêt de la concentration d'un faisceau laser pour l'excitation de l'effet Raman et l'utilisation de microcuves. Depuis, de nombreuses publications sont parues rapportant l'obtention de bons spectres Raman à partir de volumes d'échantillons gazeux, liquides ou solides allant du microlitre au nanolitre (3, 4, 5, 5, 7). La diffusion Raman possède de nombreuses propriétés spécifiques qui en font un outil unique pour la microanalyse d'échantillons. Le spectre Raman peut être utilisé pour déterminer les espèces chimiques présentes mais encore pour préciser leurs structures.

L'analyse est relativement rapide, non destructive, peut se faire à l'air libre, sous atmosphère contrôlée ou au travers d'un matériau transparent et ne nécessite pas de préparation spéciale de l'échantillon.

Le but de ce travail a été de concevoir une véritable microsonde capable non seulement de fournir le spectre Raman d'un petit volume choisi dans l'échantillon mais encore de donner sous forme d'images micrographiques sélectives la répartition d'une substance donnée.

Parallèlement à notre travail, G.J. Rosasco développait au "National Bureau of Standards" (U.S.A.) un instrument permettant l'obtention de spectres Raman d'échantillons de taille microscopique (8).

Dans une première partie, nous analysons les problèmes que pose la microanalyse d'échantillons par diffusion Raman et proposons plusieurs méthodes susceptibles de résoudre ces problèmes. Après avoir fait choix d'une technique, nous décrivons la conception et la réalisation d'un prototype de laboratoire.

Puis ce travail ayant conduit, en étroite collaboration avec une Société d'instrumentation française, à la création d'un prototype industriel, nous décrivons dans la seconde partie, après une brève critique du prototype de laboratoire, les solutions qui ont finalement été adoptées pour la réalisation d'instruments de série.

Enfin, dans une troisième partie, nous présentons quelques exemples d'application démontrant ainsi les possibilités de cette nouvelle technique de microanalyse.

- 1ÈRE PARTIE -

ÉTUDE ET RÉALISATION D'UN PROTOTYPE DE LABORATOIRE

- CHAPITRE I -

LA MICROANALYSE PAR EFFET RAMAN

I. - LES TECHNIQUES DE MICROANALYSE :

De nombreuses méthodes de microanalyse ont été créées, qui couplent le plus souvent le microscope photonique ou électronique avec différents systèmes d'analyse par spectrométrie. Le principe en est toujours le même :

- 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, d'ions 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 en analysant cette émission secondaire par spectrométrie de masse, d'électrons, dans le domaine des rayons X, visible ou infrarouge. De plus, dans certains cas, après filtrage du rayonnement secondaire, il est possible d'obtenir différentes images de l'échantillon, chacune étant une carte qui précise la localisation d'un des éléments présent dans la zone analysée.

Le tableau I résume les principes de ces méthodes ainsi que les informations qu'elles apportent (9).

Méthodes d'analyse Principales caractéristiques	EXCITATION ELECTRONIQUE				EXCITATION IONIQUE		EXCITATION PHOTONIQUE		
	Microsonde Castaing	Perte d'énergie (low loss)	Electrons Auger (AES)	Diffractions des électrons (LEED)	Microsonde Slodzian (SIMS)	Diffraction des ions primaires (ISS)	Electrons secondaires (ESCA) (XPS)	ions secondaires (LAM)	Effet Raman
Dimensions de la zone analysée	50 - 100 Å	300 Å	< 20 µm	< 20 µm	100 - 300 µm	2 µm	quelques mm	quelques µm	1 à quelques centaines de microns
Irradiation utilisée pour l'analyse	Rayons X	Electrons transmis	Electrons Auger	Electrons diffractés	Ions secondaires	Ions primaires	Photo électrons	Ions émis	Photons diffusion par effet Raman
Nature de l'information obtenue	Elémentaire	Elémentaire	Elémentaire	Elémentaire Structurale	Elémentaire et moléculaire	Elémentaire	Elémentaire et moléculaire	Elémentaire	Moléculaire
Obtention d'images	Oui	Oui	Possible	Non	Oui	—	Possible	Non	Oui
Résolution spatiale	3-4 Å	20 Å	0,5 µm	—	2 µm	2 µm	1 mm	quelques microns	≈ 1 µm
Profondeur analysée	—	300 Å	5-20 Å	1 à 2 monocouches	Monocouche	1 à 2 monocouches	5-20 Å	—	1 à quelques microns
Limite de détection	10 ⁻¹⁶ - 10 ⁻¹⁹ g	—	≈ 10 ⁻¹⁶ g	—	≈ 10 ⁻¹⁹ g	—	≈ 10 ⁻⁹ g	≈ 10 ⁻⁸ - 10 ⁻¹⁰ g	10 ⁻⁸ - 10 ⁻¹² g
Analyse chimique	Difficile	Possible	Difficile	Non	Possible mais difficile	Très difficile	Possible	Non	Oui
Analyse quantitative	Oui	Oui	—	—	Non	Non	Possible	Oui	Possible
Destruction de l'échantillon	Faible	Faible	Faible	Faible	Importante	Importante	Très faible	Oui	Non

Tableau I

Principales méthodes de microanalyse

Cependant la plupart de celles-ci utilisent une propriété atomique et ne permettent pas une caractérisation chimique directe de la nature de l'échantillon. Or, le spectre de diffusion Raman, fonction de la nature chimique (molécules, ions polycristallins...) et de l'environnement moléculaire des divers constituants d'un échantillon, est à même de permettre cette caractérisation et nous indiquons dans le tableau I ce que l'on peut attendre de la microanalyse par effet Raman compte tenu des propriétés de cohérence des sources laser et de la longueur d'onde de la radiation excitatrice (analyse dans le domaine du visible). Il est alors clair que la spectrométrie Raman adaptée à la microanalyse pouvait constituer une technique hautement spécifique apportant des informations complémentaires ou supplémentaires de celles obtenues par d'autres méthodes analytiques.

II. - RAPPEL DE L'ORIGINE ET DE LA NATURE DE L'EFFET RAMAN - ORDRE DE GRANDEUR DES PHENOMENES MIS EN JEU :

A - Origine et nature de l'effet Raman

L'effet Raman est un phénomène de changement de longueur d'onde qui accompagne la diffusion de la lumière par un milieu matériel lorsque celui-ci est éclairé par une radiation monochromatique de fréquence ν_0 que l'on appelle radiation excitatrice et que l'on peut choisir dans un domaine s'étendant du proche U.V. au proche I.R.

Considérons un milieu simplement constitué d'édifices polyatomiques isolés (molécules, ions). Un tel édifice comportant N atomes peut être

assimilé à un système mécanique à 3 N degrés de liberté. En retirant les mouvements d'ensemble soit 3 rotations et 3 translations, il reste 3 N-6 mouvements attribuables à des vibrations moléculaires (3 N-5 dans le cas d'édifices linéaires). A chacun de ces mouvements de vibration correspondent des valeurs de l'énergie de la molécule $E_0, E_1, E_2 \dots$ (fig. 1), chaque niveau énergétique étant repéré par les valeurs du nombre quantique de vibration $v = 0, 1, 2 \dots$

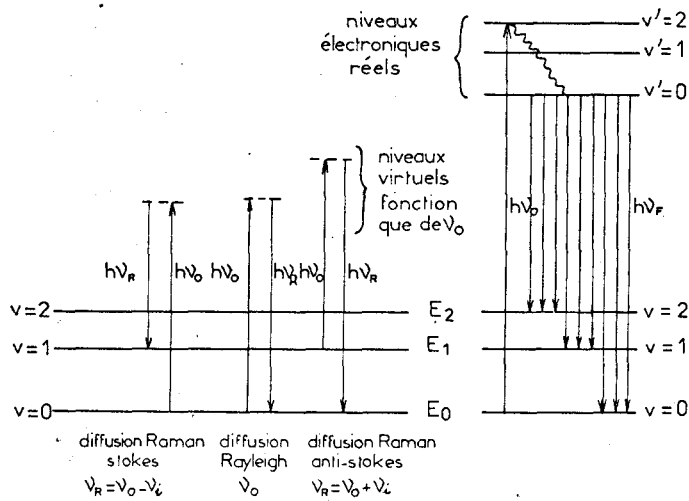


Fig. 1 : Mécanisme de la diffusion Raman et de l'émission de fluorescence.

L'interaction d'un édifice polyatomique avec des photons d'énergie très supérieure à l'écart entre deux niveaux vibrationnels le porte à un état énergétique instable. Le système revient alors sur l'un des niveaux permis en émettant un photon dans une direction quelconque.

Une fraction très importante des photons constituant la radiation excitatrice est transmise, réfléchiée ou diffusée sans changement de fréquence par le milieu matériel. C'est la diffusion élastique ou diffusion Rayleigh. Pour une fraction très faible des photons diffusés, il y a changement de fréquence. C'est la diffusion inélastique ou diffusion Raman. En plus de la fréquence ν_0 , il y a apparition de fréquences Raman Stokes ($\nu_R = \nu_0 - \nu_i$) et Raman Antistokes ($\nu_R = \nu_0 + \nu_i$) où ν_i représente la fréquence correspondant à l'un des modes de vibration de l'édifice polyatomique.

Du point de vue spectral (fig. 2), le spectre Raman se présente sous forme d'une raie principale (réflexions, diffusion Mie, diffusion Rayleigh) entourée d'un certain nombre de raies fines des spectres Raman Stokes et Antistokes qui sont symétriques mais d'intensité différente.

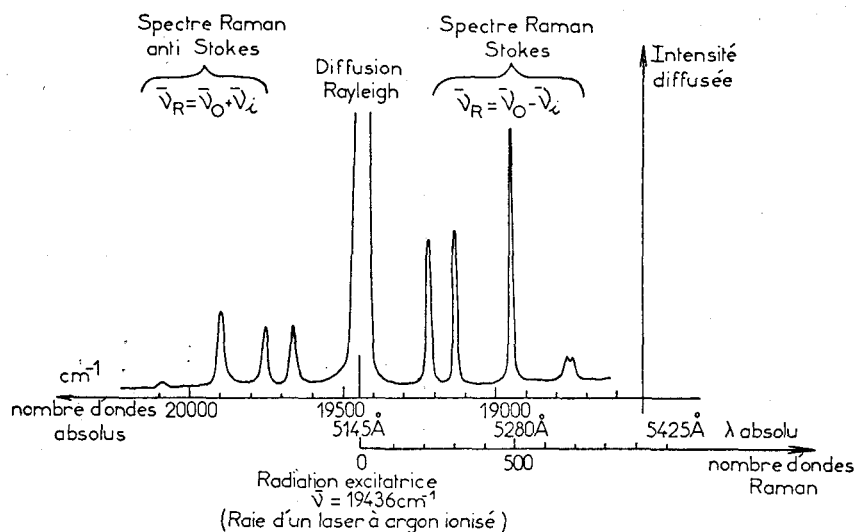


Fig. 2 : Présentation d'un spectre Raman

Seul le glissement de fréquence ($+ \nu_i$ ou $- \nu_i$) est intéressant et on présente un spectre Raman en plaçant l'origine des fréquences à la fréquence ν_0 . Le plus souvent, on utilise l'échelle des nombres d'onde ($\bar{\nu} = \frac{\nu}{c}$ en cm^{-1}) et l'on enregistre que la partie Stokes plus intense.

Le spectre Raman, de par son origine, est donc une propriété directement liée à la structure des édifices polyatomiques et à la nature des liaisons chimiques. Il permet de plus, par l'apparition de raies nouvelles ou la variation de leur profil, de préciser la nature cristalline des phases solides ou encore la nature de certaines interactions moléculaires.

De nombreux ouvrages généraux existent sur la théorie de l'effet Raman et sur l'interprétation des spectres (10, 11, 12, 13). Les spectres d'un très grand nombre de substances ont déjà été enregistrés et interprétés.

Notons cependant que même lorsque cette interprétation n'est pas connue ou entièrement élucidée, le spectre Raman constitue une fiche caractéristique d'un édifice polyatomique qui permettra de le repérer et de l'identifier sans ambiguïté. G.J. Rosasco et ses collaborateurs ont récemment montré (14) que la variation de la polarisation du champ électrique à l'intérieur de très petites particules ($\approx \mu\text{m}$) conduisait à une similarité des spectres d'une substance, qu'une seule particule soit analysée ou qu'un ensemble de particules soit simultanément analysé (poudre polycristalline). Ce résultat est particulièrement important

quant à l'utilisation de l'effet Raman pour l'analyse de matériaux sous forme de microparticules.

B - Ordre de grandeur des phénomènes mis en jeu

a - Sections efficaces de diffusion :

Une des principales caractéristiques du phénomène de diffusion Raman est sa faible intensité comparée à la diffusion Rayleigh et aux réflexions.

Considérons le flux élémentaire diffusé par un petit volume dv d'un échantillon uniformément éclairé par un faisceau laser avec une irradiancie I_0 (watt/cm²) (fig. 3). Le flux émis dans tout l'espace s'écrit :

$$d\phi = I_0 \cdot \sigma_\nu \cdot \rho \cdot dv \text{ (watt)}$$

σ_ν : section efficace totale de diffusion à la fréquence ν (cm².molécule⁻¹)

ρ : densité moléculaire (molécule.cm⁻³)

Cependant ce flux n'est pas uniforme selon la direction d'émission et on trouve le plus souvent au lieu de σ_ν la grandeur $(\frac{d\sigma}{d\Omega})_\nu$ section efficace différentielle de diffusion (cm².molécule⁻¹.stéradian⁻¹).

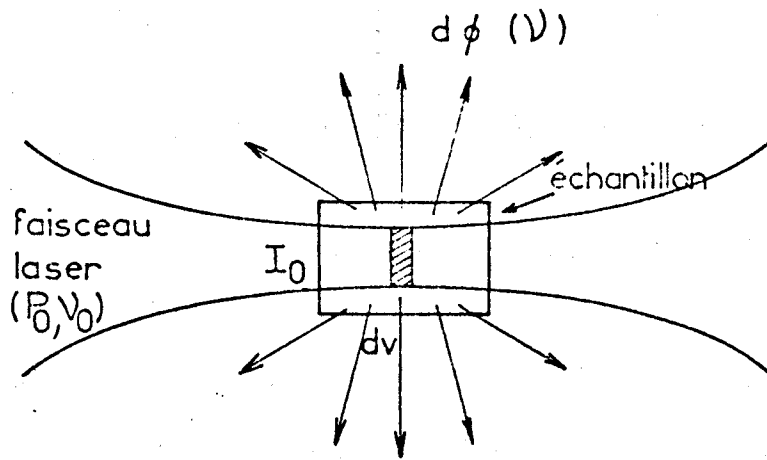


Fig. 3 : Flux élémentaire diffusé par un volume d'échantillon dv .

$d\Omega$ est l'angle solide élémentaire du faisceau dans lequel se propage le flux $d\phi$

$$d\phi = I_0 \left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_v \cdot d\Omega \cdot \rho \cdot dv.$$

b - Ordre de grandeur des flux diffusés :

Si on prend une valeur moyenne $\overline{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)}$ de la section efficace différentielle de diffusion, le flux diffusé dans l'espace s'écrit :

$$d\phi = 4 \pi \cdot I_0 \cdot \overline{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)}_v \cdot \rho \cdot dv \text{ (watt)}$$

ou encore :

$$d\phi = 4 \pi \cdot P_0 \cdot \overline{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)}_v \cdot \rho \cdot dl$$

Si P_0 est la puissance à l'échantillon et dl un élément de longueur éclairé par le faisceau laser.

L'ordre de grandeur de $\overline{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)}$ est :

$10^{-24} \text{ cm}^2 \cdot \text{molécule}^{-1} \cdot \text{str}^{-1}$ pour la diffusion Rayleigh

$10^{-30} \text{ cm}^2 \cdot \text{molécule}^{-1} \cdot \text{str}^{-1}$ pour l'effet Raman

Dans le cas d'échantillons solides, à la diffusion sans changement de fréquence, s'ajoutent les réflexions qui peuvent augmenter par un facteur 10^3 l'intensité de la raie réémise à la fréquence d'excitation.

Le rapport entre diffusion Raman et diffusion sans changement de fréquence est donc souvent de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-9} .

Calculons à titre d'exemple le flux moyen diffusé par un échantillon de chloroforme dans la raie 666 cm^{-1} excité par la radiation $514,5 \text{ nm}$ d'un laser à Argon ionisé. (Cette raie peut être considérée comme une raie moyenne - $\overline{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)} \approx 2 \cdot 10^{-30}$).

Les valeurs des paramètres que nous avons choisies correspondent à des conditions typiques en spectrométrie Raman :

$$P_0 = 50 \text{ mw} \quad l = 5 \text{ mm}$$

On calcule : $\phi \approx 5 \cdot 10^{-9} \text{ watt}$

En fait, compte tenu de la fraction du flux recueilli et transmis par l'optique de collection ($\approx 10^{-2}$) et de l'efficacité des optiques

et des réseaux ($\approx 10^{-1}$) des spectromètres couramment utilisés, il n'est pas rare que le flux atteignant le détecteur soit de l'ordre de 10^{-13} watt.

Il faut noter que l'intensité de certaines raies Raman peut fortement s'exalter (jusqu'à 10^6) dans le cas où la fréquence de la radiation excitatrice s'approche d'une bande d'absorption électronique du composé étudié. C'est l'effet Raman de résonance (15). Dans ce cas particulier, la spectrométrie Raman peut devenir une méthode d'analyse extrêmement sensible.

III - PROBLEMES POSES PAR LA MICROANALYSE D'ECHANTILLONS :

A - Analyse du problème :

Dans les techniques usuelles de spectrométrie Raman, l'échantillon a couramment une taille de l'ordre de quelques millimètres. Il est facilement manipulable et aisément mis en place pour être correctement éclairé par le faisceau laser. Lorsque la taille de l'échantillon ou de la zone à analyser diminue, de nombreux problèmes surgissent :

- manipulation, visualisation, positionnement et éclairage de l'échantillon ;
- recueil et analyse de la lumière diffusée, sensibilité.

En fait, la principale limitation est liée à la sensibilité de la méthode qui doit rester aussi bonne que possible pour des microéchantillons.

Le signal S fourni par le détecteur d'un instrument destiné à l'analyse d'échantillons par effet Raman peut se mettre sous la forme :

$$- S = L \cdot \Sigma^{\Delta\nu} \cdot \tau_{\nu} \cdot T_{\nu} \cdot s_{\nu}$$

$$- L = I_0 \cdot \bar{k}_{\nu} \cdot \rho \cdot \Delta z$$

représente la luminance Raman pour une épaisseur d'échantillon "vue" par l'instrument: Δz .

\bar{k}_{ν} représente la section efficace de diffusion Raman moyenne.

$$- \Sigma^{\Delta\nu} \cdot \tau_{\nu} \cdot T_{\nu} \cdot s_{\nu}$$

représente "l'efficacité de l'instrument".

$\Sigma^{\Delta\nu}$ est l'étendue géométrique utile du faisceau définie par la géométrie du monochromateur pour une résolution spectrale $\Delta\nu$.

Nous rappelons que l'étendue géométrique utile du monochromateur est :

$$\Sigma^{\Delta\nu} = \frac{s \cdot S}{F \cdot c}$$

où s est la surface de la fente d'entrée pour la résolution $\Delta\nu$.

S est la surface de l'élément dispersif et F_c la focale du monochromateur.

τ_ν , T_ν et s_ν sont respectivement la transmission des optiques, l'efficacité du monochromateur et la sensibilité du détecteur pour une radiation de fréquence ν .

Pour que la méthode demeure la plus sensible possible, il faut donc chercher à optimiser ces deux quantités.

Luminance Raman de l'échantillon :

Les grandeurs \bar{k}_ν et ρ qui dépendent directement de la nature de l'échantillon seront peu accessibles.

La section efficace variant comme ν^4 peut être augmentée en diminuant la longueur d'onde du rayonnement excitateur mais le choix est souvent limité par les problèmes d'absorption et de fluorescence.

L'irradiance est le facteur clé du problème. Considérons un échantillon éclairé par un faisceau laser de diamètre D (fig. 4). L'irradiance I_0 est proportionnelle à $\frac{P}{D^2}$ et l'épaisseur d'échantillon que "voit" l'instrument, varie comme D.

La luminance de l'échantillon varie alors comme $\frac{P}{D}$.

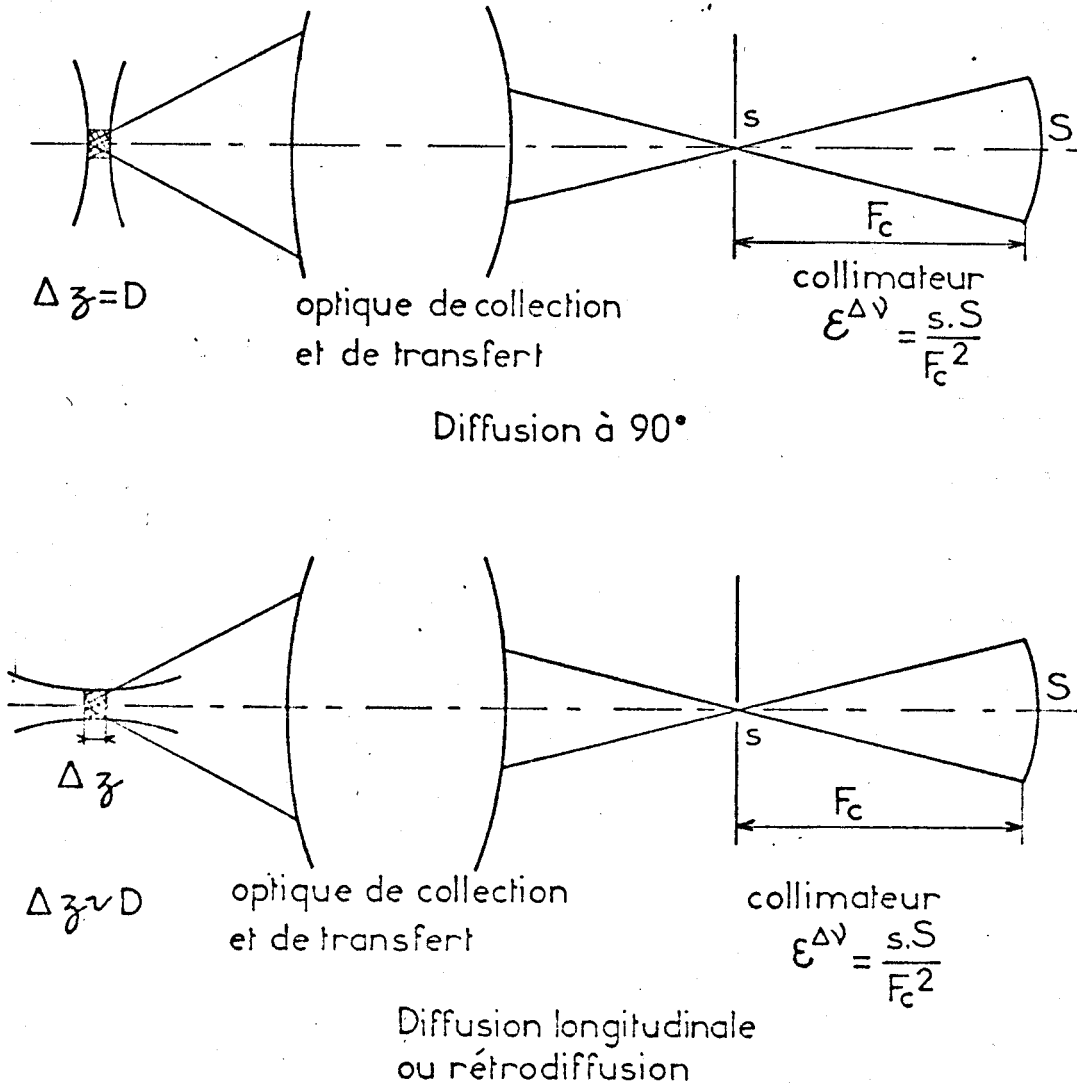


Fig. 4 : Epaisseur d'échantillon effectivement "vue" par le spectromètre.



Ce résultat, établi par M. Delhaye et M. Migeon, rigoureux dans le cas de l'analyse à 90° de la lumière diffusée (16) reste valable en première approximation dans le cas de la diffusion à 180° ou de la rétrodiffusion car la longueur du faisceau où l'irradiance est maximale décroît comme D.

Ce résultat est très important pour l'analyse de microéchantillons car il montre que la luminance de l'échantillon demeure constante si l'on diminue à la fois la puissance au niveau de l'échantillon et la taille de ce dernier.

Ainsi là où il fallait un watt pour éclairer un échantillon dont la taille est de l'ordre du millimètre, il ne faudra plus qu'un mw si la taille est voisine du micron. Mais l'irradiance qui était de l'ordre de 100 W/cm² devient voisine de 100 KW/cm². Avec de telles irradiances, il faut s'attendre à un échauffement rapide des microéchantillons.

En effet, le flux de chaleur absorbé par l'échantillon lors de l'irradiation et qu'il doit donc dissiper par rayonnement, par conduction ou convection a pour expression :

$$Q = K_a \cdot I_o \cdot v_i \text{ watt}$$

où K_a est le coefficient d'absorption du matériau (en cm⁻¹) et v_i le volume d'échantillon qui est irradié.

L'élévation de température par seconde qui en résulte s'exprime alors par la relation :

$$\Delta T \cdot \alpha \cdot v = K_a \cdot I_o \cdot V_i$$

où α est la résistivité thermique du matériau ($W \cdot cm^{-3} \cdot K^{-1}$) et v le volume total de l'échantillon,

soit :

$$\Delta T = \frac{K_a}{\alpha} \cdot I_o \cdot \frac{v_i}{v}$$

Par exemple, en prenant $K_a \approx 10^{-1}$ (absorption faible) et $\alpha \approx 10$ (résistivité thermique moyenne) $v_i \approx v = 1 \mu m^3$, l'élévation de température par seconde qui résulte d'une irradiance de 100 KW/cm^2 atteint $1000^\circ K$.

Mais il faut bien comprendre qu'en réalité la situation est totalement différente car une telle élévation de température suppose l'échantillon de taille microscopique totalement isolé, c'est à dire sans contact thermique avec l'extérieur. En fait cet échantillon, pour être analysé est déposé sur un support ou bien il correspond à la fraction analysée d'un échantillon de taille plus importante. Le support ou bien la partie non analysée de l'échantillon joue alors le rôle d'un radiateur thermique dissipant la chaleur (fig. 5) et un équilibre s'établit rapidement tel que :

$$Q = K_a \cdot I_o \cdot v_i = K_c \cdot \frac{dT}{dx} \cdot s_c$$

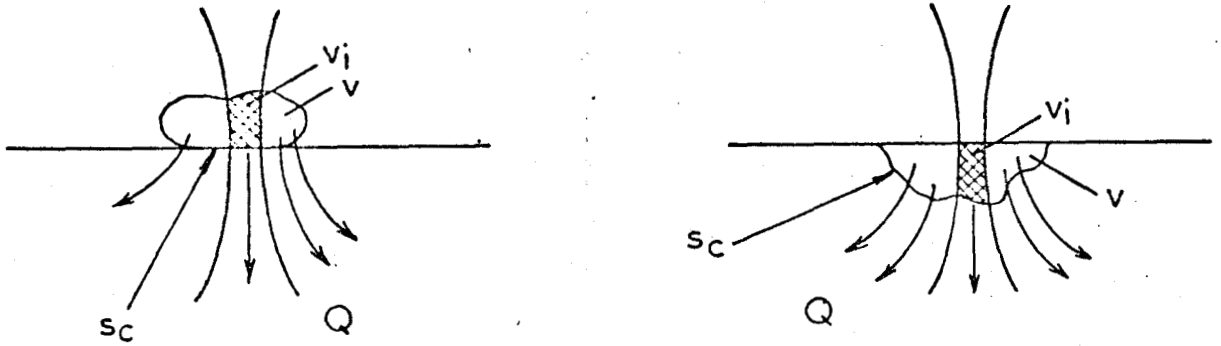


Fig. 5 : Dissipation du flux de chaleur absorbé par l'échantillon lors de son irradiation.

$K_c \cdot \frac{dT}{dx} \cdot s_c$ représente le flux de chaleur qui s'écoule au contact du support ou dans la partie non irradiée de l'échantillon.

K_c est la conductivité thermique du matériau utilisé ($W \cdot cm^{-2} (K/cm)^{-1}$).

s_c la surface de contact et $\frac{dT}{dx}$ le gradient de température qui s'établit entre la partie froide de l'échantillon (\approx température du support si un bon contact thermique est assuré) et la partie la plus chaude.

soit :

$$\frac{dT}{dx} = \frac{K_a \cdot I_o \cdot v_i}{K_c \cdot s_c}$$

Cette relation montre le rôle essentiel de la surface de contact qui doit être la plus grande possible.

Pour déterminer rigoureusement ΔT (écart entre la température du support et le point le plus chaud de l'échantillon) le problème est très complexe car on doit intégrer sur le "trajet thermique" x du flux de chaleur. Cela demande de bien connaître la forme de l'échantillon ainsi que la surface de contact car généralement x sera fonction de la morphologie de l'échantillon et :

$$\Delta T = \int_x \frac{K_a \cdot I_o \cdot v_i}{K_c \cdot s_c} \cdot dX$$

Dans certains cas, le calcul peut être fait. Ainsi G.J. Rosasco et H.S. Bennett (17) ont effectué ce calcul pour des particules sphériques complètement incluses dans un support jouant le rôle de radiateur thermique. Cependant sans faire de calcul pour des échantillons de taille microscopique, un raisonnement simple :

$$\frac{v_i}{s_c} \approx \frac{v}{s} \approx 1 \text{ et } I_o \approx \frac{P}{l^2}$$

où l est la taille moyenne de l'échantillon montre que le gradient de température qui s'établit est alors proportionnel à $\frac{P}{l}$.

On pourra donc maintenir l'échantillon à température raisonnable si l'on abaisse la puissance du faisceau laser lorsque la taille de

l'échantillon diminue. Or ceci permet précisément de conserver la luminosité de l'échantillon.

Ce sont là les fondements de la micronalyse par effet Raman.

- Efficacité de l'instrument :

Les grandeurs $\Sigma^{\Delta\nu}$, τ_{ν} , T_{ν} et s_{ν} pourront être optimisées par un choix et un couplage judicieux des éléments entrant dans la composition de l'instrument. En particulier, l'étendue géométrique utile de faisceau $\Sigma^{\Delta\nu}$ doit être conservée par une optique de collection très ouverte et une optique de transfert adaptée.

C'est essentiellement sur ces points que nous porterons nos efforts lors de la conception de l'appareil.

En résumé et compte-tenu de tout ce qui précède, un tel instrument devra comprendre :

- a) Un système de positionnement et de visualisation de l'échantillon permettant de façon aisée et rapide :
 - sa mise en place ;
 - sa reconnaissance morphologique et le repérage précis de la zone à analyser ;
 - son éclairage par la source laser.

- b) Une optique à très grande ouverture pour le recueil de la lumière diffusée.
- c) Un monochromateur possédant un très bas taux de lumière parasite et une efficacité la plus élevée possible.
- d) Un ou plusieurs systèmes de détection très sensibles.

L'ensemble devant permettre l'analyse locale d'un très petit volume choisi dans l'échantillon et (ou) l'obtention d'images micrographiques sélectives donnant la répartition d'une substance donnée à partir d'une raie Raman caractéristique de cette substance (fig. 6).

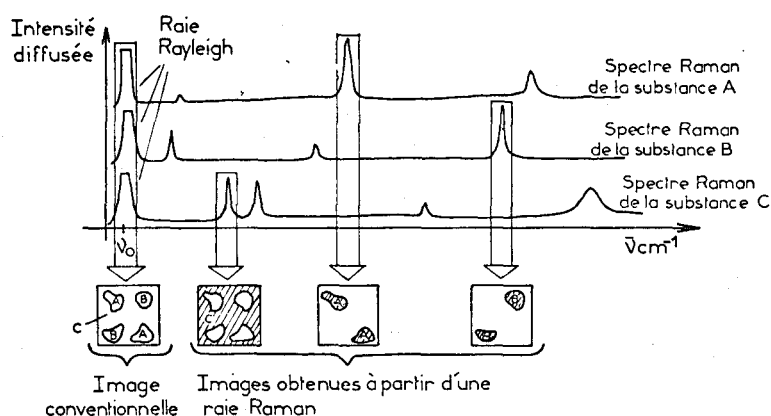


Fig. 6 : Principe de l'identification et de la localisation des constituants d'un échantillon hétérogène.

B - Méthodes envisagées - Choix d'une technique

Nous avons envisagé plusieurs techniques capables de répondre aux problèmes précédemment énoncés. La figure 7 résume les principaux systèmes envisagés classés selon le mode d'éclairage, le type d'analyse de la surface de l'échantillon (nombre d'éléments simultanément analysés) et de détecteur.

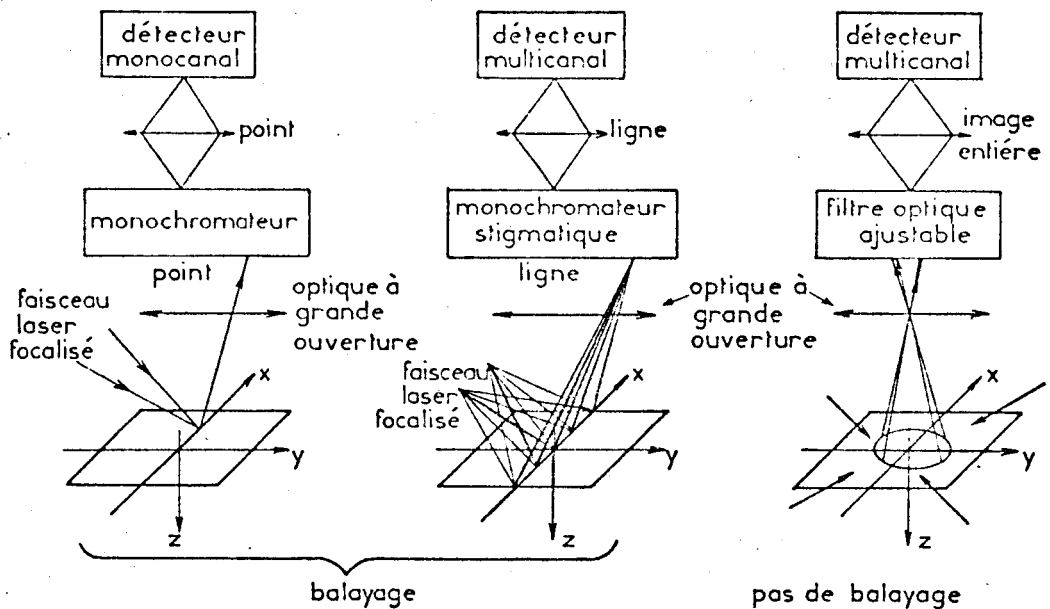


Fig. 7 : Représentation schématique des méthodes envisagées pour l'analyse des échantillons.

a - Analyse ponctuelle de l'échantillon et détection monocanale :

Cette technique est illustrée par la figure 8. L'échantillon placé sur un support permettant son positionnement rigoureux selon trois directions perpendiculaires, est éclairé par un faisceau laser que l'on focalise en un point de sa surface. Le faisceau est alors rapidement défecté pour former une ligne selon l'axe OX à l'aide d'un défecteur électromécanique ou acoustooptique. L'image de cette ligne est ensuite projetée sur la fente d'entrée d'un monochromateur à l'aide d'une optique à grande ouverture. Le détecteur est un photomultiplicateur dont le signal

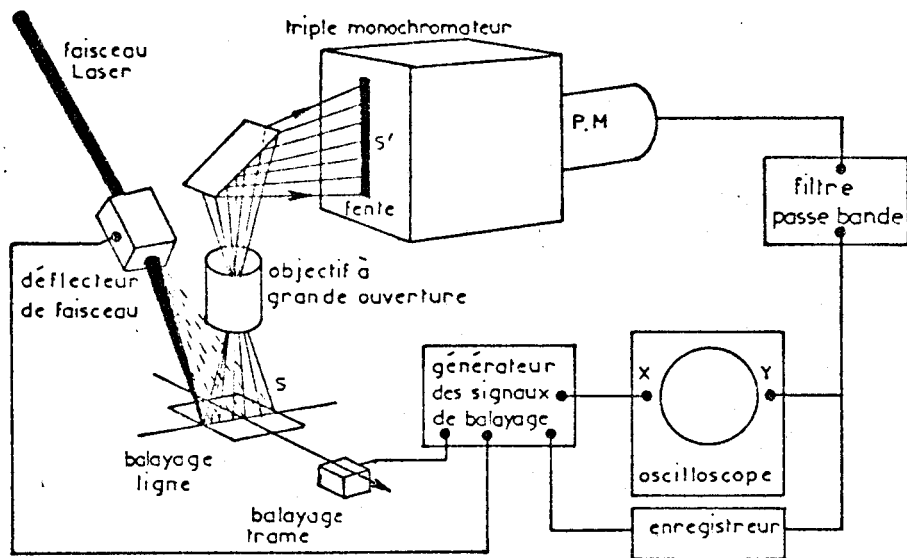


Fig. 8 : Analyse ponctuelle de l'échantillon et détection monocanale.

de sortie amplifié et filtré peut soit alimenter un enregistreur à plume ou moduler en intensité le faisceau électronique d'un tube cathodique dont les systèmes de déflexions horizontale et verticale sont respectivement en parfait synchronisme avec la déflexion du faisceau laser et le mécanisme de déplacement du support d'échantillon selon l'axe OY (balayage trame).

- L'arrêt du balayage en un point déterminé de la surface permet l'analyse locale par enregistrement du spectre Raman.

- Le balayage de la surface, le spectromètre étant calé sur une raie Raman caractéristique d'une des substances contenues dans l'échantillon, permet la reconstruction d'une image donnant la répartition de cette substance. Notons que dans ce dernier cas, il est préférable d'accumuler un grand nombre d'images résultant chacune d'un balayage rapide de la surface de l'échantillon. Outre l'élimination des bruits de basses fréquences qui améliore le rapport signal/bruit, le balayage de la surface assure une protection efficace contre les phénomènes de décomposition photochimique ou thermique.

b - Analyse ponctuelle ou globale de l'échantillon associée avec une détection monocanale ou multicanale :

Cette technique est illustrée par la figure 9. L'échantillon est placé sur un support permettant son positionnement précis.

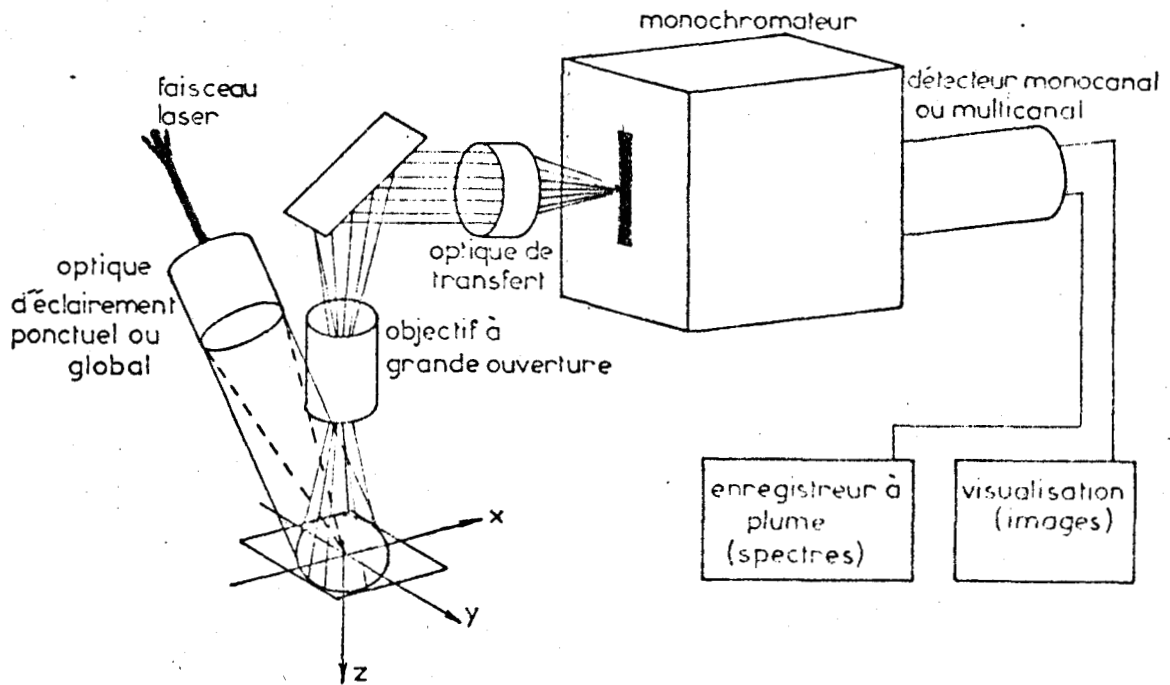
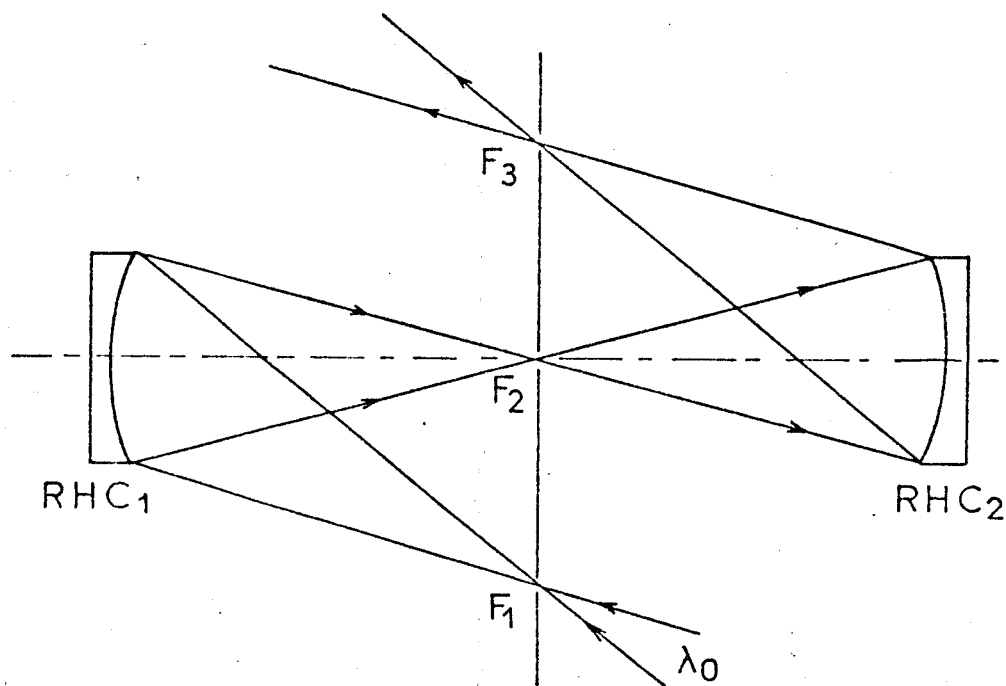


Fig. 9 : Analyse ponctuelle ou globale de l'échantillon et détection monocanal ou multicanal.

La surface analysée peut être :

- soit éclairée dans son ensemble. L'image de cette surface obtenue à l'aide d'un objectif à grande ouverture est alors formée sur la photocathode d'un tube analyseur d'images au travers d'un monochromateur utilisé en filtre passe-bande que l'on ajuste sur une raie Raman caractéristique d'une des substances contenues dans l'échantillon. On obtient ainsi une image donnant la répartition de cette substance.

- soit éclairée en un point. Le monochromateur fonctionnant en spectromètre sert alors à l'analyse spectrale du rayonnement diffusé, le détecteur étant un photomultiplicateur dont le signal de sortie alimente un enregistreur à plume. Ce mode de fonctionnement permet l'analyse locale de l'échantillon. Notons que cette technique pourrait être notablement simplifiée par l'emploi d'un laser à colorant à longueur d'onde variable et d'un filtre optique à longueur d'onde fixe, l'observation se faisant à cette longueur d'onde pour la diffusion Raman. Chaque espèce serait caractérisée dans ce cas par le choix de la longueur d'onde de la raie émise par le laser.



RHC₁ et RHC₂: Réseaux holographiques concaves corrigés des aberrations pour la longueur d'onde λ_0

Fig. 10 : Filtre optique corrigé des aberrations pour la longueur d'onde λ_0 .

Malheureusement, des filtres optiques du type interférentiel possédant un taux de lumière parasite suffisamment bas n'existe pas sur le marché. Cependant, il faut noter qu'il est maintenant possible de réaliser de tels filtres à partir de réseaux holographiques concaves fixes fonctionnant à une longueur d'onde pour laquelle la correction des aberrations peut être très bonne (fig. 10).

c - Autres techniques :

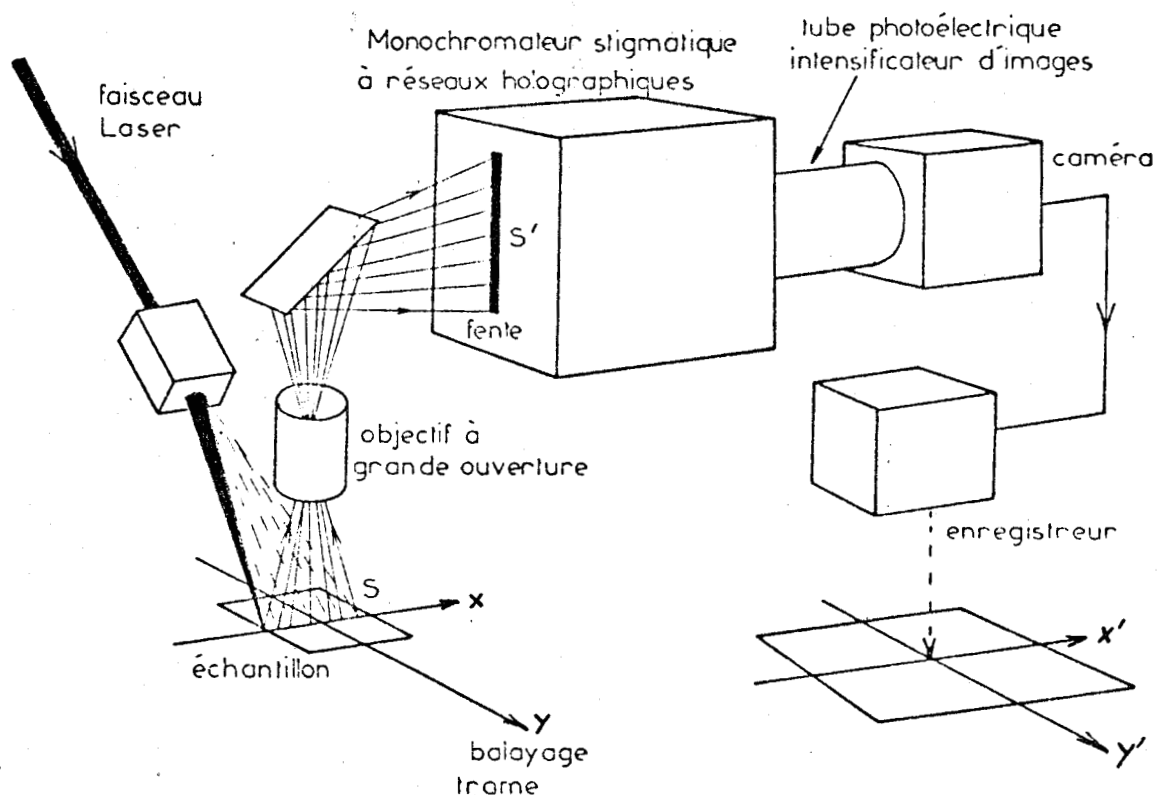


Fig. 11 : Analyse ligne par ligne de l'échantillon et détection multicanale.

Toute combinaison des méthodes précédemment décrites peut être envisagée. Par exemple, le faisceau laser focalisé en un point de la surface est rapidement défecté ou transformé par une optique cylindrique pour former sur la surface de l'échantillon une ligne (selon OX) dont l'image est projetée sur la fente d'entrée d'un monochromateur (fig. 11). L'image de la fente de sortie, formée sur la photocathode d'un tube analyseur d'images subit une translation en parfait synchronisme avec le déplacement de l'échantillon selon OY. Cette translation permet la reconstruction de l'image à partir d'une raie Raman sélectionnée par le monochromateur. L'arrêt du balayage ou la commutation d'une optique permettant l'éclairement ponctuel de l'échantillon permet l'analyse locale.

d - Choix d'une technique :

Quelques essais préliminaires concernant notamment l'éclairement de l'échantillon (analyse ponctuelle avec balayage et analyse globale) et la possibilité d'utiliser un monochromateur pour transmettre des images nous ont permis à la fois de tester la faisabilité des solutions envisagées et de nous faire une idée de la complexité des moyens nécessaires à leur mise en oeuvre.

La figure 12 montre le résultat obtenu lors de l'analyse selon une ligne de balayage de la surface d'un échantillon test constitué de particules de bichromate de potassium dispersé dans du soufre. Les traces obtenues sur l'écran de l'oscilloscope selon que le monochromateur est calé sur une raie caractéristique du soufre ou du bichromate sont parfaitement complémentaires. Cependant les moyens mis en jeu sont complexes (déflecteur électrooptique, électroniques de synchronisation) et il faut signaler

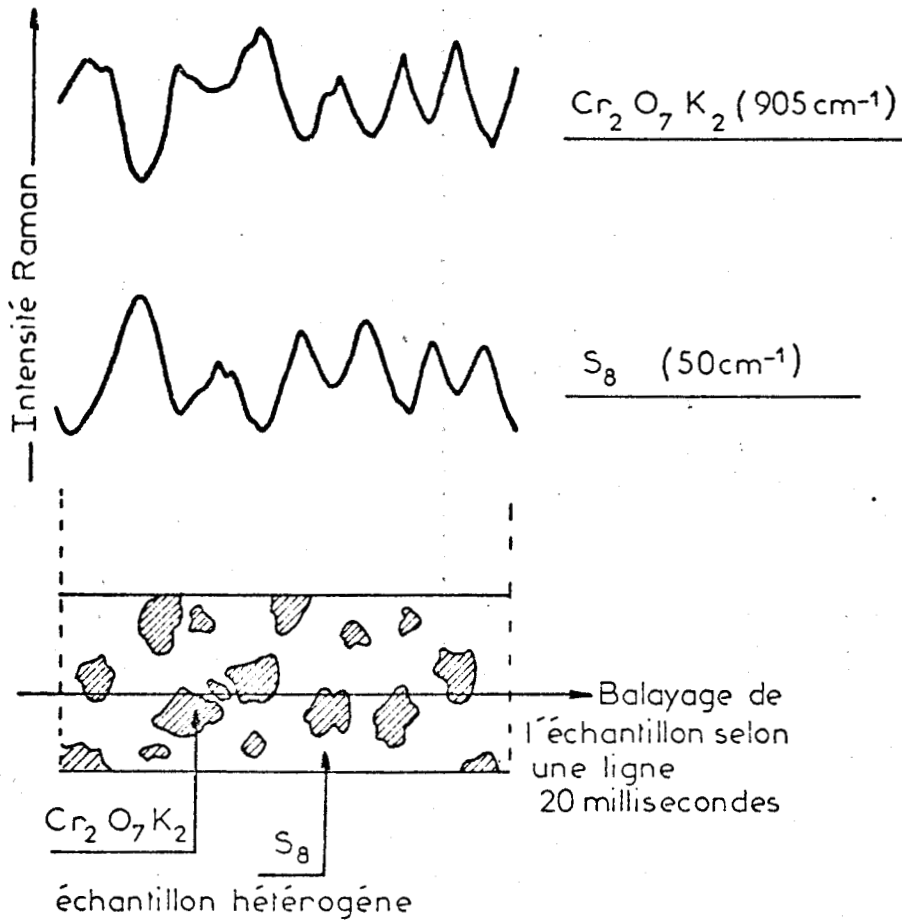


Fig. 12 : Analyse à l'oscilloscope des signaux Raman pour une ligne de balayage.

dans ce cas que la résolution spatiale n'est pas limitée par la tâche de diffraction du faisceau laser mais par la déflexion même du faisceau qui provoque une distorsion au point de focalisation (variation du diamètre de la tâche de focalisation, écart à la linéarité du balayage). La correction de cette distorsion exige l'emploi d'optiques spéciales coûteuses (lentilles $F\theta$ (19), miroirs paraboliques).

La figure 13 montre les résultats obtenus en utilisant un petit monochromateur à réseau holographique concave pour transmettre des images selon le montage décrit figure 14. Un miroir dont la surface comportait de fines rayures et des défauts, éclairé par une lampe à vapeur de mercure servait d'échantillon.

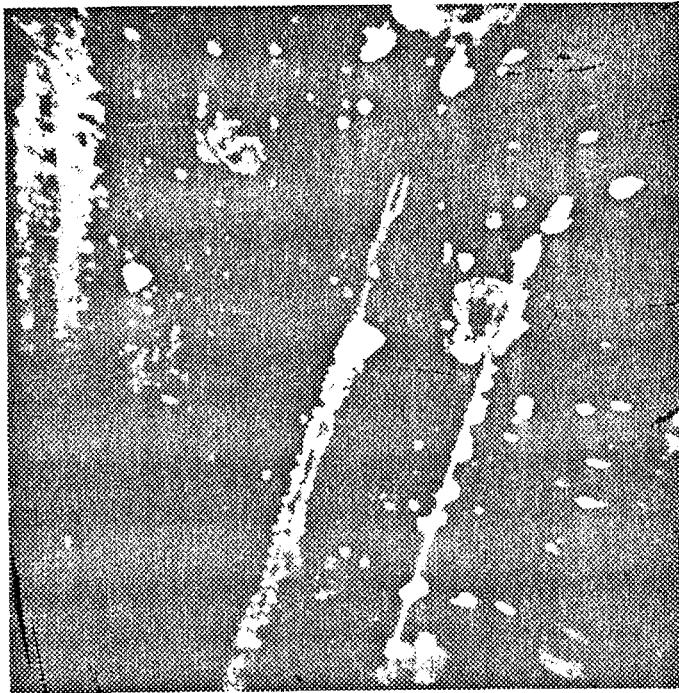
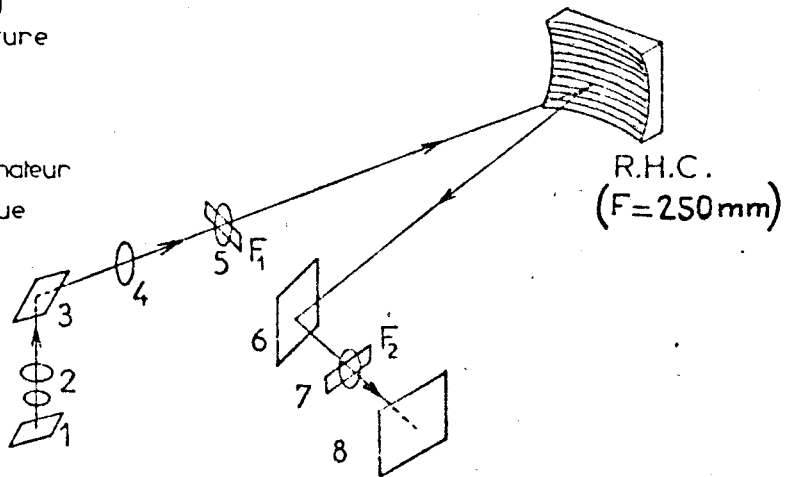


Fig. 13 : Image d'un miroir comportant de fines rayures et des défauts, transmises par un petit monochromateur à réseau holographique. (546 nm)

- 1: échantillon (miroir rayé)
- 2: optique à grande ouverture
- 3, 6: miroirs de renvoi
- 4, 5, 7: lentilles
- 8: film plan sensible
- F_1, F_2 : fentes du monochromateur
- R.H.C.: réseau holographique concave



Dans ce montage, l'échantillon, la surface du réseau et le film plan sont optiquement conjugués.

Fig. 14 : Montage permettant l'utilisation d'un monochromateur pour transmettre des images.

L'excellente qualité des images transmises prouve la validité de ce montage optique qui, à notre avis, n'a jamais été décrit dans la littérature. Le chromatron décrit par M. Bonnet et G. Courtes en 1968 (20), permettant l'analyse chromatique d'objets, bien qu'utilisant un monochromateur à réseau, diffère notamment en ce qui concerne la position des images et des pupilles de l'instrument.

Les moyens mis en jeu ici sont simples et en respectant certaines conditions dans le transfert des images (dimensions pupillaires) la résolution spatiale n'est ici limitée que par la qualité de l'optique recueillant la lumière (correction des aberrations).



Analyse de l'échantillon	Moyens mis en jeu pour l'excitation et leur complexité	Caractéristiques spéciales du monochromateur employé pour l'analyse du rayonnement diffuse	Détection	Moyens mis en jeu pour la restitution d'une image	Rapidité de l'analyse	Possibilité d'obtention du profil d'intensité selon une droite choisie dans l'échantillon
Analyse ponctuelle avec balayage	point par point	Non	monocanale	circuits électroniques de synchronisation des balayages	lente	Oui
	ligne par ligne	Oui doit être stigmatique	multicanale	complexité importante	lente	
Analyse ponctuelle statique	optiques ↓ aucune complexité	Non	monocanale	restitution possible par déplacements contrôlés de l'échantillon complexité importante →	très lente	Oui
Analyse globale	optiques ↓ aucune complexité	Oui doit être capable de transmettre des images	multicanale	moyens électrooptiques simples	rapide	Oui

Tableau II

Résumé des méthodes proposées pour la microanalyse des échantillons et rappel des moyens nécessaires à leur mise en oeuvre.

Dans le tableau II, nous avons résumé les principales méthodes d'analyse de l'échantillon ainsi que les moyens mis en jeu en soulignant leur complexité.

Compte-tenu des essais préliminaires que nous avons effectués et des moyens dont nous disposions, nous avons finalement retenu la solution décrite paragraphe III.B.b qui associe l'éclairement ponctuel pour l'analyse locale de l'échantillon et l'éclairement global pour la formation d'images sélectives.

Cette solution présentait le double avantage de ne faire appel qu'à un montage optique pour l'éclairement de l'échantillon ainsi que pour la formation d'images et d'utiliser un matériel déjà bien étudié au laboratoire (21).

- CHAPITRE II -

ÉTUDE ET RÉALISATION D'UN PROTOTYPE DE LABORATOIRE D'UNE MICROSONDE RAMAN

Nous avons vu au chapitre précédent qu'un instrument destiné à l'analyse de microéchantillons par effet Raman devait être pourvu :

- d'un système de positionnement, de visualisation et d'illumination de l'échantillon par la source laser
- d'une optique à très grande ouverture adaptée au monochromateur permettant de recueillir le maximum de lumière diffusée
- d'un monochromateur possédant un très bas taux de lumière parasite et une transmission la plus élevée possible
- d'un ou plusieurs systèmes de détection très sensibles.

Nous nous proposons dans ce chapitre de montrer comment les éléments qui ont conduit à la réalisation d'une Microsonde à effet Raman ont été choisis et étudiés pour répondre aux spécifications précédemment énoncées et permettre aussi bien l'analyse locale ponctuelle que la formation d'images sélectives.

Deux instruments ont été réalisés au laboratoire. Nous ne décrirons que le second qui est véritablement un instrument de laboratoire directement utilisable.

I - CHOIX DES ELEMENTS CONSTITUTIFS :

A - Choix d'un système de positionnement, de visualisation et d'illumination de l'échantillon - Recueil de la lumière diffusée.

Nous avons pensé que le meilleur système permettant d'assurer ces fonctions pour l'analyse de microéchantillons était encore l'outil du microscopiste : le microscope optique. En effet, muni de ses différents moyens d'éclairage (fond clair - fond noir), il permettra l'illumination de l'échantillon en lumière blanche ou par le faisceau laser.

Les objectifs de microscope étant des optiques à grande ouverture, très bien corrigées des aberrations, pourront alors servir aussi bien à la reconnaissance morphologique de l'échantillon et au repérage de la

zone analysée, qu'au recueil de la lumière diffusée et la formation d'images à partir d'une raie Raman.

Le problème était alors de calculer des optiques de transfert appropriées.

Après essais comparatifs, nous avons choisi d'utiliser pour notre prototype de laboratoire un microscope WILD modèle M₁₂ car il se prêtait particulièrement bien à l'usage que nous voulions en faire. Il dispose en effet :

- d'une "boîte à lumière" qui permet de passer instantanément de l'éclairage fond clair à l'éclairage fond noir ;
- d'un répartiteur de faisceaux autorisant une sortie latérale de la lumière diffusée par l'échantillon.

La figure 15 montre le chemin optique suivi par la lumière dans les deux modes d'éclairage et d'observation.

- *en fond clair*, c'est l'objectif qui sert à la fois à focaliser le faisceau et à recueillir la lumière diffusée ou réfléchie ;
- *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'é-

clairement est donc parfaitement adapté à l'observation d'images à partir d'une raie de diffusion Raman puisque les faisceaux excitateur et diffusé sont totalement séparés.

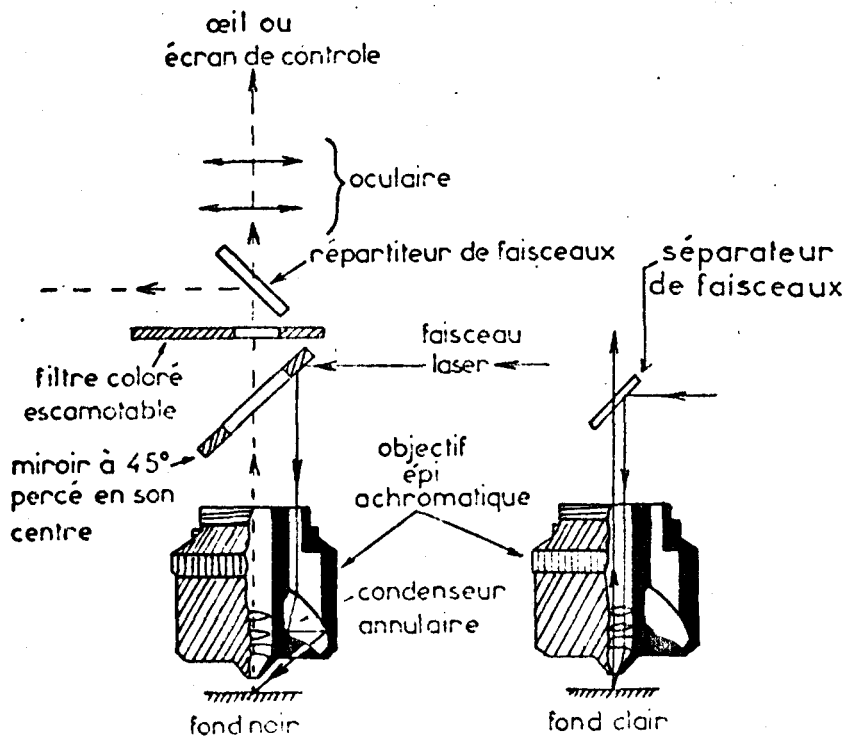


Fig. 15 : Chemin optique suivi par la lumière dans les deux modes d'éclairage et d'observation.

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 l'échantillon sur un écran de contrôle.

L'autre est envoyé vers le monochromateur pour l'analyse du rayonnement diffusé. Un jeu de lames séparatrices (répartiteur de faisceaux) permet de choisir le rapport des intensités des deux faisceaux dans les proportions 0/1 ; 0,25/0,75 ; 1/0.

Sur la tourelle du microscope sont montés 4 objectifs épiachromatiques (épiscopiques, corrigés des aberrations de chromaticité) à champ plan.

x 4	0.N	0,10	(F/5)
x 10	0.N	0,25	(F/1,9)
x 20	0.N	0,45	(F/0,99)
x 40	0.N	0,65	(F/0,58)

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

Un jeu de filtres colorés escamotables peut être placé après l'objectif. Il permet l'observation visuelle, directe au travers d'un oculaire de la zone éclairée par le faisceau laser, ce qui permet éventuellement l'observation de l'échantillon en microscopie de fluorescence.

B - Illumination de l'échantillon.

a) *Eclairement global de la surface de l'échantillon - Problèmes posés et solution adoptée.*

La détectivité des images obtenues à partir d'une raie Raman ainsi que leur qualité dépendra beaucoup de l'éclairement de l'échantillon. Il est impératif à la fois de minimiser les pertes de lumière dans le dispositif d'éclairement et de rendre ce dernier le plus uniforme possible.

Nous utilisons pour minimiser la lumière directement réfléchie en direction de l'objectif du microscope, le dispositif d'éclairement en fond noir. Dans ce type d'illumination, l'optique adaptée à l'ouverture numérique de l'objectif en service est le condenseur annulaire qui lui est associé. A ce condenseur est couplée toute une optique qui permet d'éclairer uniformément le champ objet de l'objectif du microscope.

Pour éclairer la préparation à partir d'un faisceau laser, nous avons modifié cette optique en ne conservant que le miroir percé en son centre et le condenseur annulaire. Le système d'éclairement épiscopique ainsi réduit peut être schématisé par une lentille dont le centre est masqué (fig. 16).

Il a les caractéristiques suivantes :

- il admet un faisceau divergent en forme de manchon conique ;

- au champ objet (plan P_2) correspond une zone optiquement conjuguée située dans un plan P_1 . L'éclairage obtenu au niveau de l'échantillon sera analogue à celui du plan P_1 .

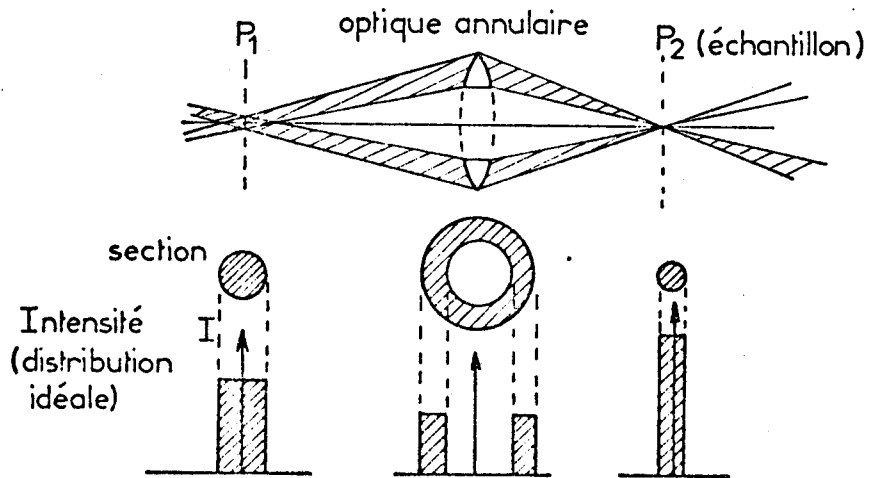


Fig. 16 : Schéma optique simplifié du système d'éclairage épiscopique

Une première constatation est que l'on ne peut envoyer le faisceau laser directement sur le miroir d'entrée du système d'éclairage. En effet la section du faisceau est trop petite pour couvrir l'optique annulaire et seule une fraction très réduite du champ vu par l'objectif est éclairée. Il en résulte qu'il faut modifier la géométrie du faisceau laser incident 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. 17). En effet, la partie centrale du faisceau est occultée et la lumière correspondante ne peut parvenir sur l'échantillon. De plus, du fait de la distribution gaussienne de l'intensité émise par un laser, l'échantillon ne peut recevoir qu'une fraction minime de la puissance initiale et est éclairé de façon inhomogène.

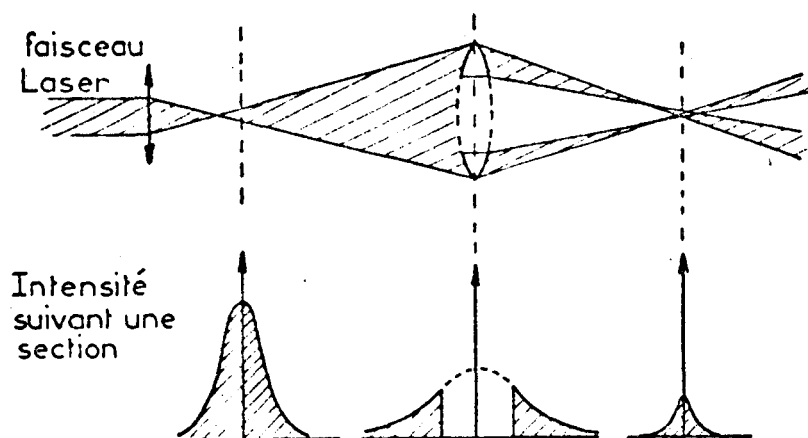


Fig. 17 : Utilisation d'un extenseur de faisceau

Il faut donc utiliser un système spécialement conçu pour transformer un faisceau cylindrique en un manchon conique. Un tel système a déjà été décrit dans la littérature et s'appelle le Reflaxicon (axiconic reflector) (22). Ce dispositif est constitué de deux miroirs coniques coaxiaux (fig. 18). 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 .

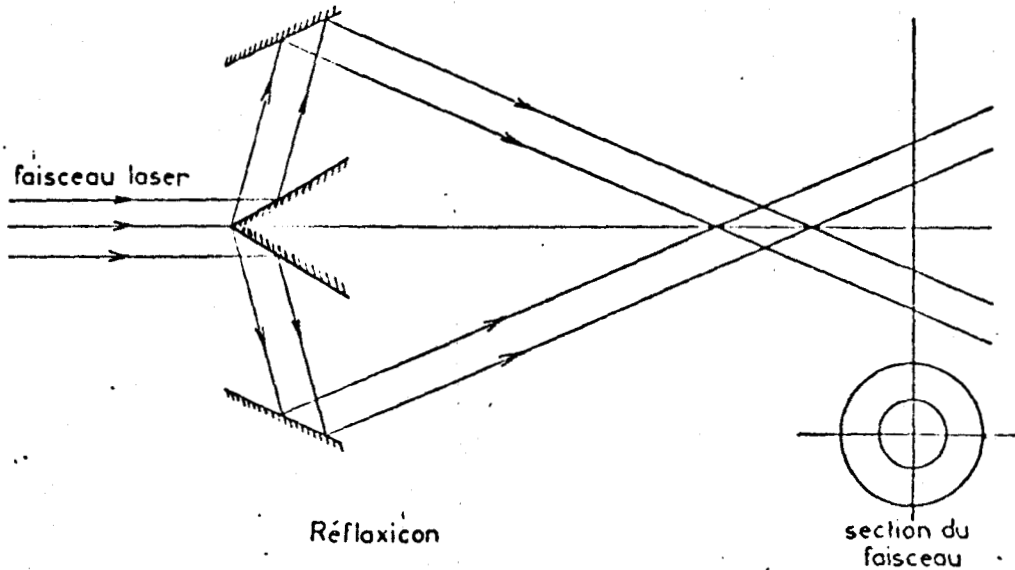


Fig. 18 : Marche des faisceaux dans un Réflexicon convergent.

Nous avons donc repris le calcul d'un reflexicon convergent afin de déterminer dans quelles conditions il serait possible de l'utiliser.

La figure 19 montre quels sont les paramètres utilisés pour le calcul du rayon moyen d'un faisceau traversant le reflexicon.

Le calcul ne fait appel qu'à l'optique géométrique et nous n'en donnerons que les principaux résultats.

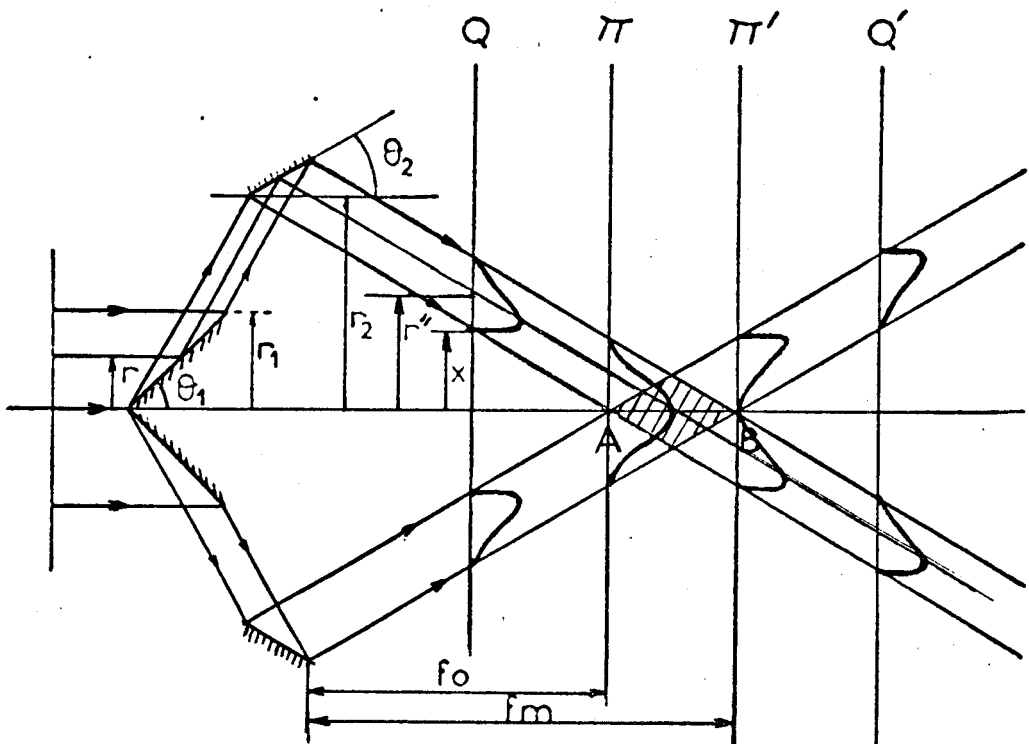


Fig. 19 : Paramètres du Reflaxicon. Eclaircissement en différents plans perpendiculaires à l'axe optique.

Les focales du reflaxicon pour les rayons marginaux ont pour expression :

$$f_o = \frac{r_2 - r_1 b}{\text{tg } 2 (\theta_1 - \theta_2)} \quad \text{et} \quad f_m = \frac{r_2 + r_1 a}{\text{tg } 2 (\theta_1 - \theta_2)}$$

$$\text{avec : } a = \frac{\sin \theta_2}{\sin (2\theta_1 - \theta_2)} \quad b = \frac{\cos \theta_2 \cdot \operatorname{tg} 2 (\theta_1 - \theta_2)}{\sin (2\theta_1 - \theta_2)}$$

Dans un plan quelconque à la sortie du reflexicon, la hauteur d'un rayon moyen par rapport à l'axe s'écrit :

$$r'' = (a + b) r + x \text{ pour un plan placé avant la focalisation (plan Q) avec}$$

$$0 \leq x \leq (r_2 - r_1 \cdot b)$$

$$r'' = (a + b) R + x \text{ pour un plan placé après la focalisation (plan Q')} \text{ avec}$$

$$x \geq 0 \text{ et } 0 \leq R = (r_1 - r) \leq r_1$$

L'intérêt de ce calcul est de pouvoir déterminer l'effet que peut avoir un tel système sur la distribution d'intensité donc l'éclairement dans un plan donné. Cet effet sera de nature purement géométrique (on néglige les phénomènes de diffraction dûs aux ouvertures) car la variation d'éclairement ne provient que de la variation de section du faisceau traversant le système.

A l'absorption près sur les surfaces des miroirs, on peut écrire :

$$E_{(r)} \delta S_{(r)} = E_{(r'')} \delta S_{(r'')} \quad (\text{conservation du flux})$$

E est l'éclairement en chaque point distant de r ou r'' de l'axe optique

soit :

$$\frac{E_{(r'')}}{E_{(r)}} = \frac{\delta S_{(r)}}{\delta S_{(r'')}} = \frac{r \cdot dr}{r'' \cdot dr''}$$

et dans un plan après la sortie du reflexicon, compte-tenu de l'expression de r'' en fonction de r et x :

$$E_{(r'')} = \frac{r}{(a+b)^2 r + (a+b)x} \cdot E_{(r)} \text{ plan (Q)}$$

$$E_{(r'')} = \frac{R}{(a+b)^2 R + (a+b)x} \cdot E_{(r)} \text{ plan (Q')}$$

Pour le cas particulier des plans π et π' contenant les focales (points A et B), on a simplement ($x = 0$) :

$$E_{(r'')} = \frac{E_{(r)}}{(a+b)^2}$$

r'' variant de 0 à $(a+b) \cdot r_1$ (plan π) ou de $(a+b) \cdot r_1$ à 0 (plan π') lorsque r varie de 0 à r_1 .

Sur la figure 19, nous avons également représenté l'éclairement en différents plans perpendiculaires à l'axe optique, calculé pour une distribution gaussienne de l'intensité du faisceau laser.

Cette figure montre que le reflexicon peut être utilisé et la meilleure configuration du système serait celle où le plan π est conjugué du plan P_2 de la surface de l'échantillon (fig. 20). La zone entre les points A et B, étant une zone d'interférences, est inutilisable.

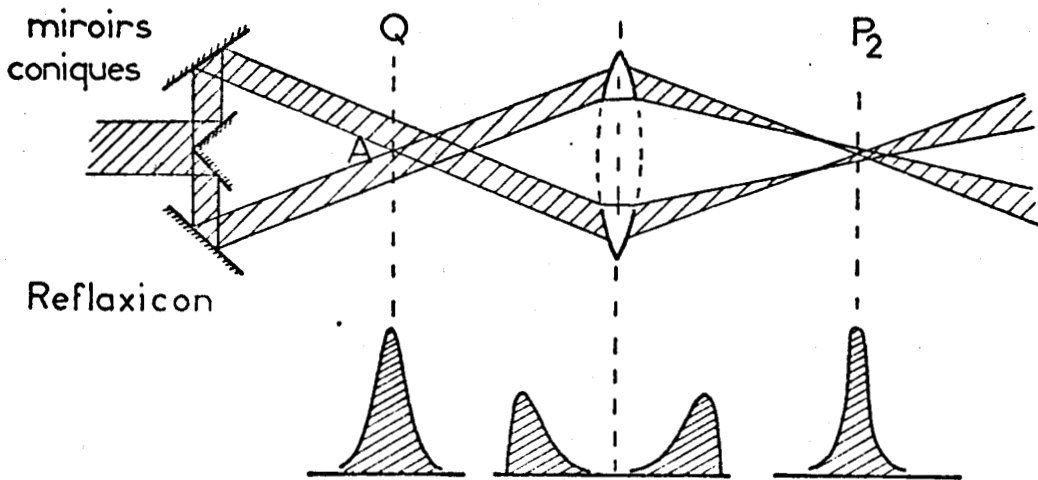


Fig. 20 : Utilisation d'un reflexicon convergent.

Ce dispositif peut conduire à un éclairage de la zone observée avec une distribution gaussienne de l'éclairement.

Cependant nous n'avons pas retenu ce système ou tout autre système analogue tel que les lentilles axicon (23) car ils présentent deux inconvénients importants :

- premièrement, les angles des cônes sont fixes et il faut calculer la géométrie particulière la mieux adaptée à l'optique annulaire du microscope sans possibilités d'ajustements ultérieurs, ni de transposition à un autre type d'éclairage épiscopique (à faisceaux incidents parallèles par exemple) ;
- deuxièmement, les images observées lorsque l'échantillon est éclairé à l'aide d'un tel système sont affectées par le phénomène de granularité laser ("speckle noise").

Nous avons finalement envisagé une solution plus simple qui consiste à faire dévier le faisceau laser par un montage à deux miroirs plans réglables fixés sur un même support (fig. 21). 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.

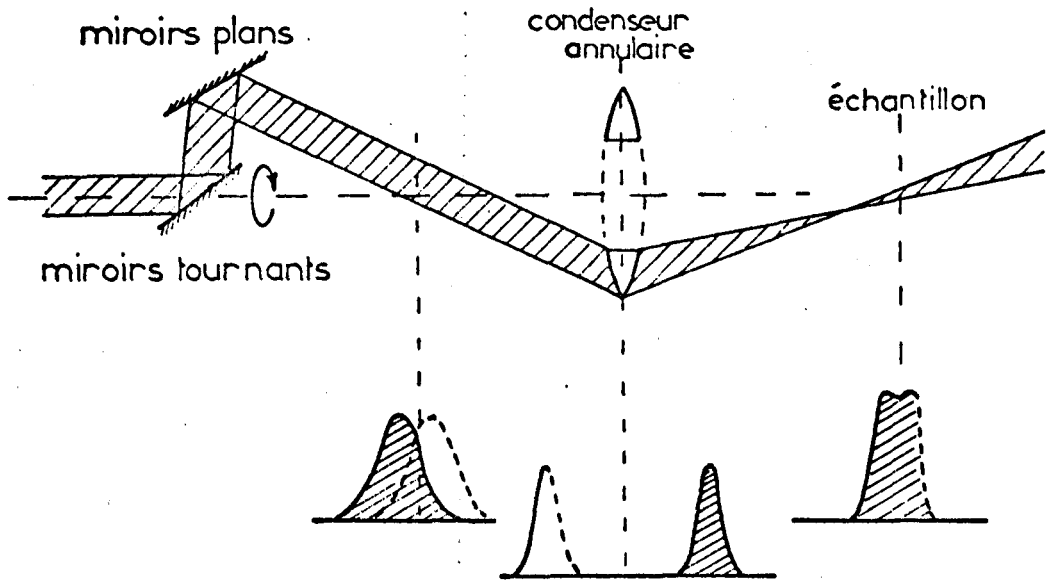


Fig. 21 : Utilisation de miroirs tournants.

On obtient ainsi très facilement un éclairage satisfaisant de l'échantillon en ajustant à la fois la focalisation du système par rapport au plan P_1 et l'angle d'attaque de l'optique annulaire.

La figure 22 montre le trajet du faisceau à la sortie de l'optique annulaire pour les objectifs 10 X et 20 X. La figure 23 montre que l'éclairage obtenu dans le plan objet est uniforme lorsque la préparation est éclairée par le faisceau tournant. L'objet est une lame micromètre (un trait tous les dix microns). La figure représente l'enregistrement au microdensitomètre de l'image obtenue après avoir placé un film dans le plan image intermédiaire. L'objectif en service était de grandissement 20, un résultat

analogue s'obtient pour l'objectif 40 X. Ce système présente en outre l'avantage sur le système statique de supprimer la granularité laser dans les images obtenues.

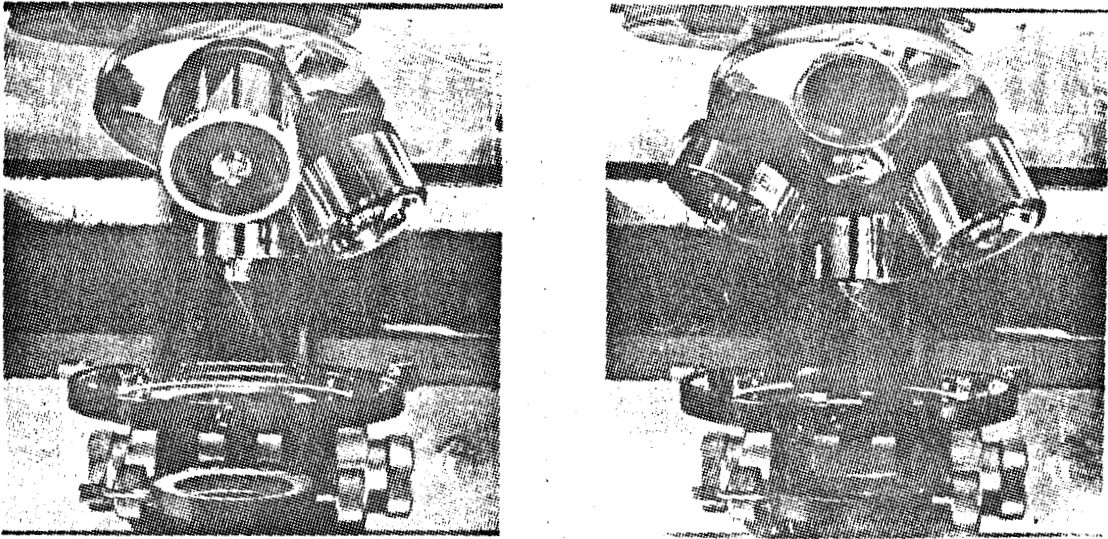
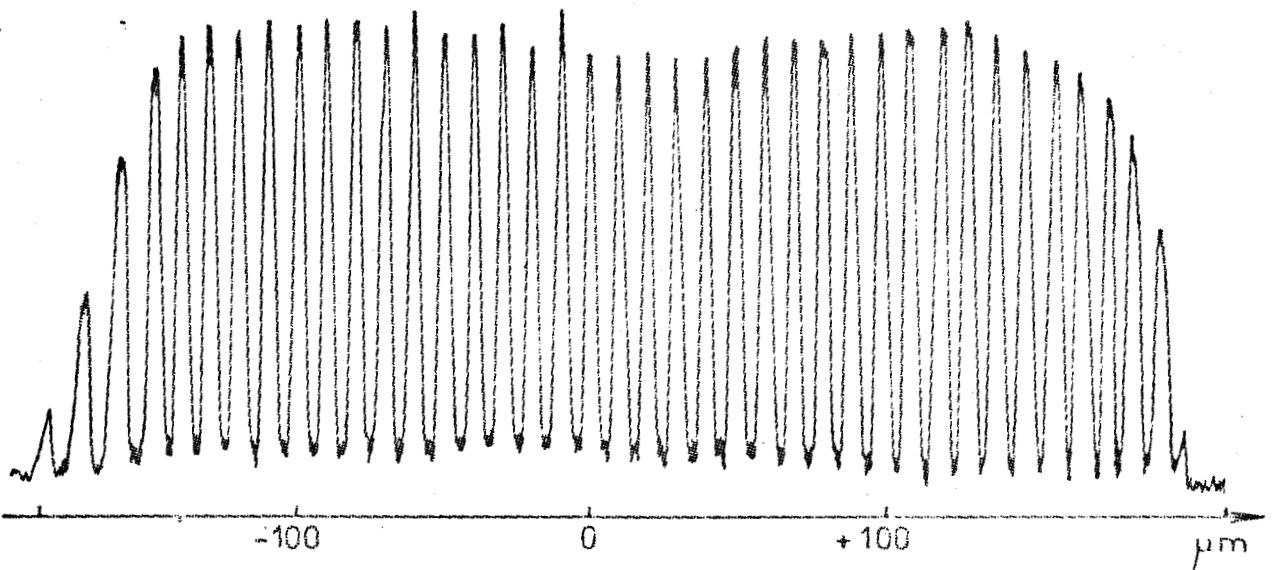


Fig. 22 : Trajet du faisceau laser à la sortie de l'optique annulaire des objectifs 10 X et 20 X.



INS
LILLE

Fig. 23 : Vérification de l'uniformité de l'éclairement de la préparation.

b) *Eclairage ponctuel de la surface de l'échantillon :*

En utilisant le dispositif d'illumination fond clair (éclairage de Kohler) que nous avons modifié, l'objectif de microscope permet de focaliser le faisceau laser en un point sur la surface de l'échantillon selon le principe suivant.

L'objectif de microscope (fig. 24) donne de la surface de la préparation (plan P), une image située dans le plan Q. En focalisant le faisceau laser à l'aide d'une optique dans ce plan (point P_1) le faisceau reconverge au niveau de l'échantillon au point P_2 , optiquement conjugué de P_1 .

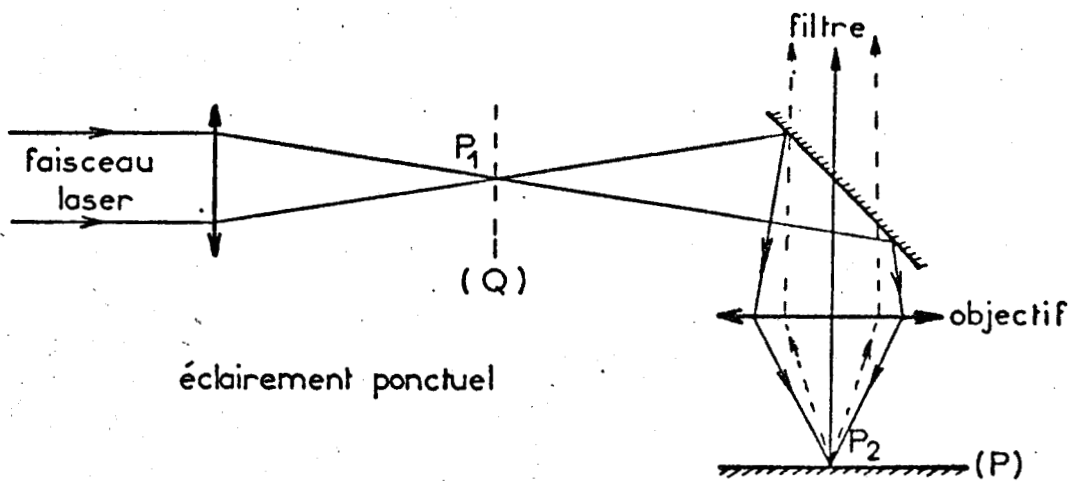


Fig. 24 : Schéma optique simplifié du système d'éclairage ponctuel.

Ainsi quel que soit le milieu traversé, le point de focalisation est toujours situé dans le plan de netteté de l'objectif en service. Ceci est un avantage certain dans le cas d'échantillons inclus dans un matériau car il suffit à l'opérateur de mettre au point sur la partie intéressante de l'objet pour être sûr de son éclairage correct. C'est donc le même objectif qui sert à focaliser le faisceau laser et à recueillir la lumière diffusée (rétro Raman).

Pour une distribution gaussienne de l'intensité du faisceau laser (mode TEM₀₀) le diamètre minimum que peut atteindre la tâche de focalisation est donnée par l'expression (24) :

$$d_0 = \frac{4 \cdot \lambda}{\pi \cdot \alpha}$$

où α est l'angle de focalisation que l'on détermine à partir de l'ouverture numérique de l'objectif. Ainsi pour l'objectif de grandissement 40 (O.N. = 0,65) et un laser à argon ionisé émettant la raie 0,5145 μm , la tâche de focalisation au niveau de l'échantillon aura un diamètre d'environ 0,5 μm si la pupille de l'objectif est entièrement couverte par le faisceau.

Avec ce type d'éclairage; il y a risque de destruction par échauffement pour certains échantillons particulièrement absorbants ou fragiles. Nous reviendrons sur ce problème dans un prochain paragraphe. Ce type d'éclairage ponctuel par l'objectif, bien que très commode, n'est pas

le seul envisageable et il est possible d'utiliser soit le condenseur du microscope, soit une optique associée à un jeu de miroirs pour observer l'effet Raman longitudinal ou selon un angle prédéterminé.

C. - Le monochromateur ou filtre optique :

Les caractéristiques essentielles du filtre optique doivent être :

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

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 grande surface 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, et d'augmenter ainsi la luminosité du monochromateur.

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 (25). Quelques résultats concluants ont été ainsi obtenus à partir d'un monochromateur à un seul étage (26). La figure 25 montre l'aspect du montage réalisé au laboratoire. Cependant, 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,

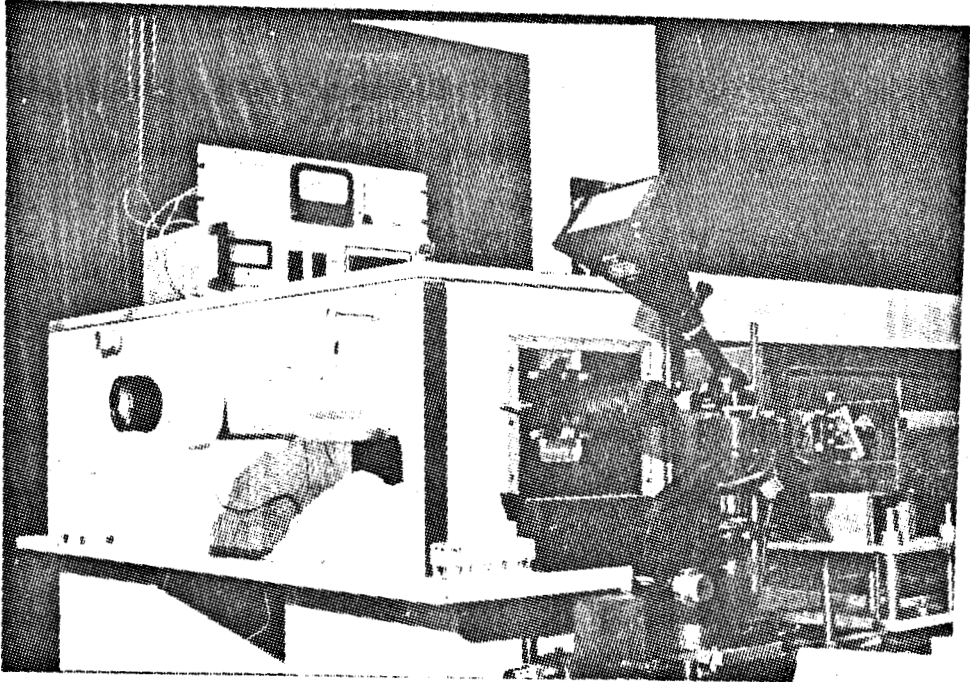


Fig. 25 : Vue d'ensemble du premier montage réalisé au laboratoire.

deux montages sont possibles :

a) *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

spectrographie 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 seul de conserver une résolution spectrale suffisante.

b) *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 raies voisines nécessite l'emploi d'une fente intermédiaire étroite. Or une telle fente entraînerait une dégradation des images car lorsque le système fonctionne en "Microscope Raman", les pupilles sont au niveau des fentes.

Nous avons donc retenu la solution d'un filtre constitué par deux étages monochromateurs identiques couplés en montage additif (fig. 26). Chaque étage comporte un réseau holographique concave de 2000 traits/mm, de focale sensiblement égale à 1 m, ouvert à $f/10$ et utilisé en montage Littrow (auto-collimation). La dispersion réciproque calculée est de $8,5 \text{ cm}^{-1}/\text{mm}$ à $\lambda = 0,5 \text{ }\mu\text{m}$. La rotation des réseaux se fait à l'aide de

deux barres cosécantes couplées. Un codeur électromécanique permet un affichage numérique des nombres d'onde Raman. L'ouverture des fentes est réglable de façon continue de 0 à 20 mm.

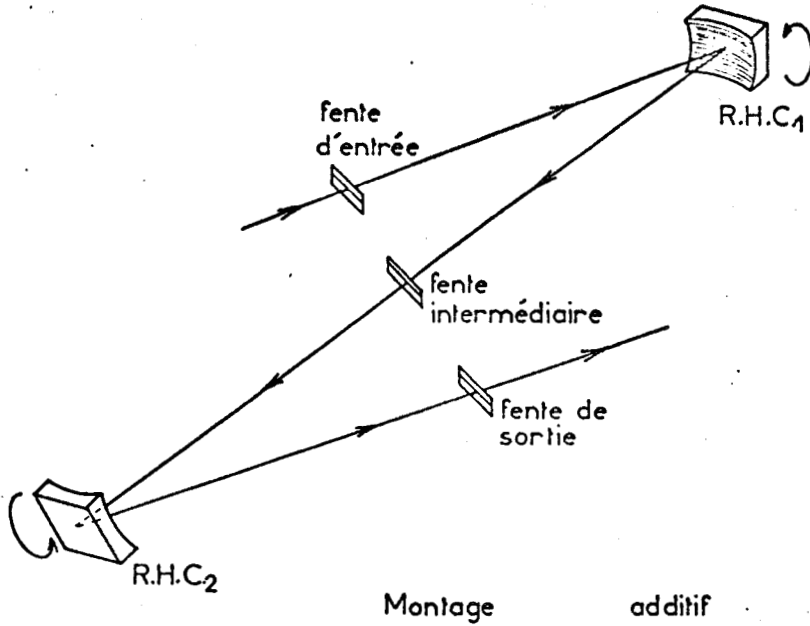


Fig. 26 : Schéma optique du filtre optique à deux réseaux holographiques concaves.

D. - La détection :

a) - Détection multicanalè

1) Choix d'un récepteur :

La formation d'images micrographiques au niveau du détecteur à partir d'une raie Raman impose l'utilisation de récepteurs multicanaux. Un ré-

cepteur idéal devrait posséder une grande sensibilité, une résolution élevée, un bruit propre faible et restituer instantanément l'information reçue. Malheureusement, ces propriétés de par la conception et la réalisation des récepteurs multicanaux sont contradictoires.

On distingue essentiellement trois grandes classes de récepteurs pouvant répondre à ce type de problème :

- les récepteurs photographiques (émulsions argentiques). Ils ont une sensibilité faible avec existence d'un seuil et diminuant rapidement vers le rouge à partir de 5500 Å. Ils possèdent une excellente résolution (100 à 500 paires de lignes/mm) et un bruit (granularité) qui peut être très faible, mais ils présentent le défaut de non linéarité photométrique. Ils conviennent parfaitement pour l'enregistrement à long temps de pose.

- Les tubes à enregistrement photographique d'électrons encore appelés récepteurs électronographiques (caméra électronique de Lallemand (27) ou le tube à fenêtre de mica de Mc Ghee (28)). Ils possèdent une bonne résolution de 60 à 120 paires de lignes/mm et permettent d'obtenir par rapport aux récepteurs photographiques un gain en temps de pose de quelques dizaines (tube de Mc Ghee) à plusieurs centaines (caméra de Lallemand). Ces récepteurs sont peu bruyants car l'enregistrement des électrons sur plaque sensible augmente peu les fluctuations du bruit de photons incidents. Mais de par leur conception, leur mise en oeuvre est délicate (en particulier la caméra de Lallemand) et ils demeurent

des détecteurs lents ne permettant pas l'observation en temps réel.

- Les tubes intensificateurs d'images (amplificateurs de brillance en cascade ou tubes à dynodes multiplicatrices) (29). Ils possèdent un gain photonique élevé qui autorise l'observation en temps réel. L'information est restituée sur un écran fluorescent ce qui permet l'utilisation d'un détecteur secondaire susceptible de mémoriser ou d'exploiter l'information reçue. Cependant leur résolution est médiocre (20 à 30 paires de lignes/mm) et ils sont généralement bruyants (apparition à gain élevé de fluctuations statistiques provenant essentiellement des processus de multiplication d'électrons et des conversions électron-photon) et ont une dynamique faible. Par contre, ils sont d'une mise en oeuvre très aisée. Cette mise en oeuvre très aisée, la possibilité d'observer les phénomènes en temps réel (phénomènes évolutifs ou exploration spatiale rapide d'un échantillon et surtout l'acquis que possédait déjà le laboratoire concernant l'utilisation des tubes intensificateurs d'images ont été les arguments décisifs du choix de ce type de récepteur comme détecteur multicanal. Nous faisons référence ici aux travaux de M. Bridoux qui, depuis 1962, étudie et met au point au laboratoire les techniques de détection multicanale (30).

Pour pallier au manque de résolution de ces tubes, on peut bien sûr jouer sur l'optique de transfert associée au récepteur afin d'augmenter la taille de l'image au niveau du détecteur et choisir un tube possédant une photocathode de grande dimension. Cependant un compromis apparaît vite nécessaire si on ne veut pas réduire trop le champ transversal image

observable, ni diminuer la sensibilité. En effet, ces récepteurs sont sensibles à l'éclairement et pour un même flux le signal diminue lorsque l'on augmente la taille de l'image.

Finalement nous avons utilisé des tubes à trois étages à focalisation électrostatique (R.C.A. 4549 ou I.T.T. PF 403 KC) possédant une photocathode de 40 mm de diamètre et un gain photonique de 10^4 à 4600 \AA .

2) *Principe de fonctionnement et principales caractéristiques des tubes intensificateurs utilisés :*

Chaque étage (fig. 27) comporte une photocathode, une optique de focalisation électrostatique et un écran fluorescent. L'image optique est

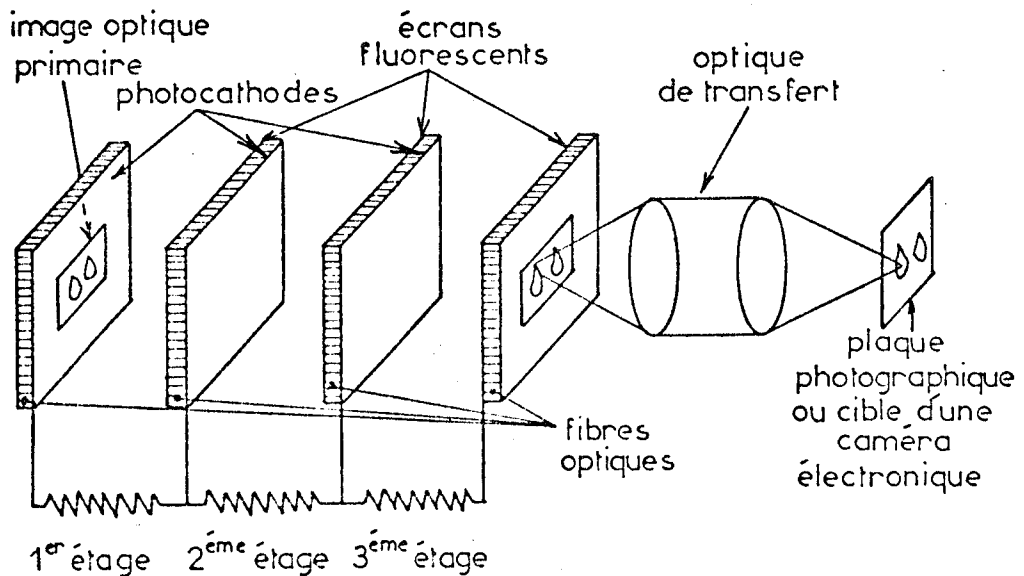


Fig. 27 : Schéma de principe d'un tube intensificateur d'images à trois étages à focalisation électrostatique.

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 premier étage, entre les étages, puis finalement entre l'écran fluorescent du troisième étage et la fenêtre de sortie se fait par fibres optiques.

Outre le gain photonique, les principales caractéristiques que nous devons connaître pour l'utilisation du tube en imagerie sont le grandissement, la distorsion et la résolution au niveau de la photocathode.

La résolution traduit la finesse des détails de l'image que le tube peut analyser sans dégradation. Toutefois cette grandeur ne peut servir à caractériser seule la limite de résolution spatiale du tube car son évaluation est fonction du contraste. Aussi utilise-t'on une autre grandeur, la fonction de transfert de modulation (F.T.M.).

Lorsque l'on projette sur la photocathode une mire composée de lignes alternativement blanches et noires de fréquence spatiale n (n paires de lignes/mm), apparaît sur l'écran fluorescent une image représentant cette mire.

La fonction de transfert de modulation a pour expression :

$$\text{F.T.M.} = \frac{\left(\frac{B - N}{B + N}\right)_s}{\left(\frac{B - N}{B + N}\right)_e}$$

où B est le maximum d'illumination pour la ligne blanche

N est le minimum d'illumination pour la ligne noire.

Les indices e et s correspondent respectivement à l'entrée du tube (projection de la mire sur la photocathode) et à la sortie (image de la mire sur l'écran fluorescent). Elle dépend de la fréquence spatiale.

Enfin, il faut tenir compte de la dynamique du tube dans le cas où des mesures photométriques sont nécessaires (profils d'intensité sur une image ou analyse d'un spectre). Pour ce type de tubes, la dynamique ne dépasse guère quelques dizaines et est fonction de l'éclairement de la photocathode.

La figure 28 résume les principales caractéristiques des tubes utilisés. Les courbes de la distorsion et de la fonction de transfert de modulation montrent qu'en pratique il faut limiter la partie utile de la photocathode à un cercle de 20 mm de diamètre et ne pas espérer une résolution spatiale supérieure à 25 paires de lignes/mm.

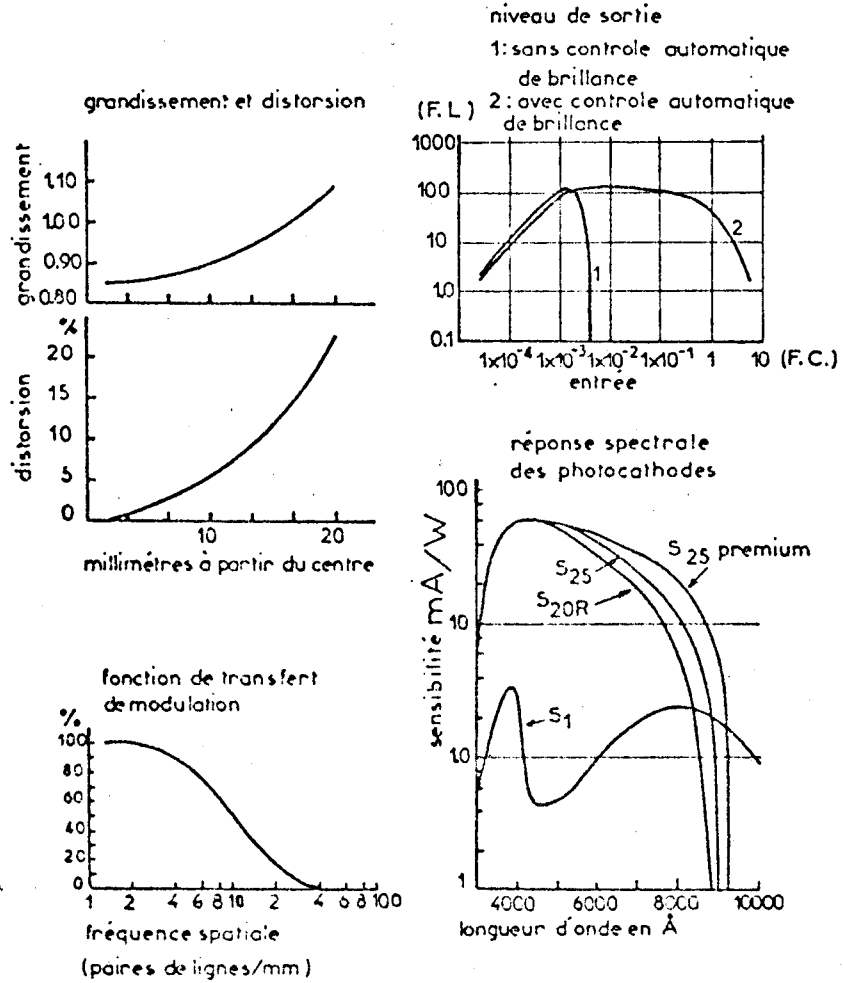


Fig. 28 : Principales caractéristiques des tubes intensificateurs utilisés.

3) Choix d'un récepteur secondaire :

Ce peut être une plaque photographique ou une caméra électronique de télévision pour bas niveau qui permet la traduction des informations photoniques en signaux électriques ce qui rend aisé leur exploitation ou leur traitement. De nombreuses études ont été réalisées au laboratoire

(31) sur ce type de récepteur et compte tenu de l'expérience ainsi acquise, nous avons retenu plus particulièrement l'utilisation de tubes analyseurs d'images à couche photoémissive (S.I.T. ou S.E.C.). Le principe en est le suivant (fig. 29) : la photocathode émet des électrons qui sont

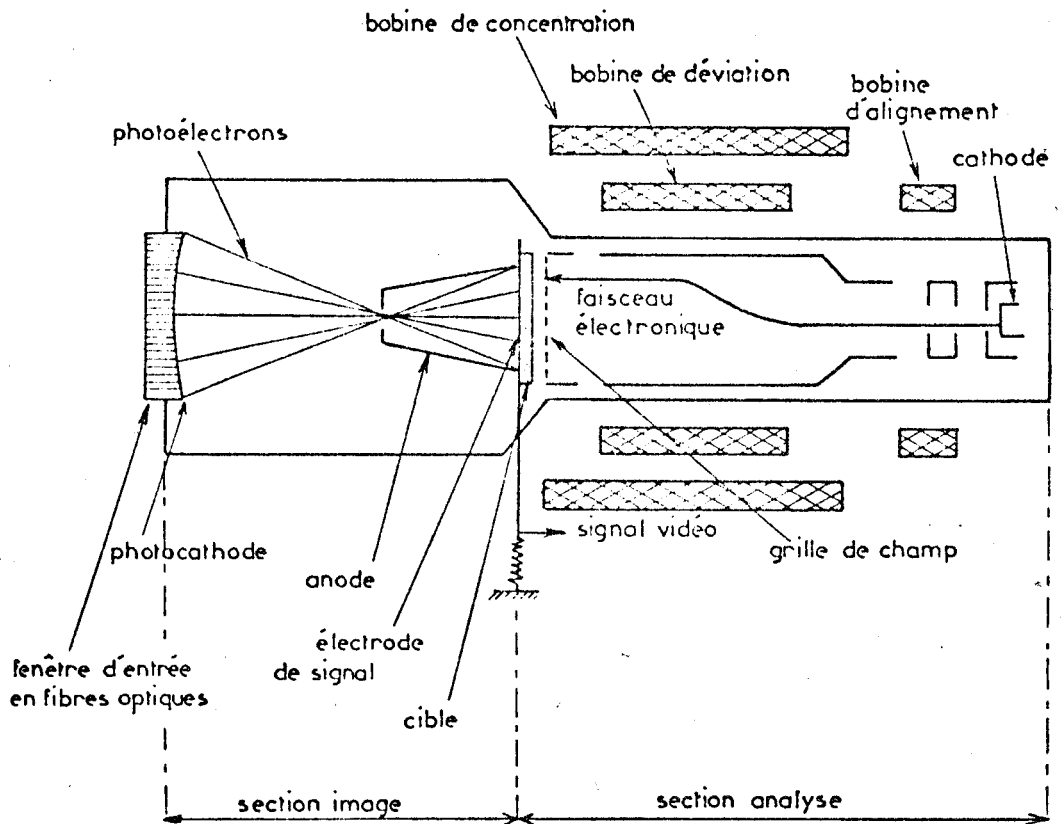


Fig. 29 : Schéma de principe d'un tube Vidicon à couche photoémissive.



accélérés et focalisés sur une cible dans laquelle ils sont multipliés et accumulés entre deux balayages du faisceau de lecture. La cible est constituée soit d'un matériau semi-conducteur (tubes S.I.T.) ou diélectrique (tube S.E.C.). Dans les deux cas, le faisceau de lecture crée le courant de signal en supprimant les charges accumulées au niveau de la cible.

Ces tubes présentent de nombreux avantages :

- une grande sensibilité (200 μ A/lm pour les tubes S.I.T.)
(20 μ A/lm pour les tubes S.E.C.)
- un gain de cible important (100 dans le cas d'une cible diélectrique, 2500 dans le cas d'une cible semi-conductrice)
- une résolution élevée (supérieure à 500 points par ligne de balayage)
- une faible rémanance et une dynamique élevée (10^3 pour les tubes S.I.T., 10^2 pour les tubes S.E.C.).

Les tubes S.I.T. se caractérisent par une grande sensibilité et une grande résistance à l'éclairement. Par contre, le courant d'obscurité très faible des tubes S.E.C. leur permet des possibilités d'intégration de longue durée (10^4 s) alors qu'un tube S.I.T. ne permet des temps d'intégration que de quelques secondes (3 s. au plus) à température ambiante.

Compte tenu de ses facultés d'intégration et de mémorisation sans perte notable du rapport signal/bruit, l'utilisation d'un tube S.E.C. est

particulièrement intéressante dans le cas de signaux faibles. Enfin sa dynamique de l'ordre de celle des tubes intensificateurs n'est pas le facteur limitatif dans le cas de mesures photométriques.

b) *Détection monocanale*

La détection monocanale est tout à fait classique. Nous utilisons un photomultiplicateur Hamamatsu R 268 à photocathode S_{20} suivi d'un amplificateur à courant continu dont la sensibilité maximum correspond à une tension de sortie de 150 mV pour un courant d'entrée de $0,5 \cdot 10^{-10}$ ampère (impédance d'entrée 100 M Ω).

Pour la détection de signaux très faibles, nous pouvons utiliser un photomultiplicateur à photocathode refroidie par effet Peltier (R.C.A. C 31034 - photocathode S_{20R}) suivi de l'amplificateur à courant continu ou d'un compteur de photons.

L'enregistrement des spectres se fait sur un enregistreur à plume multicalibre type Servogor ou Ifelec.

II. - L'OPTIQUE DE TRANSFERT

Son rôle est essentiel car elle doit conserver l'étendue géométrique utile du faisceau définie par la géométrie du monochromateur. C'est à dire qu'elle doit permettre un transfert correct des images ou du flux

au niveau du détecteur tout en réalisant l'adaptation des ouvertures entre l'optique de microscope et le filtre (minimum de perte de flux).

A - Flux entrant dans l'instrument :

Nous calculons le flux élémentaire diffusé par une tranche de matériau d'épaisseur dz située dans le plan de netteté de l'objectif et que nous supposons homogène et isotrope (fig. 30).

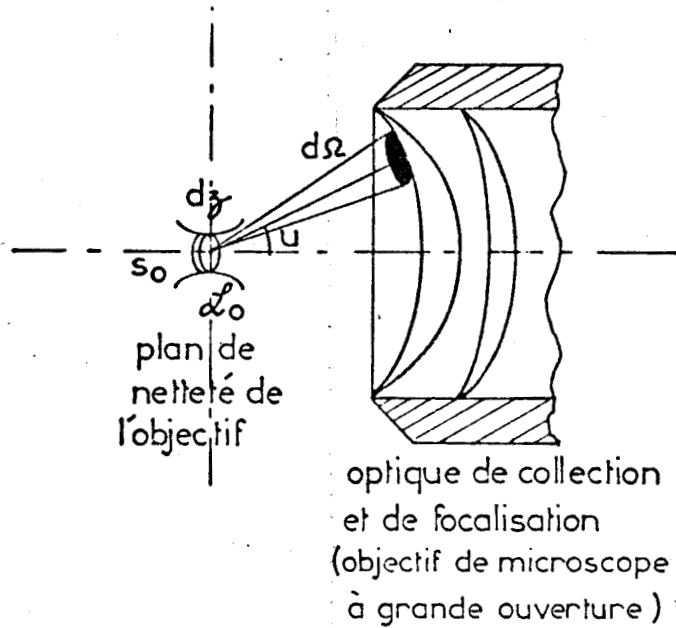


Fig. 30 : Flux élémentaire diffusé par une tranche de matériau dz .

Le flux diffusé par la tranche et transporté par un faisceau d'étendue géométrique élémentaire $d^2\varepsilon$ s'écrit :

$$d^3\phi_z = L_o \cdot d^2\varepsilon$$

où L_o est la luminance de la tranche dz

et $d^2\varepsilon = s_o \cdot \cos u \cdot d\Omega$ est l'étendue géométrique d'un faisceau d'angle solide élémentaire $d\Omega$ faisant un angle u avec l'axe optique.

s_o est la section de la tranche.

L_o est proportionnelle à la densité moléculaire du matériau, à l'irradiance et à l'épaisseur dz de la tranche soit :

$$L_o = \bar{K}_V \cdot \rho \cdot I_o \cdot dz \text{ en Watt.cm}^{-2}.\text{st}^{-1}$$

où \bar{K}_V représente la section efficace de diffusion Raman moyenne du matériau (exprimé en $\text{cm}^2.\text{mole}^{-1}.\text{st}^{-1}$).

$$d^3\phi_z = \bar{K}_V \cdot \rho \cdot I_o \cdot dz \cdot d^2\varepsilon = \bar{K}_V \cdot \rho \cdot I_o \cdot dz \cdot s_o \cdot 2 \pi \sin u \cdot \cos u \cdot du$$

Le flux entrant dans l'instrument se calcule en intégrant sur toute l'étendue géométrique du tube dans l'espace objet.

$$d\phi_z = \bar{K}_V \cdot \rho \cdot I_o \cdot dz \cdot 2 \pi \int_0^u s_o \cdot \sin u \cdot \cos u \cdot du$$

En considérant que s_o reste toujours petit (u est le même pour tous les points de la tranche), il vient :

$$d\phi_z = \bar{K}_v \cdot \rho \cdot I_o \cdot s_o \cdot dz \int_0^{u_o} 2 \pi \cdot \sin u \cdot \cos u \cdot du$$

et en introduisant la puissance P_o à l'échantillon :

$$d\phi_z = \pi \cdot \bar{K}_v \cdot \rho \cdot P_o \cdot dz \cdot \sin^2 u_o$$

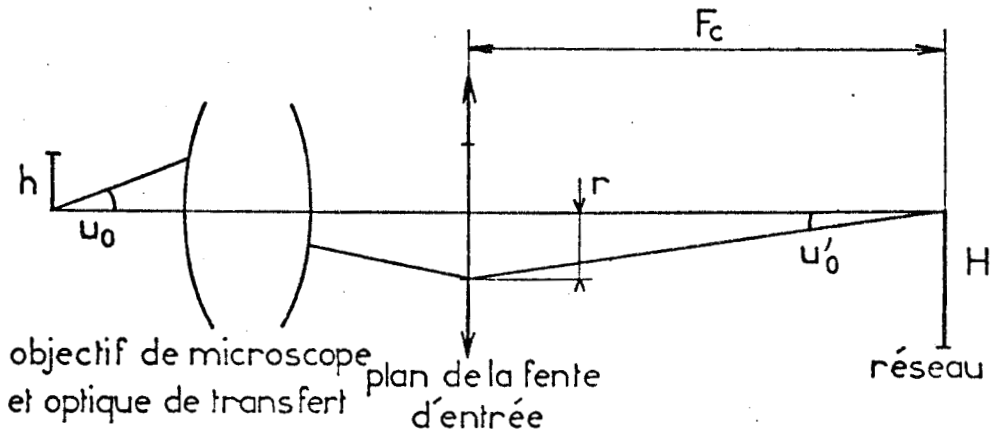
Le flux entrant dans l'instrument est proportionnel à la puissance du rayonnement excitateur et au carré de l'ouverture numérique de l'optique de collection. Ce résultat montre tout l'intérêt d'utiliser des objectifs à grande ouverture numérique, en particulier lorsque la taille de l'échantillon diminue, à condition toutefois de pouvoir conserver dans l'espace image (monochromateur) le flux ainsi collecté.

B - Rôle de l'optique de transfert - Choix d'une solution :

a) *Fonctionnement en "Microscope Raman"*

La préparation se comporte comme une source étendue. On réalise alors au mieux le couplage optique entre le microscope et le filtre optique en formant l'image de la préparation au niveau des éléments dispersifs du filtre (réseaux du monochromateur) et l'image de la pupille de l'objectif au niveau des fentes (fig. 31). L'ouverture des faisceaux étant faible dans l'espace image (monochromateur) l'optique de transfert travaille

dans les conditions d'approximation de Gauss, la condition d'aplanétisme est réalisée pour l'objet et son image au niveau du réseau.



MICROSCOPE RAMAN

Fig. 31 : Couplage optique entre le microscope et le filtre optique pour un fonctionnement en "Microscope Raman".

La relation des sinus d'Abbe permet d'écrire :

$$n \cdot h \cdot \sin u_0 = H \cdot \sin u'_0$$

soit :

$$n^2 \sin^2 u_0 = \Gamma_o^2 \cdot \sin^2 u'_0$$

où Γ_o est le grandissement global de l'optique.

Dans l'espace image, on peut écrire :

$$\sin^2 u'_o \approx u'^2_o = \left(\frac{r}{F_c}\right)^2$$

où r est le rayon de l'image pupillaire au niveau de la fente et F_c la focale du collimateur

soit :

$$(n \sin u_o)^2 = \Gamma_o^2 \left(\frac{r}{F_c}\right)^2$$

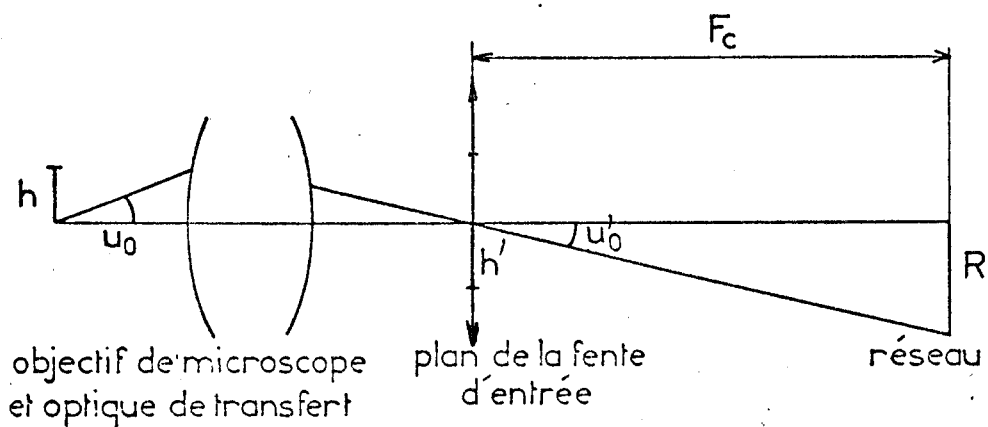
Le flux transporté par le faisceau dans l'espace image a pour expression :

$$d\phi_z = \frac{\tau_v \cdot \bar{K}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot s_p \cdot \left(\frac{\Gamma_o}{F_c}\right)^2$$

où τ_v est la transmission des optiques et s_p la surface de l'image pupillaire au niveau de la fente d'entrée.

b) *Fonctionnement en "Microspectromètre ou Microspectrographe Raman"*

La petite surface éclairée de la préparation est cette fois une source quasi-ponctuelle et on réalise alors au mieux le couplage optique en formant l'image de cette source au niveau de la fente d'entrée du monochromateur et l'image de la pupille de l'objectif au niveau du réseau (fig. 32).



MICROSPECTROMÈTRE ou MICROSPECTROGRAPHE
RAMAN

Fig. 32 : Couplage optique entre le microscope et le filtre optique pour le fonctionnement en "Microspectromètre ou Microspectrographe Raman".

Pour les mêmes raisons que précédemment, on peut écrire :

$$n \cdot h \cdot \sin u_0 = h' \cdot \sin u'_0$$

Dans l'espace image :

$$\sin^2 u'_0 \approx u'^2_0 = \left(\frac{R}{F_c}\right)^2$$



où R est le rayon de l'image pupillaire au niveau du réseau, on trouve finalement :

$$n^2 \sin^2 u_o = \Gamma_o^2 \left(\frac{R}{F_c}\right)^2$$

où Γ_o représente toujours le grandissement global de l'optique.

Le flux transporté par le faisceau dans l'espace image a pour expression :

$$d\phi_z = \frac{\tau_v \cdot \bar{K}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot Sp \cdot \left(\frac{\Gamma_o}{F_c}\right)^2$$

Sp est la surface de l'image pupillaire au niveau du réseau.

c) *Discussion :*

Les formules établies précédemment, que l'on peut généraliser sous la forme :

$$\Pi (n \sin u_o)^2 = \Gamma^2 \left(\frac{Sp}{F_c}\right)$$

où Γ est le grandissement global de l'optique de microscope et de l'optique de transfert et Sp la surface de l'image pupillaire, expriment l'adaptation des ouvertures entre l'optique de microscope et le monochromateur. Cette adaptation des ouvertures est le rôle essentiel de l'optique de transfert.

NB : Cette formule s'obtiendrait de la même façon en exprimant la conser-

vation de l'étendue optique du faisceau car, pour un tube ouvert, la conservation de l'étendue du faisceau est équivalente à la relation des sinus d'Abbe en tant qu'expression de la condition d'aplanétisme (loi de Clausius).

Le couplage optique correct entre le microscope et le monochromateur implique donc une relation étroite entre l'ouverture numérique de l'objectif et le grandissement global de l'optique.

Deux solutions peuvent être envisagées :

- on conçoit pour chacun des modes de fonctionnement une optique à grandissement variable permettant de coupler tout objectif de microscope avec le monochromateur.

Cette solution qui paraît idéale a cependant ses inconvénients. Une optique à grandissement variable est complexe et surtout comporte un grand nombre de lentilles. La transmission de telles optiques est toujours très faible ;

- on conçoit pour chacun des modes de fonctionnement une optique à grandissement fixe, comportant le plus petit nombre de lentilles possible, adaptée à chaque objectif. La transmission de ces optiques sera excellente.

d) Choix d'une solution

Pour notre prototype de laboratoire, dans un souci de simplicité et

pour obtenir une bonne transmission des optiques, nous avons choisi de calculer une optique de transfert unique pour chaque mode de fonctionnement et qui puisse être utilisable pour les objectifs de microscope de plus fort grandissement 20 X et 40 X.

- *Fonctionnement en "Microscope Raman"*

L'image pupillaire se trouve au niveau de la fente d'entrée. Si l'on veut obtenir une bonne résolution spectrale, on a tout intérêt à diminuer la taille de cette image (possibilité de réduire l'ouverture de la fente d'entrée). Mais dans ces conditions, la formule établie paragraphe c montre que pour un objectif donné, la taille de l'image au niveau du réseau croît quand on diminue la taille de l'image pupillaire ($\Gamma^2 \cdot S_p = \text{cte}$).

Pour conserver un champ image suffisant, éviter une perte de flux importante au niveau du réseau et obtenir une bonne résolution spectrale, un compromis est nécessaire. Nous reviendrons sur ce point lors du calcul de l'optique de transfert. Cette même formule montre également que l'on doit rechercher ce compromis pour l'objectif de plus faible grandissement puisque pour une même dimension de l'image au niveau du réseau, l'image pupillaire est inversement proportionnelle au grandissement.

L'optique calculée pour l'objectif 20 X sera à fortiori meilleure pour l'objectif 40 X.

- Fonctionnement en "Microspectromètre ou Microspectrographe Raman"

L'image pupillaire se trouve au niveau du réseau et l'adaptation des ouvertures se traduit par :

$$\pi \left(\frac{n \cdot \sin u}{\Gamma} \right)^2 = \frac{S_r}{F_c^2}$$

où S_r est la surface éclairée du réseau.

Compte tenu des grandissements et des ouvertures numériques des objectifs 20 X et 40 X, on doit également calculer l'optique de transfert pour l'objectif 20 X.

En effet, puisque le rapport

$$\frac{\left(\frac{n \sin u}{\Gamma} \right)_{40 X}}{\left(\frac{n \sin u}{\Gamma} \right)_{20 X}}$$

est inférieur à l'unité, pour une surface du réseau entièrement éclairée dans le cas de l'objectif 20 X, la surface du réseau qui sera éclairée en utilisant l'objectif 40 X sera plus petite. Dans ce cas, on n'utilise plus toute l'étendue de faisceau disponible dans l'espace image. Il y a bien sûr une perte par rapport au couplage idéal où toute la surface du réseau serait éclairée. Cependant le monochromateur conserve l'étendue utile du faisceau dans l'espace objet, c'est à dire qu'il n'y a pas de perte du

flux recueilli par l'objectif autre que celle due à la transmission des optiques. La perte de résolution spectrale qui pourrait résulter du fait que le réseau est partiellement éclairé est négligeable. Notre but sera donc, pour les deux modes de fonctionnement de concevoir à partir des caractéristiques de l'objectif 20 X des optiques de transfert possédant le plus petit nombre possible de lentilles.

III - CALCUL DES OPTIQUES DE TRANSFERT :

A - Caractéristiques du système optique Wild.

Afin de permettre la détermination en grandeur et en position des différentes images (objet-pupille), nous avons été amenés à déterminer la taille et la position de la pupille d'entrée du système optique : objectif - boîte à lumière - séparateur de faisceaux.

Cette dernière grandeur est normalement déterminée à partir des côtes normalisées du microscope (longueur mécanique du tube et distance image de l'objectif) (32).

Cependant l'introduction de prismes de déviation (répartiteur de faisceaux et autres éléments optiques (boîte à lumière, filtre) modifie la longueur du trajet optique. Nous avons donc déterminé ces grandeurs dans les conditions d'utilisation en utilisant comme objet une surface uniformément éclairée et en formant à l'aide de lentilles de diverses focales

placées à l'extrémité du tube de sortie latérale, l'image de la pupille de l'objectif sur un écran (fig. 33). La position de l'écran et la mesure de la taille de l'image permettent de déduire facilement le trajet optique X (pupille-extrémité du tube) et P_o le diamètre de la pupille. On détermine pour les objectifs 20 X et 40 X :

obj. 20 X	$X = 210 \text{ mm}$	$P_o = 5 \text{ mm}$
obj. 40 X	$X \approx 210 \text{ mm}$	$P_o = 3,6 \text{ mm}$

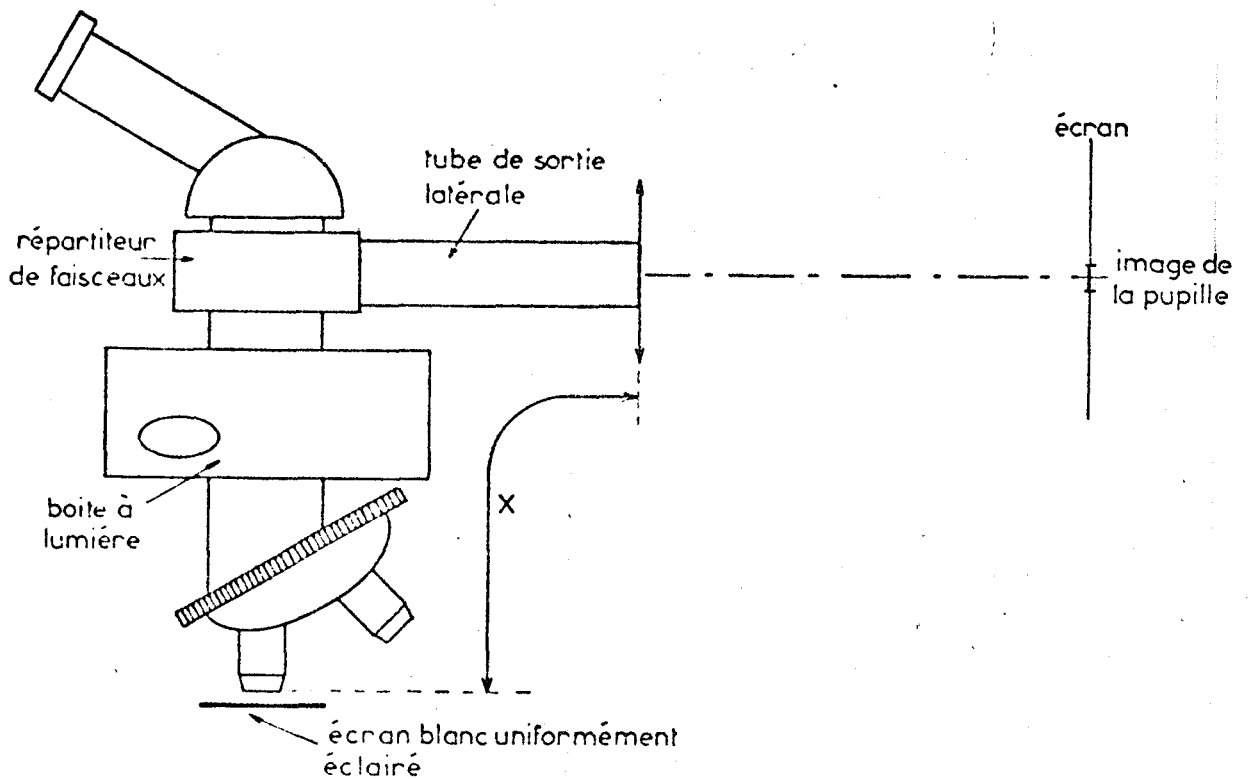


Fig. 33 : Détermination de la taille de la pupille et de sa position par rapport à l'extrémité du tube de sortie latérale du microscope.

B - Formation d'images de la surface de la préparation au niveau du détecteur - Fonctionnement en "Microscope Raman".

Nous avons vu précédemment que le rôle de l'optique de transfert consiste ici à former au niveau du détecteur une image de la préparation donnée par l'objectif en réduisant les pertes du flux par l'adaptation des ouvertures du microscope et du filtre et que l'on réalise au mieux cette adaptation en formant l'image de la préparation au niveau des réseaux. Une optique à deux lentilles (un verre de champ, une lentille de transfert d'images) est suffisante pour résoudre le problème.

- a) Calcul du transfert de l'image de la préparation au niveau du réseau du premier étage du filtre et du transfert de l'image de la pupille au niveau de la fente d'entrée.

La figure 34 résume les éléments de base utilisés pour le calcul.

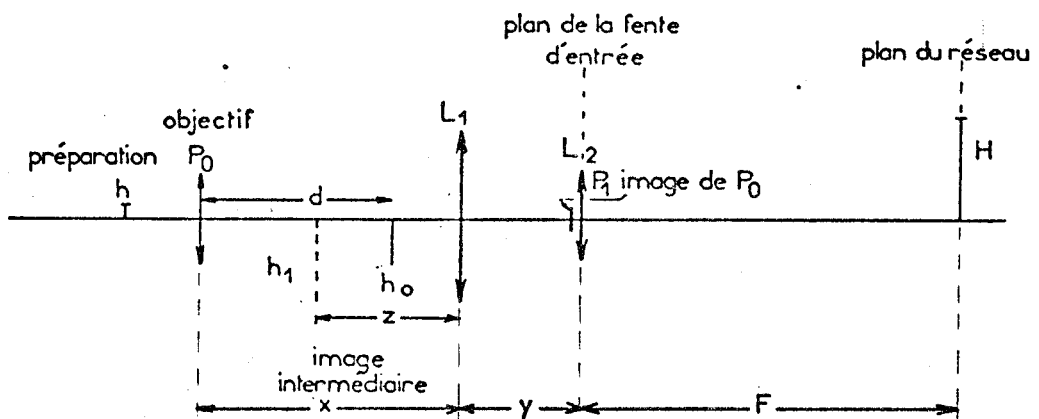


Fig. 34 : Eléments de base utilisés pour le calcul de l'optique de transfert du système fonctionnant en "Microscope Raman".

Nous avons adopté les notations suivantes :

h : dimension de la préparation (objet)

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 verre de champ).

H : grandeur de l'image de la préparation au niveau du 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 verre de champ.

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_I, f_1, f_2 : distances focales respectives du réseau, de L_1 et L_2 .

L_1 travaille en verre de champ et L_2 transfère l'image de la préparation sur le réseau.

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

P_0 (5 mm. obj. 20 X ; 3,6 mm. obj. 40 X), $h_0 = 20$ mm

x : 210 mm (distance de la pupille de l'objectif à l'extrémité du tube, côté filtre)

$d : 185 \text{ mm}, F_1 = 1012 \text{ mm}, F_2 = 995 \text{ mm}$

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 de sortie latérale. 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 :

- 1) - 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)

2) - Transfert de l'image de la préparation sur le réseau

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

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

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

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

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

La condition de netteté s'écrit :

$$\frac{1}{y+z} + \frac{1}{F_1} = \frac{1}{f_2} \quad (4)$$

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

$$\frac{h_1}{y+z} = \frac{H}{F_1}$$

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

$$H = \alpha \cdot h_o \cdot \frac{F_1}{d} \quad (5)$$

F_1 , 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 $F_1 = 1012$ 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

$$f_2 = \frac{F_1 \cdot d \cdot x}{d \cdot x + F_1 \cdot \alpha \cdot (d-x) + d}$$

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

Choix de α :

A partir des expressions $P_1 = \frac{P_0}{\alpha}$ et $H = \alpha \cdot h_0 \cdot \frac{F_1}{d}$, on retrouve un résultat acquis précédemment, montrant que si l'on diminue la taille de la pupille au niveau de la fente d'entrée, on augmente la taille de l'image au niveau du réseau. Nous allons rechercher la valeur optimum de α pour laquelle la perte du flux qui résulte du transfert de la lumière entre le microscope et le filtre optique est minimale.

Pour déterminer α , considérons le flux ϕ reçu par un écran situé au niveau du réseau et perpendiculaire à l'axe optique. Il est proportionnel à l'étendue géométrique du faisceau soit :

$$\phi \sim \frac{s_p \cdot S}{F_c^2}$$

s_p : surface de l'image de la pupille
au niveau de la fente d'entrée

$$= \frac{\pi P_1^2(\alpha)}{4}$$

S : surface éclairée de l'écran (réseau)

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

F_c : focale du monochromateur.

Le flux ϕ' reçu par l'élément dispersif est proportionnel à l'étendue géométrique utile du système soit :

$$\phi' \sim \frac{s(\alpha) \cdot S(\alpha) \cdot \cos \theta}{F_c^2}$$

θ : angle d'inclinaison du réseau

$s(\alpha)$: surface éclairée de la fente

$S(\alpha)$: surface éclairée du réseau

Outre les pertes de flux dues au facteur de transmission des lentilles, il existe un facteur de transmission :

$$T(\alpha) = \frac{\phi'}{\phi} = \frac{4 \cdot s(\alpha)}{\pi \cdot P_1^2(\alpha)} \cdot \frac{4 \cdot S(\alpha) \cdot \cos \theta}{\pi \cdot H^2(\alpha)} = T_1 \cdot T_2$$

qui est le facteur de transmission du premier monochromateur à l'efficacité du réseau près.

On cherchera donc la valeur de α pour laquelle $T(\alpha)$ est maximum. Cependant le système d'éclairement à miroirs tournants n'éclaire environ que les 2/3 du champ couvert par l'objectif. De ce fait la partie utile de l'image donnée par l'objectif a pour dimension $h'_0 = 2/3 h_0$ et au niveau du réseau la grandeur de l'image correspondant au champ uniformément éclairé est alors $H'(\alpha) = 2/3 H(\alpha)$ et on prendra finalement pour la détermination de α

$$T_2 = \frac{4 S(\alpha) \cdot \cos \theta}{\pi \cdot H'^2(\alpha)}$$

La transmission T du premier monochromateur est représentée par la figure 35.

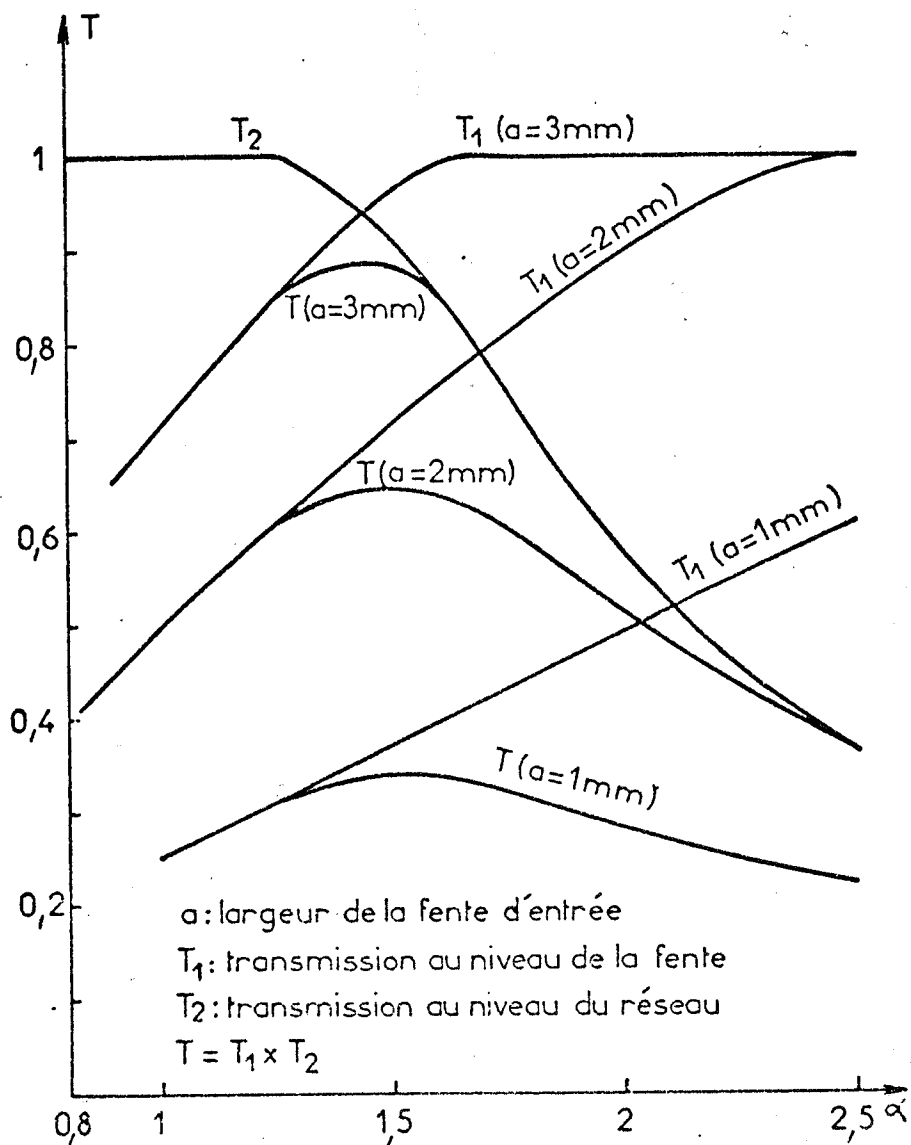


Fig. 35 : Transmission du premier monochromateur en fonction du paramètre α .

Elle reproduit les variations de T_1 , T_2 et T en fonction de α pour une fente de largeur $a = 1, 2$ ou 3 mm, calculées pour l'objectif 20 X.

Pour une même largeur de fente, rappelons que le facteur de trans-

mission T_1 sera meilleur pour l'objectif 40 X car l'image pupillaire au niveau de la fente sera plus petite.

On constate que, quelle que soit l'ouverture de la fente d'entrée, on obtient un maximum de transmission pour une valeur de α voisine de 1,5. Nous avons donc calculé l'optique de transfert pour cette valeur.

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

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

et le grandissement entre l'image intermédiaire et l'image au niveau du réseau est :

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

b) *Transfert de l'image de la préparation au niveau du détecteur multicanal*

La figure 36 représente le schéma optique du système fonctionnant en "Microscope Raman".

Les focales des réseaux étant pratiquement identiques ($F_c \approx 1000 \text{ mm}$) nous transférons l'image d'un réseau sur l'autre à l'aide d'un doublet L_3 de focale 500 mm placé au niveau de la fente intermédiaire.

Enfin une lentille L_4 de focale 150 mm, placée au niveau de la fente de sortie forme à une distance de 176 mm l'image du second réseau sur la photocathode du détecteur. Le choix de cette focale est imposé par la dimension utile de la photocathode que nous avons limitée à un cercle de 20 mm de diamètre.

La pupille de sortie du système est alors l'image donnée par le filtre dans le plan de la fente de sortie de la partie éclairée de la fente d'entrée.

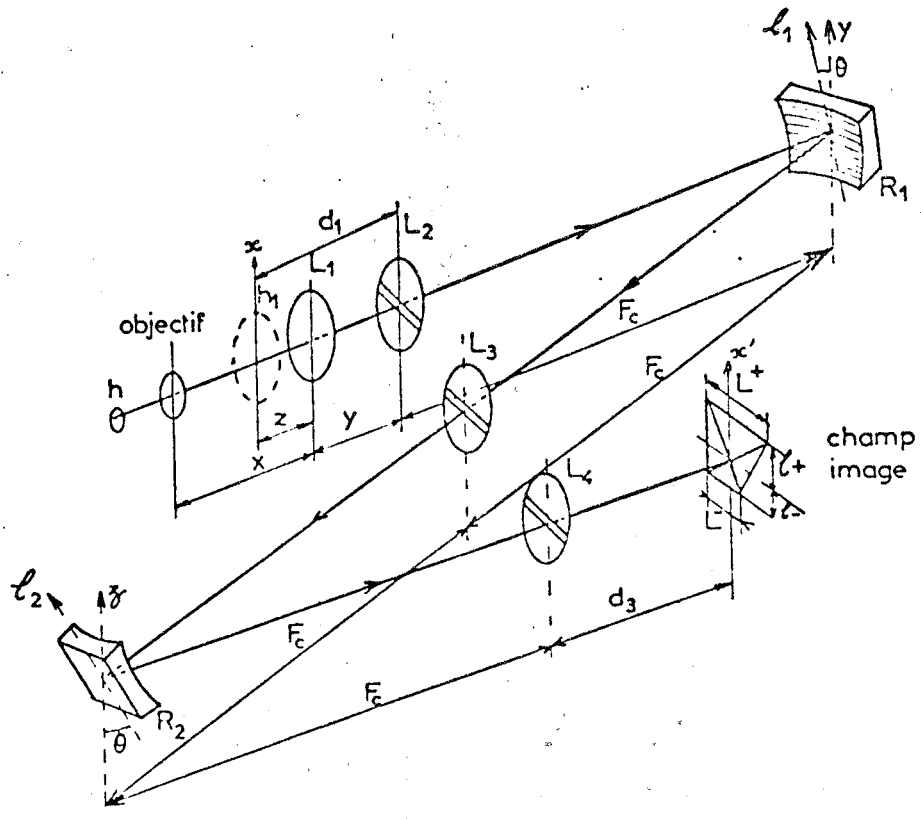


Fig. 36 : Schéma optique du système fonctionnant en "Microscope Raman".

c) *Variations du grandissement au cours du transfert d'images - Grandissement global de l'optique de transfert.*

Au point de vue images, les réseaux n'interviennent que comme supports réfléchissants en direction des fentes.

L'inclinaison des réseaux sur l'axe, fonction de la longueur d'onde, provoque donc une distorsion de l'image projetée dans la direction perpendiculaire à leur axe de rotation.

A partir des notations portées figure 36, on définit le grandissement dans les trois cas suivants :

- Formation de l'image sur le premier réseau - grandissement γ_1

$$\gamma_1 = \left(\frac{dl_1}{dx} \right) = \left(\frac{dy}{dx} \right) \cdot \left(\frac{dl_1}{dy} \right)$$

- Report de l'image d'un réseau sur l'autre - grandissement γ_2

$$\gamma_2 = \left(\frac{dl_2}{dl_1} \right) = \left(\frac{dl_2}{dz} \right) \cdot \left(\frac{dz}{dy} \right) \cdot \left(\frac{dy}{dl_1} \right)$$

- Projection de l'image au niveau du détecteur - grandissement γ_3

$$\gamma_3 = \left(\frac{dx'}{dl_2} \right) = \left(\frac{dz}{dl_2} \right) \cdot \left(\frac{dx'}{dz} \right)$$

Le grandissement global de l'optique de transfert s'écrit alors :

$$\gamma = \left(\frac{dx'}{dx} \right) = \left(\frac{dl_1}{dx} \right) \cdot \left(\frac{dl_2}{dl_1} \right) \cdot \left(\frac{dx'}{dl_2} \right) = \gamma_1 \cdot \gamma_2 \cdot \gamma_3$$

soit :

$$\gamma = \left(\frac{dy}{dx} \right) \cdot \left(\frac{dz}{dy} \right) \cdot \left(\frac{dx'}{dz} \right) = \frac{F_c}{d_1} \cdot \frac{F_c}{F_c} \cdot \frac{d_3}{F_c}$$

$$\gamma = \frac{d_3}{d_1} = 1 \text{ avec les lentilles adoptées.}$$

Le filtre n'introduit donc aucune distorsion dans l'image finale située au niveau du détecteur.

d) *Champ transversal image au niveau du détecteur*

Les réseaux de côté L_R étant totalement éclairés, le champ transversal image aura l'aspect d'un trapèze de bases L^+ , L^- et de hauteur $(l^+ + l^-)$ (fig. 36).

A partir de l'angle d'inclinaison θ des réseaux, on calcule facilement :

$$L^+ = d_3 \cdot \frac{2 L_R \cdot \cos \theta}{2 F_c - L_R \sin \theta} \quad , \quad L^- = d_3 \cdot \frac{2 L_R \cdot \cos \theta}{2 F_c + L_R \sin \theta}$$

et

$$(1^+ + 1^-) = \frac{4 \cdot F_c \cdot L_R \cdot \cos \theta}{4 F_c^2 - L_R^2 \sin^2 \theta} \cdot d_3$$

La position du barycentre du trapèze étant définie par :

$$\frac{1^+}{1^-} = \frac{L^+}{L^-} = \frac{2 F_c + L_R \sin \theta}{2 F_c - L_R \sin \theta}$$

L'image de la préparation semble légèrement déplacée vers le bas.

Lorsque l'on passe du bleu ($\lambda = 0,4 \mu\text{m}$) au rouge ($\lambda = 0,7 \mu\text{m}$), le rapport $\frac{L^+}{L^-}$ varie de 1,045 à 1,080, le champ latéral image reste donc toujours très voisin d'un carré de côté $\frac{L_R}{F_c} \cdot d_3 \approx 18 \text{ mm}$ et le décalage apparent de l'image reste faible.

Le champ observé est respectivement $740 \mu\text{m}$, $370 \mu\text{m}$ et $185 \mu\text{m}$ selon l'objectif en service (10 X, 20 X ou 40 X). Il correspond au 2/3 du champ oculaire.

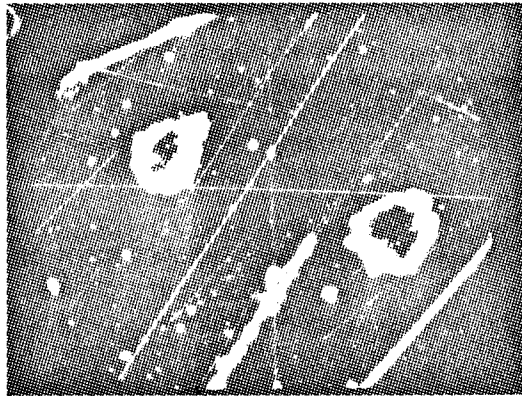
Les objectifs étant aplanétiques pour tous les points du plan objet, il doit en être de même pour le système microscope-filtre car toute l'optique travaille dans les conditions d'approximation de Gauss. Cependant, afin de réduire au mieux les aberrations que pourrait introduire l'optique de transfert dans la formation des images, nous avons utilisé des lentilles de meilleure forme (plan convexe, biconvexe ou doublets symétriques) selon la position des images.

Dans ce système, les distorsions en barillet ou en croissant sont automatiquement compensées par le montage symétrique du filtre optique (système stigmatique pour ses diaphragmes). Dans ces conditions, le système microscope-filtre devait donner d'excellentes images au niveau du détecteur. C'est ce que nous avons vérifié en plaçant à l'endroit de la partie photosensible du détecteur un film photographique. Comme mire, nous avons utilisé soit une lame micrométrique, soit un miroir présentant des défauts et de très fines rayures. L'éclairage en fond noir était assuré par une lampe à vapeur de mercure.

La figure 37 montre la comparaison entre les images obtenues à partir des raies 546 nm et 579 nm et celle obtenue en lumière blanche au travers de l'oculaire pour le miroir. On aperçoit la forme trapézoïdale du champ et le léger déplacement apparent vers le bas de l'image. La figure 38 montre les images de la lame micrométrique obtenues dans les mêmes conditions d'éclairage que précédemment. Toutes ces images ne présentent aucune distorsion mesurable.

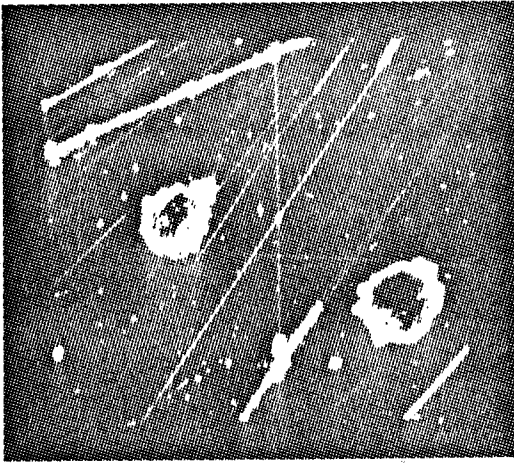
C - Transmission du flux diffusé par un très petit volume d'échantillon (\approx point) au niveau du détecteur - Fonctionnement en microspectromètre ou microspectrographe Raman :

Le rôle de l'optique de transfert consiste cette fois à transmettre tout le flux collecté par l'objectif du microscope jusqu'au détecteur avec le minimum de perte. Pour le calcul, nous avons repris les mêmes éléments qu'en B.a. L'optique de transfert (fig. 39) peut être séparée

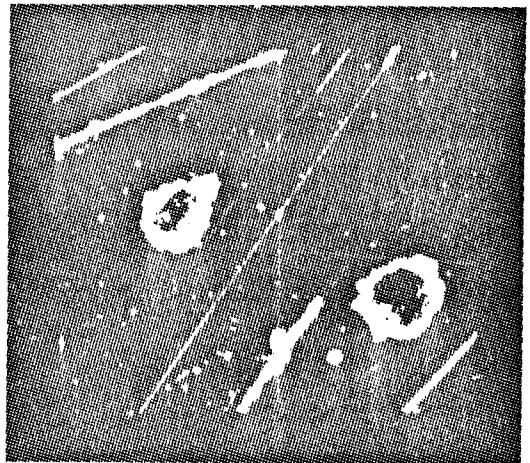


200 μm

Lumière blanche

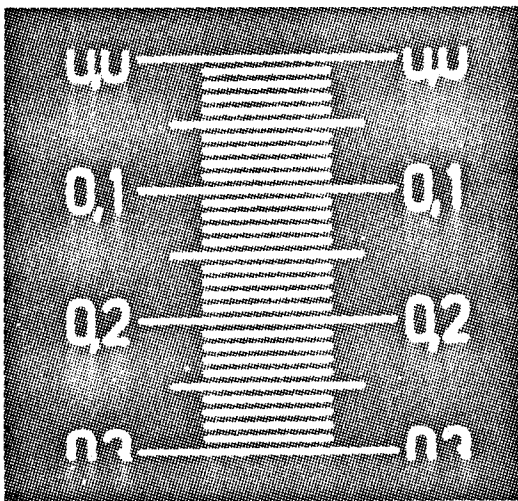


546 nm

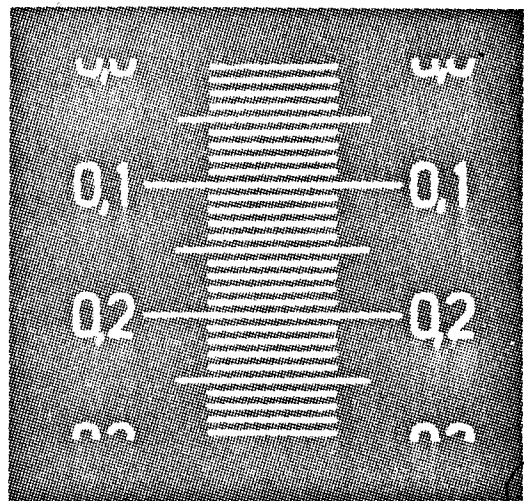


579 nm

Fig. 37 : Comparaison entre l'image observée au travers de l'oculaire et celles transmises par le filtre optique à partir des raies 546 nm et 579 nm d'une lampe à vapeur de mercure.



546 nm



579 nm

BUS
LILLE

Fig. 38 : Images d'une lame micrométrique montrant l'absence de distorsion des images transmises par le filtre.

en trois parties ayant des fonctions bien définies.

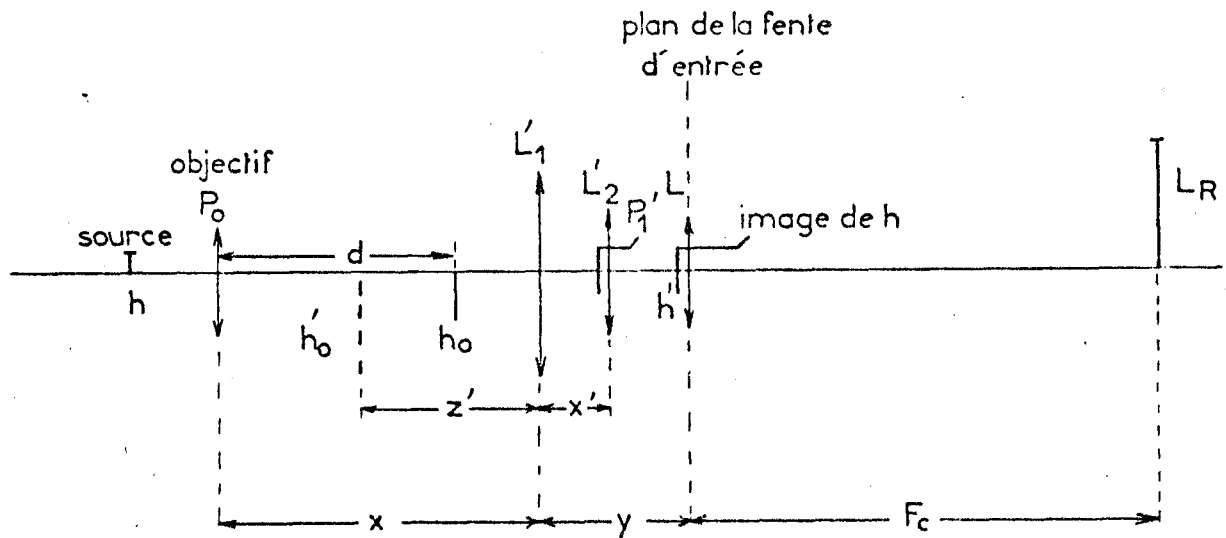


Fig. 39 : Eléments de base utilisés pour le calcul de l'optique de transfert du système fonctionnant en "Microspectromètre ou Microspectrographe"

- une optique de projection de la source sur la fente d'entrée du monochromateur

La source étant quasi-ponctuelle (quelques dizaines de microns au maximum), cette optique a pour rôle de former au niveau de la fente d'entrée du monochromateur une image de cette source. Cette image reste toujours de faible dimension et on conserve ainsi une bonne résolution spectrale par l'utilisation de fentes peu ouvertes.

- une lentille de conjugaison entre la pupille de l'objectif et les réseaux du filtre optique.

Cette lentille, placée au niveau de la fente d'entrée afin de ne pas modifier les images données par l'optique de projection, assure le couplage optique pupille-réseau en formant sur le réseau du premier étage l'image de la pupille de sortie de l'optique de projection.

- une optique de couplage entre le plan de la fente de sortie et le détecteur (non représentée sur la figure).

a) Calcul du système "optique de projection - lentille de conjugaison"

Le calcul a été conduit en respectant les deux impératifs suivants :

- la position du microscope par rapport au filtre optique calculée précédemment reste inchangée ($X + Y = \text{constante}$) et le nouveau système prend simplement la place de l'optique calculée en B_a .
- La lentille de conjugaison pupille-réseau est placée sur la fente d'entrée.

Un système optique à deux lentilles (L'_1, L'_2) est alors suffisant pour l'optique de projection.

L'_2 transfère l'image du point source (préparation) sur la fente d'entrée du filtre.

L'_1 travaille en verre de champ et reporte la pupille de l'objectif sur L'_2 (ceci autorise un ajustement mécanique de la position de L'_2 sans pratiquement modifier la pupille de sortie de l'ensemble).

La lentille de conjugaison L reporte finalement cette pupille sur le premier réseau du filtre optique.

On écrit alors :

- report de la pupille sur L'_2 par L'_1

$$\frac{1}{X} + \frac{1}{X'} = \frac{1}{f'_1} = \frac{1}{X-d} - \frac{1}{Z'} \quad (1)$$

- transfert de l'image du point source sur la fente d'entrée par L'_2

$$\frac{1}{Z'+X'} + \frac{1}{Y-X'} = \frac{1}{f'_2} \quad (2)$$

et

$$\frac{Z'}{X-d} \cdot \frac{Y-X'}{Z'+X'} = \frac{h'}{h_0} \quad (3)$$

Des relations (1) et (2), on tire :

$$f'_1 = \frac{XX'}{X'+X} \quad (4)$$

$$Z' = \frac{(X-d) \cdot f'_1}{f'_1 - (X-d)} \quad (5)$$

$$f'_2 = \frac{(Y - X') \cdot (Z' + X')}{Y + Z'} \quad (6)$$

$$P'_1 = P'_0 \cdot \frac{X'}{X} \quad (7)$$

- conjugaison pupille-réseau (L)

$$\frac{1}{Y - X'} + \frac{1}{F_c} = \frac{1}{F} \quad (8)$$

et

$$\frac{F_c}{Y - X'} = \frac{L_R}{P'_1} = \frac{L_R \cdot X}{P'_0 \cdot X'} \quad (9)$$

Les relations (8) et (9) permettent d'obtenir :

$$X' = \frac{L_R \cdot X \cdot Y}{X \cdot L_R + P'_0 \cdot F_c} \quad \text{et} \quad F = \frac{F_c}{\left(1 + \frac{L_R \cdot X}{P'_0 \cdot X'}\right)}$$



En reportant la valeur de X' dans (3), (4), (5) et (6), on détermine f'_1 , f'_2 et $\frac{h'}{h_0}$. Il n'y a qu'une seule combinaison optique qui réponde au problème.

A partir des valeurs numériques et pour $P'_0 = 5 \text{ mm}$ (obj. 20 X), on calcule :

$$X' = 114,8 \text{ mm}, \quad F = 24,5 \text{ mm}$$

$$f'_1 = 74,2 \text{ mm}, \quad f'_2 = 21,6 \text{ mm} \quad \text{et} \quad \frac{h'}{h_0} \neq 0,25$$

Pour l'objectif 40 X, on ne change pas le système précédemment calculé. Au niveau des réseaux, on forme une tâche lumineuse de diamètre égal à 0,72 fois la dimension du réseau. Le grandissement global de l'optique Γ_o est alors respectivement de 8,75 et 17,5 lorsque les objectifs 20 X et 40 X sont en service.

b) Calcul de l'optique de couplage entre le plan de la fente de sortie et le détecteur (fig. 40)

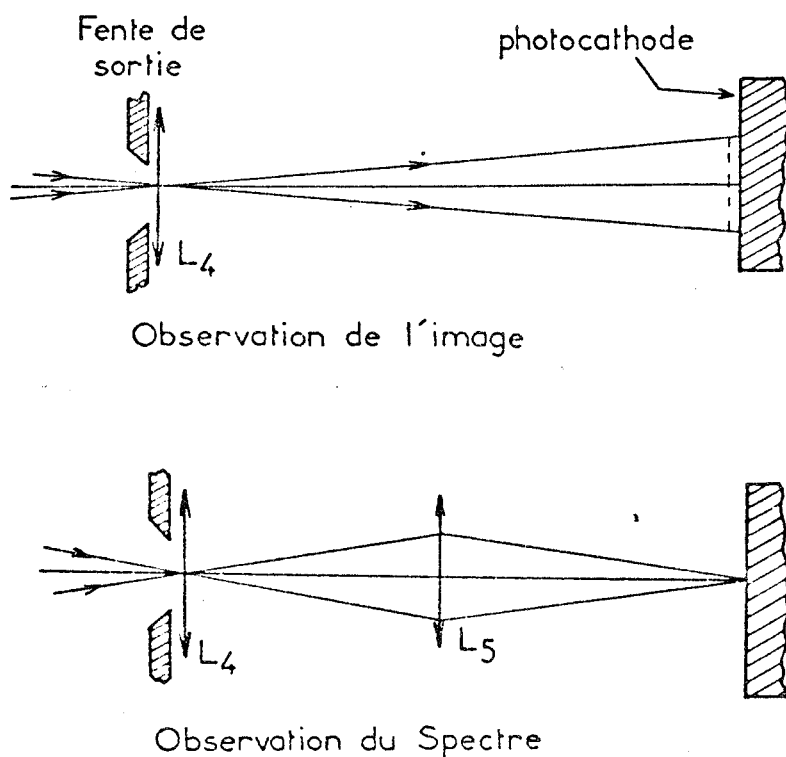


Fig. 40 : Schéma de l'optique de couplage en sortie du filtre optique.

La partie utile de la photocathode du détecteur multicanal étant limitée à 20 mm et la fente de sortie s'ouvrant également au maximum à

20 mm, l'utilisation en spectrographe impose l'optique de couplage. La lentille L_5 utilisée doit travailler au rapport 1 avec une distance plan de fente - surface sensible du détecteur égale à 176 mm soit une distance focale de 44 mm. Avec une dispersion linéaire réciproque de $8,5 \text{ cm}^{-1}/\text{mm}$ vers 500 nm, l'intervalle spectral observable sera de 170 cm^{-1} . La commutation à l'aide d'un miroir sur la photocathode d'un photomultiplicateur placé à la même distance ne pose alors aucun problème car pour l'utilisation en microspectromètre, l'image formée à ce niveau n'a tout au plus que quelques millimètres de dimension. Ceci autorise le montage éventuel d'une striction magnétique (33) limitant la surface utile de la photocathode à la partie éclairée ou bien d'un photomultiplicateur spécial à très petite photocathode.

Notons enfin qu'en utilisation "Microscope Raman", cette optique de couplage permettra de choisir avec précision la raie Raman à partir de laquelle on formera une image ou encore d'enregistrer le spectre Raman de l'ensemble des substances présentes dans la zone éclairée par le laser.

IV - RESOLUTION SPECTRALE ET RESOLUTION SPATIALE DU SYSTEME - PROFONDEUR DE CHAMP.

A - Fonctionnement en "Microscope Raman" :

Pour un instrument optiquement parfait, c'est à dire donnant des images dépourvues d'aberrations, le pouvoir séparateur intrinsèque n'est

limité que par les phénomènes de diffraction qui proviennent de la limitation des faisceaux par les pupilles de l'instrument (ouvertures des fentes du monochromateur).

Quand l'instrument est associé à un récepteur d'images, le pouvoir séparateur de l'ensemble dépendra également de la résolution du récepteur (34).

Ce sont également la résolution du récepteur et l'ouverture des fentes qui détermineront la tolérance de netteté encore appelée profondeur de champ.

a) *Calcul du pouvoir séparateur imposé par la résolution du récepteur*

Considérons l'ensemble formé par l'objectif de microscope, l'optique de transfert et le filtre optique.

Si R est la résolution du récepteur, un élément de longueur ϵ'' sera résolu au niveau de la photocathode si :

$$\epsilon'' \geq R$$

soit ϵ l'élément de longueur correspondant au niveau de l'objet. On écrit :

$$\epsilon'' = \gamma_1 \cdot \gamma_2 \cdot \gamma_3 \cdot \epsilon_0$$

où γ_1 , γ_2 , et γ_3 sont respectivement les grandissements de l'optique de transfert, de l'optique de projection de l'image d'un réseau sur l'autre et de l'optique de sortie, et où ϵ_0 est l'image de ϵ donnée par un objectif de grandissement γ suivi du sélecteur de faisceau et de la boîte à lumière qui introduisent un grandissement supplémentaire de 1,75

soit
$$\epsilon_0 = 1,75 \cdot \gamma \cdot \epsilon$$

En utilisant les relations :

$$\gamma_1 = \frac{H}{h_0} = \alpha \cdot \frac{F_1}{d} \quad (\text{paragraphe B.a.2})$$

F_1 : focale du premier monochromateur

$$\gamma_2 = \frac{F_1}{F_2} \text{ et } \gamma_3 = \frac{l}{F_2}$$

l : distance fente de sortie-photocathode

F_2 : focale du second monochromateur

Il vient :

$$\epsilon \geq \frac{R \cdot d}{1,75 \cdot \alpha \cdot \gamma \cdot l}$$

avec $d = 185$ mm, $l = 176$ mm, $\alpha = 1,5$ et en prenant comme limite extrême de résolution : $R = \frac{1}{25}$ mm (25 paires de lignes/mm à laquelle correspond une fonction de modulation de transfert égale à 0,1), on obtient respec-

tivement $\varepsilon \geq 1,6 \mu\text{m}$; $0,8 \mu\text{m}$ et $0,4 \mu\text{m}$ pour les objectifs 10 X, 20 X et 40 X. Ces valeurs sont très proches des résolutions théoriques des objectifs employés ($1,2 \mu\text{m}$; $0,7 \mu\text{m}$ et $0,5 \mu\text{m}$ à $\lambda = 0,5 \mu\text{m}$).

La résolution du récepteur est donc suffisante pour ne pas dégrader de façon sensible l'image donnée de la préparation par l'objectif.

N.B. : Pour l'objectif 40 X, la résolution du détecteur n'influe plus sur le pouvoir séparateur qui n'est plus alors limité que par la résolution de l'objectif du microscope.

b) Calcul des ouvertures des fentes permettant de conserver le pouvoir séparateur de l'ensemble de l'instrument.

La pupille de l'objectif est conjuguée des fentes du monochromateur. Les dimensions des pupilles sont donc égales à la largeur des fentes lorsque celles-ci sont inférieures à la dimension des images pupillaires.

Considérons le cas général de la projection de l'image d'un objet sur un plan P au travers d'une fente de largeur a et située à une distance L du plan P. Pour la largeur de fente a , la limite de résolution est donnée par l'interfrange du phénomène de diffraction de Fraunhofer dans le plan de l'image géométrique (plan P) soit : $i = \frac{\lambda \cdot L}{a}$

λ : longueur d'onde de la radiation utilisée pour former l'image.

Si ϵ est l'élément de longueur résolu au niveau de l'objet il faut que l'image ϵ' de cet élément dans le plan P soit telle que l'on ait $\epsilon' > i$ soit $a > \frac{\lambda L}{\epsilon'}$.

Appliquons cette relation aux diverses projections des images lors de la formation de l'image de l'échantillon sur la photocathode du récepteur.

- projection de l'image de la préparation sur le premier réseau :

$$a_1 > \frac{\lambda \cdot F_1}{\epsilon'} = \frac{\lambda \cdot F_1}{\gamma_1 \cdot \epsilon_0} = \frac{\lambda \cdot d}{\alpha \cdot \epsilon_0}$$

- transfert de l'image d'un réseau sur l'autre :

$$a_2 > \frac{\lambda \cdot F_2}{\gamma_2 \cdot \epsilon'} = \frac{\lambda \cdot F_2}{\frac{F_2}{F_1} \cdot \alpha \cdot \frac{1}{d} \cdot \epsilon_0} = \frac{\lambda \cdot d}{\alpha \cdot \epsilon_0}$$

- projection de l'image sur la photocathode :

$$a_3 > \frac{\lambda \cdot 1}{\gamma_2 \cdot \gamma_3 \cdot \epsilon'} = \frac{\lambda \cdot 1}{\frac{F_2}{F_1} \cdot \frac{1}{F_2} \cdot \alpha \cdot \frac{1}{d} \cdot \epsilon_0} = \frac{\lambda \cdot d}{\alpha \cdot \epsilon_0}$$

a_1 , a_2 et a_3 sont respectivement la largeur de la fente d'entrée de la fente intermédiaire et de la fente de sortie du monochromateur.

Les autres grandeurs ont été définies précédemment. En remplaçant ϵ_0 par sa valeur, on trouve donc :

$$a_1 = a_2 = a_3 > \frac{\lambda \cdot d}{1,75 \alpha \cdot \gamma \cdot \epsilon}$$

Pour des pouvoirs de résolution limites de 1,6 ; 0,8 et 0,5 μm (obj. 10 X; 20 X et 40 X), on trouve une ouverture des fentes minimum égale à 2,2 mm (obj. 10 X et 20 X) et 1,8 mm (obj. 40 X) à $\lambda = 0,5 \mu\text{m}$.

c) *Résolution spatiale et résolution spectrale*

La résolution spectrale de l'instrument est directement liée à l'ouverture des fentes du monochromateur. L'instrument sera d'autant plus résolvant que l'on utilisera des fentes fines. Par contre, comme nous l'avons montré précédemment, la conservation du pouvoir séparateur optimum demande une ouverture de fente de l'ordre de 2 mm à laquelle correspond une résolution spectrale de 17 cm^{-1} à $\lambda = 0,5 \mu\text{m}$.

d) *Tolérance de netteté - Profondeur de champ*

La netteté de l'image formée sur la photocathode dépendra de l'ouverture de la fente de sortie et de la résolution du tube intensificateur.

Considérons deux points M et N proches et de part et d'autre du plan objet. La netteté étant faite pour le plan objet, les images M' et N' de ces points se trouvent de part et d'autre du plan de la photocathode du récepteur (fig. 41). 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 R du tube. La distance δx entre les points M et N représente la profondeur de champ.

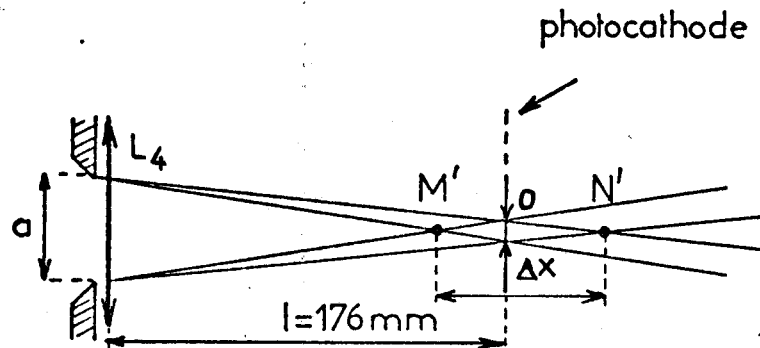


Fig. 41 : Tolérance de netteté de l'image formée sur la photocathode du détecteur.

Soit O le diamètre du cercle diffusion et a l'ouverture des fentes, on a :

$$\Delta x \approx 2 \cdot \frac{O \cdot l}{a} \quad \text{car } O \ll a$$

La condition $O \leq R$ s'écrit :

$$\frac{a}{2l} \cdot \Delta x \leq R$$

en tenant compte de Γ , grandissement global de l'optique, on a :

$$\Delta x = \Gamma^2 \cdot \delta x \quad (\text{grandissement axial})$$



soit
$$\delta x < \frac{2 \cdot l}{a \cdot \Gamma^2} \cdot R$$

avec
$$\Gamma = 1,75 \cdot \gamma \cdot \gamma_1 \cdot \gamma_2 \cdot \gamma_3 = \frac{1,75 \cdot \alpha \cdot l}{d} \cdot \gamma$$

où γ est le grandissement de l'objectif en service.

A partir de $l = 176$ mm, $d = 185$ mm et $R = 1/25$ mm, on calcule :

$$\delta x < \frac{2,45}{\gamma^2 \cdot a} \text{ mm}$$

ce qui donne une profondeur de champ égale respectivement à 11 μm , 3 μm et 1 μm pour les objectifs 10 X, 20 X et 40 X, pour des ouvertures de fentes de l'ordre de 2 mm.

e) Conclusion

Dans un tel système fonctionnant en "Microscope Raman", résolution spatiale, résolution spectrale, profondeur de champ, transmission du filtre optique et taux de lumière parasite, ne sont pas indépendants.

Le tableau suivant résume le sens de variation de ces différentes grandeurs en fonction de l'ouverture des fentes du monochromateur.

B - Fonctionnement en "Microspectromètre" ou "Microspectrographe Raman"

Contrairement au système précédent, la résolution spatiale et la profondeur de champ ne sont plus liés à la résolution du récepteur mais aux optiques utilisés.

Dans ce qui suit, nous ne considérons que le cas où le même objectif de microscope est utilisé pour éclairer l'échantillon et recueillir la lumière diffusée, les résultats établis étant transposables à tout autre mode d'éclairage.

a) *Résolution spatiale :*

La résolution spatiale est dans ce cas directement liée à la dimension de la tâche de focalisation du faisceau laser dans l'échantillon. On peut montrer que le diamètre de cette tâche reste voisin de la limite de résolution de l'objectif employé pour focaliser le faisceau laser si ce dernier couvre toute la pupille de l'objectif.

b) *Profondeur de champ - Pouvoir de résolution axial :*

L'épaisseur utile de matériau ou profondeur de champ est ici l'épaisseur de matériau qui envoie effectivement de la lumière sur les réseaux du monochromateur.

Nous avons calculé précédemment (paragraphe II.B.b) le flux émis par

une tranche de matériau d'épaisseur dz situé dans le plan de netteté de l'objectif et transporté par le faisceau qui intercepte la surface du réseau dans l'espace image.

$$d\phi_z = \frac{\tau_v \cdot \bar{k}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot Sp \left(\frac{\Gamma_o}{F_c}\right)^2$$

où Sp est la surface de l'image pupillaire.

1) Flux capté par les réseaux du monochromateur - Fonctionnement en "Microspectromètre" :

Le flux capté par les réseaux du monochromateur a alors pour expression :

$$d\phi_z = \frac{\tau_v \cdot \bar{k}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot S_R \left(\frac{\Gamma_o}{F_c}\right)^2$$

où S_R est la surface éclairée du réseau.

Si la tranche d'échantillon dz ne se trouve plus exactement dans le plan de netteté de l'objectif (fig. 42), la condition d'aplanétisme n'est plus rigoureuse mais reste suffisamment approchée pour de petits écarts Δ au plan de netteté. La relation devient alors :

$$d'\phi_z(\Delta) = \frac{\tau_v \cdot \bar{k}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot S_R \left(\frac{\Gamma'_\Delta}{L'_\Delta}\right)^2$$

où

$$\Gamma'_\Delta = \Gamma_\Delta \cdot \gamma_{F\Delta}$$

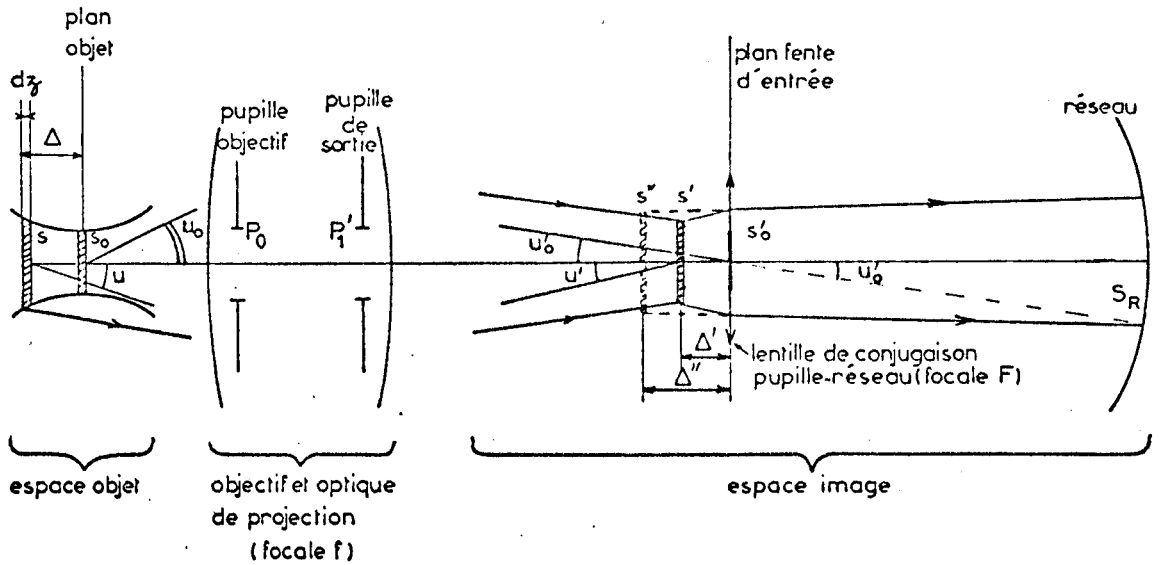


Fig. 42 : Position des images pour une tranche d'échantillon dz séparée d'une distance Δ du plan objet de l'objectif.

$\gamma_{F\Delta}$ est le grandissement introduit par la lentille de conjugaison pupille-réseau ($\gamma_{F\Delta}^2 = \frac{s''}{s'}$).

Γ_Δ est lié à Γ_0 par la relation :

$$\frac{1}{\Gamma_\Delta} = \frac{1}{\Gamma_0} + \left(\frac{\Delta}{n}\right) \cdot \frac{1}{f}$$

$\left(\frac{\Delta}{n}\right)$ est la distance équivalente dans l'air et f la focale du système objectif-optique de projection.

$L'_\Delta = F_c + \Delta'' = F_c + \gamma_{F\Delta} \cdot \Delta'$ est la distance qui sépare l'image de la tranche dz "vue" par le réseau et celui-ci.

Les grandeurs $\gamma_{F\Delta}$ et Δ' se calculent à partir des relations :

$$\gamma_{F\Delta} = \frac{F}{F \pm \Delta'} \quad \text{et} \quad \Delta' = \Gamma_o \cdot \Gamma_{\Delta} \cdot \left(\frac{\Delta}{n}\right)$$

Dans toutes ces relations le signe supérieur correspond à une image de la tranche située au delà du plan fente en direction du réseau, le signe inférieur à une image en deçà du plan fente.

- Influence de l'ouverture de fente ou d'un diaphragme de champ.

La relation exprimant $d\phi'_z(\Delta)$ n'est valable que si rien ne vient diminuer l'étendue de faisceau dans l'espace image. C'est à dire, fente d'entrée du monochromateur largement ouverte ou absence d'un diaphragme de champ (ou son image) dans le plan fente. Dans le cas où l'on ajuste la largeur de la fente d'entrée ou bien en présence d'un tel diaphragme, ceci équivaut à introduire une lucarne de sortie après la pupille et le réseau va "apercevoir" l'image de la tranche dz au travers de cette lucarne. Il y a perte de flux par diminution de l'étendue géométrique du faisceau dans l'espace image.

On peut traduire cette perte par l'introduction d'un facteur de transmission au niveau de la fente d'entrée.

$$T_{F(\Delta)} = \frac{\text{surface éclairée de la fente}}{\text{surface de la tâche lumineuse formée dans le plan fente}}$$

A partir des grandeurs caractérisant le système optique, on détermine alors le diamètre $D_{F(\Delta)}$ de cette tâche lumineuse (fig. 43).

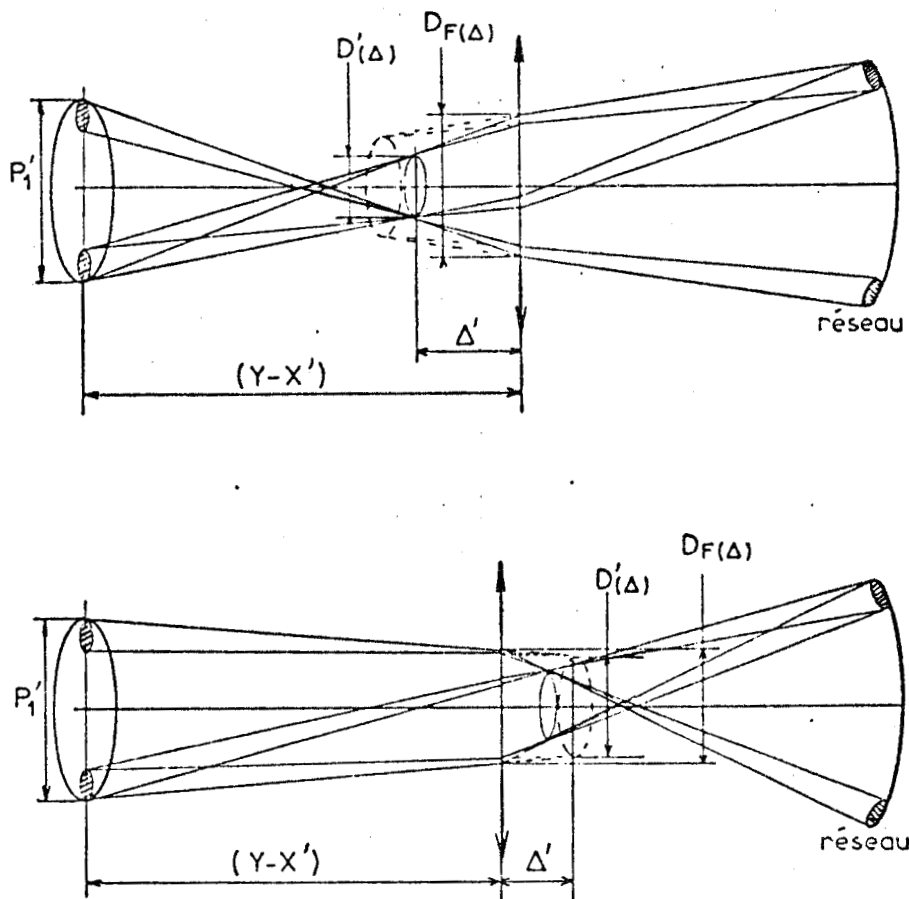


Fig. 43 : Calcul du diamètre de la tâche lumineuse formée dans le plan de la fente d'entrée du filtre optique.

$$D_{F(\Delta)} = \frac{D'_{\Delta} (Y-X') + P'_{1} \cdot \Delta'}{(Y-X') \pm \Delta'}$$

où D'_Δ représente le diamètre de l'image de la tranche dz qui est située à la distance Δ du plan de netteté de l'objectif.

Soit finalement :

$$d\phi'_z(\Delta) = \frac{\tau_v \cdot \bar{k}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot S_R \left(\frac{\Gamma'}{L'}\right)_\Delta^2 \cdot T_{F(\Delta)}$$

Nous n'envisageons que le cas où la lucarne de sortie est la fente d'entrée du monochromateur de largeur $e < D_{F(\Delta)}$, le calcul pour un diaphragme circulaire étant beaucoup plus simple.

$$T_{F(\Delta)} = \frac{4 S}{\pi D_{F(\Delta)}^2} \quad \text{avec } S = \frac{D_{F(\Delta)}^2}{2} \left[\text{Arc sin } \frac{e}{D_{F(\Delta)}} + \frac{e}{D_{F(\Delta)}} \cdot \sqrt{1 - \left(\frac{e}{D_{F(\Delta)}}\right)^2} \right]$$

soit :

$$T_{F(\Delta)} = \frac{2}{\pi} \left[\text{Arc sin } \frac{e}{D_{F(\Delta)}} + \frac{e}{D_{F(\Delta)}} \sqrt{1 - \left(\frac{e}{D_{F(\Delta)}}\right)^2} \right]$$

La figure 44 donne la courbe de variation de $T_{F(\Delta)}$ en fonction de $\frac{e}{D_{F(\Delta)}}$

Pour calculer $D_{F(\Delta)}$ nous devons tenir compte de la géométrie du faisceau laser (24) focalisé à l'intérieur d'un milieu isotrope (fig. 45) car D'_Δ est lié au rayon du faisceau par la relation :

$$D'_\Delta = 2 \Gamma_\Delta \cdot r_\Delta$$

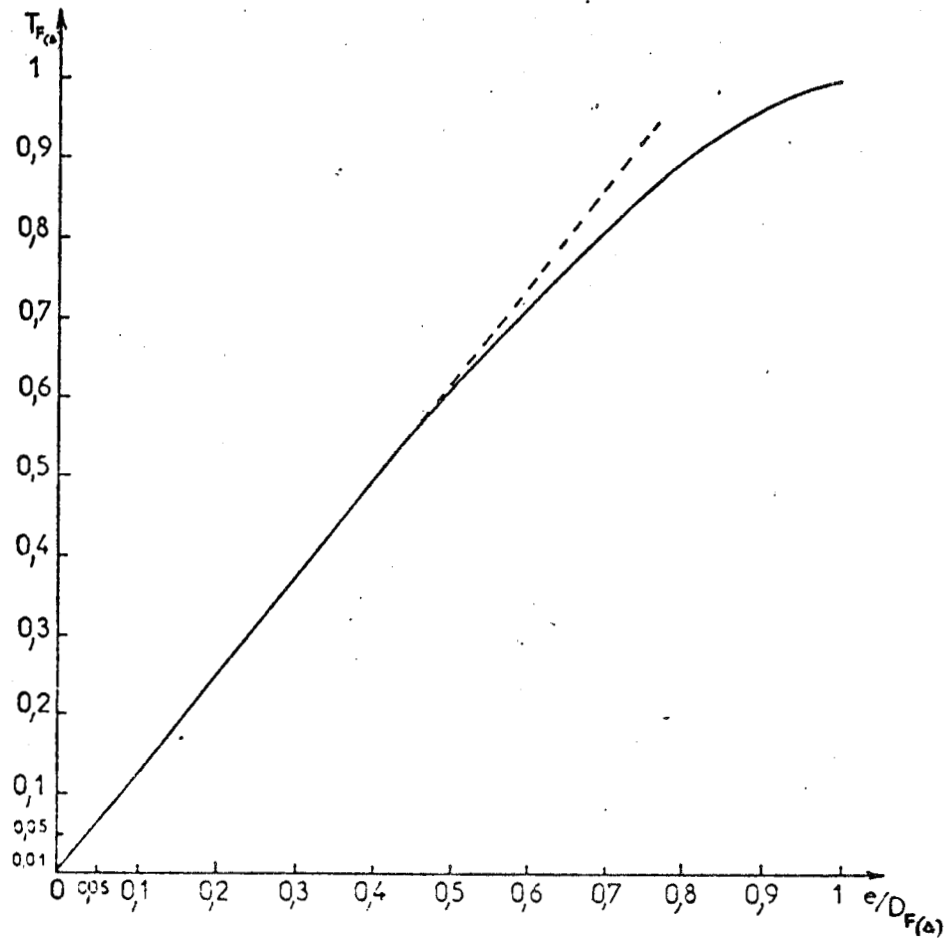
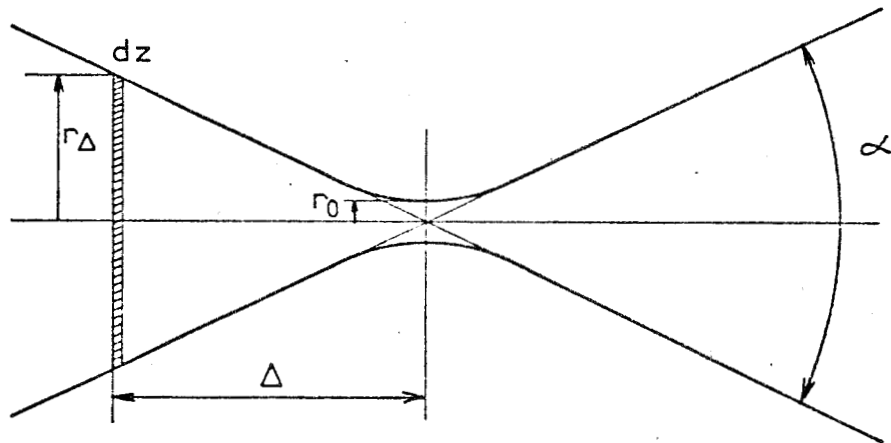


Fig. 44 : Transmission au niveau de la fente d'entrée du filtre optique



$$r_{\Delta} = \frac{2 \lambda}{\pi \alpha} \left[1 + \left(\frac{\pi \alpha^2 (\frac{\Delta}{n})}{4 \lambda} \right)^2 \right]^{1/2}$$

r_0

α angle de focalisation

r_{Δ} tend rapidement vers $\frac{\alpha (\frac{\Delta}{n})}{2}$ si α est grand

Fig. 45 : Forme du faisceau laser focalisé dans un milieu d'indice n.

La forme du faisceau est essentiellement déterminée par l'angle de focalisation, fonction de l'ouverture numérique de l'objectif. Finalement, pour les objectifs 20 X et 40 X, nous avons calculé la variation du flux élémentaire reçu par le détecteur ($d\phi'_z(\Delta)$) à partir d'une tranche d'échantillon dz en fonction de sa position (Δ) et de l'ouverture de fente (figures 46 et 47).

Nous indiquons sur ces courbes la largeur de fente en fonction de D'_o , diamètre de l'image obtenue dans le plan fente lorsque la tranche dz se trouve exactement dans le plan de netteté de l'objectif ($\Delta = 0$).

2) Eclairage au niveau de la fente de sortie du monochromateur -
Fonctionnement en Microspectrographe.

Le détecteur utilisé est ici le tube intensificateur d'images sensible à l'éclairage.

Nous calculons alors la valeur moyenne \bar{E} de l'éclairage dans l'image d'une raie Raman de surface S_s égale à la surface éclairée de la fente d'entrée S_e à l'astigmatisme près du monochromateur.

$$S_s = A_v \cdot S_e$$

où A_v représente la hauteur d'astigmatisme, fonction de la fréquence de la radiation sélectionnée par le monochromateur.

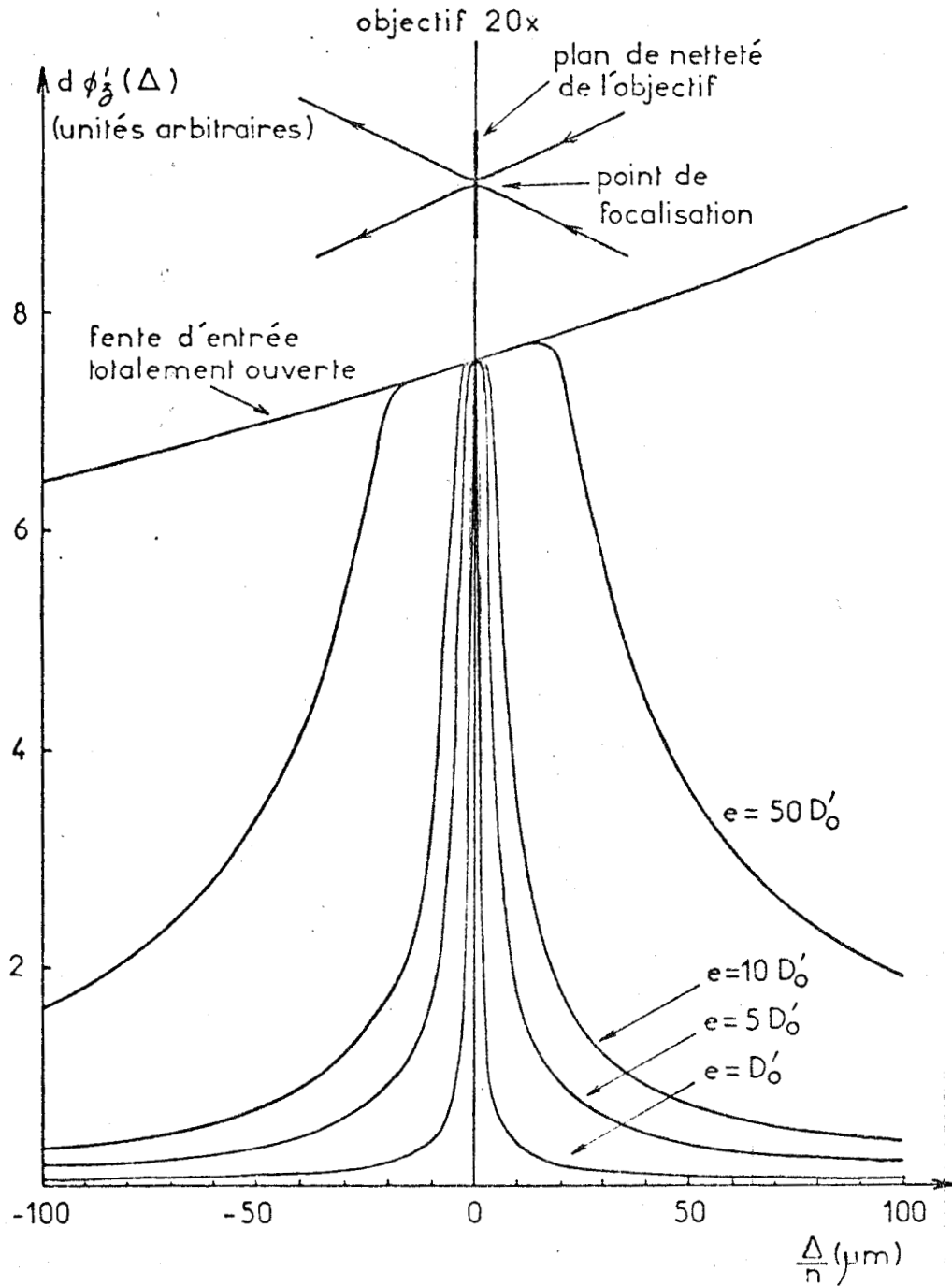


Fig. 46 : Variation du flux élémentaire reçu par le détecteur à partir d'une tranche d'échantillon dz située à la distance Δ du plan objet de l'objectif 20 X.



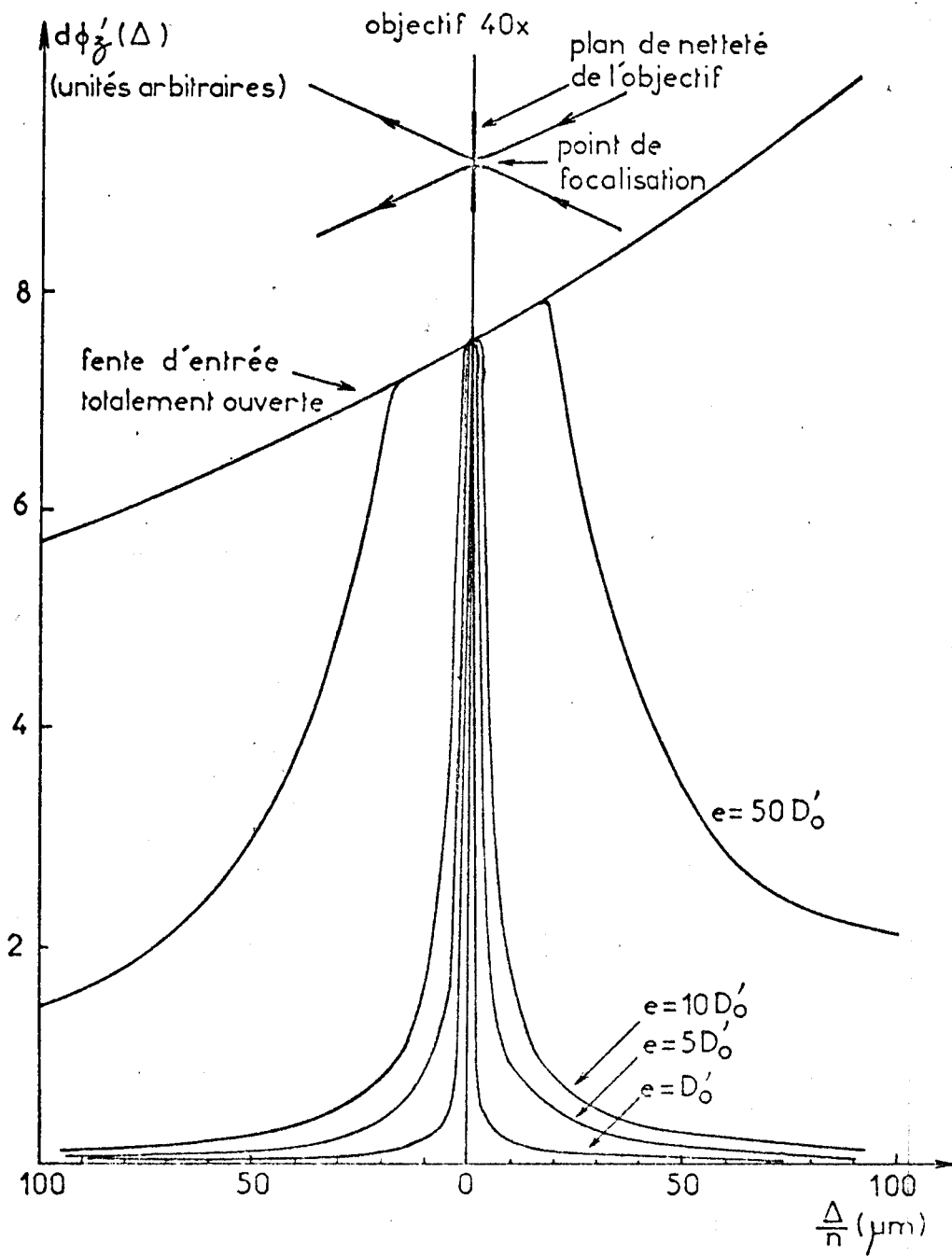


Fig. 47 : Variation du flux élémentaire reçu par le détecteur à partir d'une tranche d'échantillon dz située à une distance Δ du plan objet de l'objectif 40 X.

L'éclairement dans le plan de la fente de sortie produit par une tranche de matériau à la distance Δ du plan de netteté est à la transmission du monochromateur T_v près, l'éclairement dans le plan de la fente d'entrée corrigé du rapport des surfaces : fente d'entrée-image de la raie Raman dans le plan de la fente de sortie.

$$d \bar{E}'_{z(\Delta)} = \frac{d\phi'_{z(\Delta)}}{S'(\Delta)} \cdot T_v \cdot \frac{S_e}{S_s} = \frac{d\phi'_{z(\Delta)}}{S'(\Delta)} \cdot \frac{T_v}{A_v}$$

soit

$$d \bar{E}'_{z(\Delta)} = \frac{T_v}{A_v} \cdot \frac{\tau_v \cdot \bar{k}_v \cdot \rho \cdot P_o}{n^2} \cdot dz \cdot S_R \left(\frac{\Gamma'}{L'}\right)^2 \cdot \frac{1}{S'(\Delta)}$$

où $S'(\Delta)$ est la surface de la tâche lumineuse formée dans le plan de la fente d'entrée, surface qui a été calculée dans le paragraphe précédent.

$$S'(\Delta) = \frac{\pi \cdot D_F^2(\Delta)}{4}$$

La figure 48 représente la variation de $\bar{dE}'_{z(\Delta)}$ en fonction de Δ pour les objectifs 20 X et 40 X.

Elle montre que l'éclairement dans le plan de la fente de sortie varie très vite avec Δ . La profondeur de champ est très faible pour un détecteur sensible à l'éclairement.

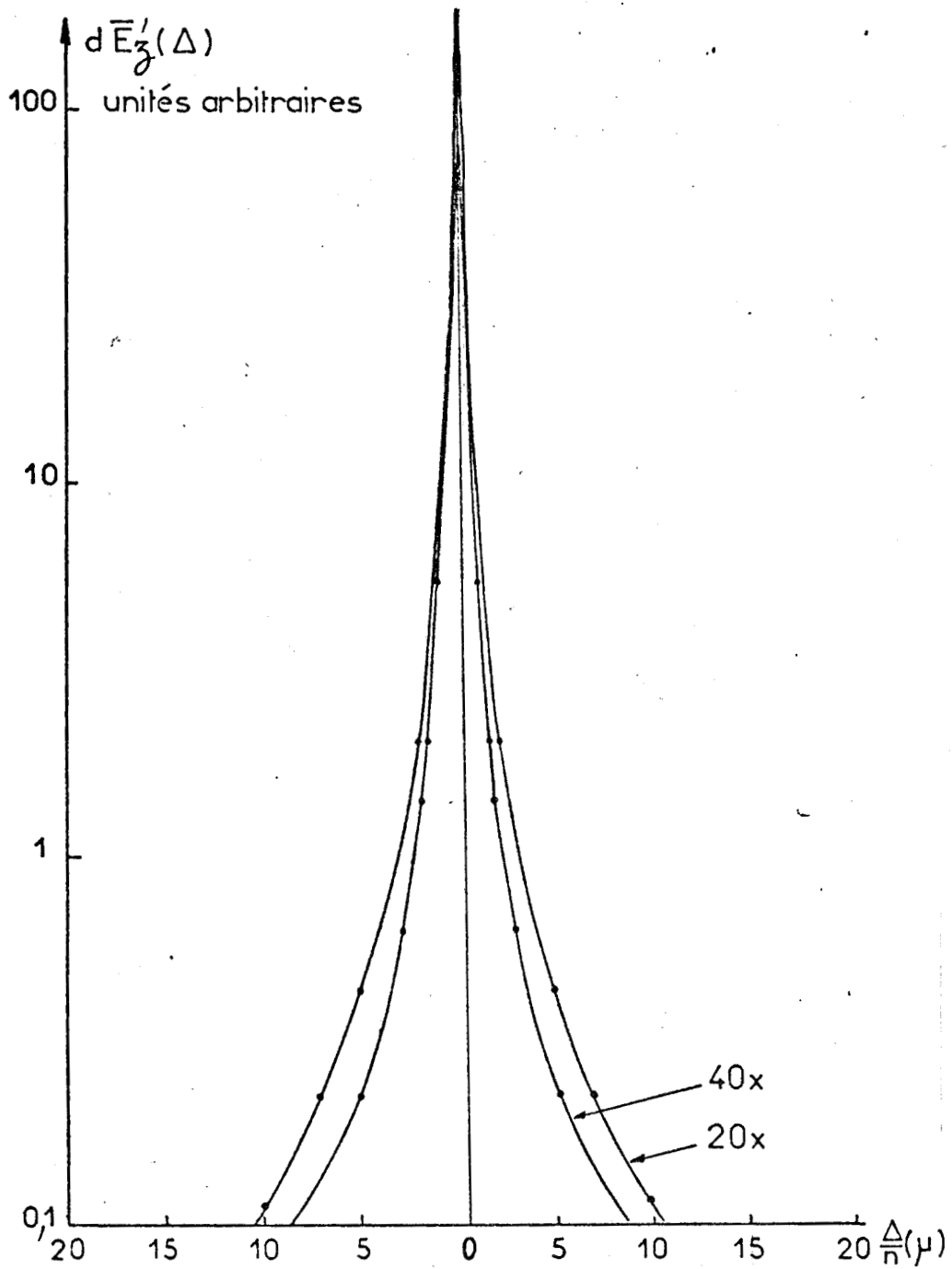


Fig. 48 : Variation de l'éclairement dans le plan de la fente de sortie pour une tranche d'échantillon dz située à la distance Δ du plan objet des objectifs 20 X et 40 X.



C - Conclusion :

La variation des différentes grandeurs est résumée dans le tableau suivant :

ouverture des fentes	: résolution spectrale	: pouvoir de résolution axial	: transmission du filtre	: taux de lumière parasite	: flux attei- gnant le détecteur
↘	⋮	↗	⋮	↘	↘

Pour chaque échantillon, il conviendra là également de rechercher les conditions optimales d'ouverture de fente en fonction de la résolution spectrale désirée, de la sensibilité requise et de la morphologie de l'échantillon analysée.

En effet, les courbes de flux précédemment établies montrent bien le rôle de filtre spatial joué par la fente d'entrée du monochromateur et permettent de connaître le volume d'échantillon effectivement analysé.

- Si l'épaisseur n'est pas limitée par la morphologie de l'échantillon :

échantillon épais (plusieurs dizaines à plusieurs centaines de microns)

On choisira l'ouverture des fentes de façon à obtenir soit une bonne

résolution spectrale si le spectre est intense, soit une grande sensibilité si le spectre est faible (on augmente l'épaisseur d'échantillon "vue" par le détecteur en ouvrant les fentes). Dans ce dernier cas, la sensibilité s'obtient au détriment de la résolution spectrale.

- Si l'épaisseur est limitée par la morphologie de l'échantillon :

échantillons microscopiques très minces déposés sur support ou inclus dans un matériau, on ajustera alors l'ouverture de fente de manière à réduire le plus possible la quantité de lumière (fond continu ou diffusion Raman) qui est collectée à partir du support ou de la matrice sans toutefois diminuer le signal émis par l'échantillon. Ceci est particulièrement important lors de l'étude d'échantillons de très petite taille (poussières, particules, etc...).

V. - DESCRIPTION DU PROTOTYPE REALISE AU LABORATOIRE - ALIGNEMENT OPTIQUE

La figure 49 montre l'aspect général de l'appareil. L'élément de base est un socle en bois maintenu rigide par deux poutrelles d'acier. Ce socle reçoit tous les éléments optiques constituant le filtre optique (fentes et leur mécanisme, miroirs de renvoi, réseaux et détecteurs). Tous ces éléments sont enfermés dans un coffre en bois étanche à la lumière. Une table reçoit le microscope et les systèmes optiques d'éclairage de l'échantillon (miroirs tournants - optique de focalisation). Les optiques de transfert sont montées sur des tubes métalliques. Toutes ces optiques sont

commutables manuellement.

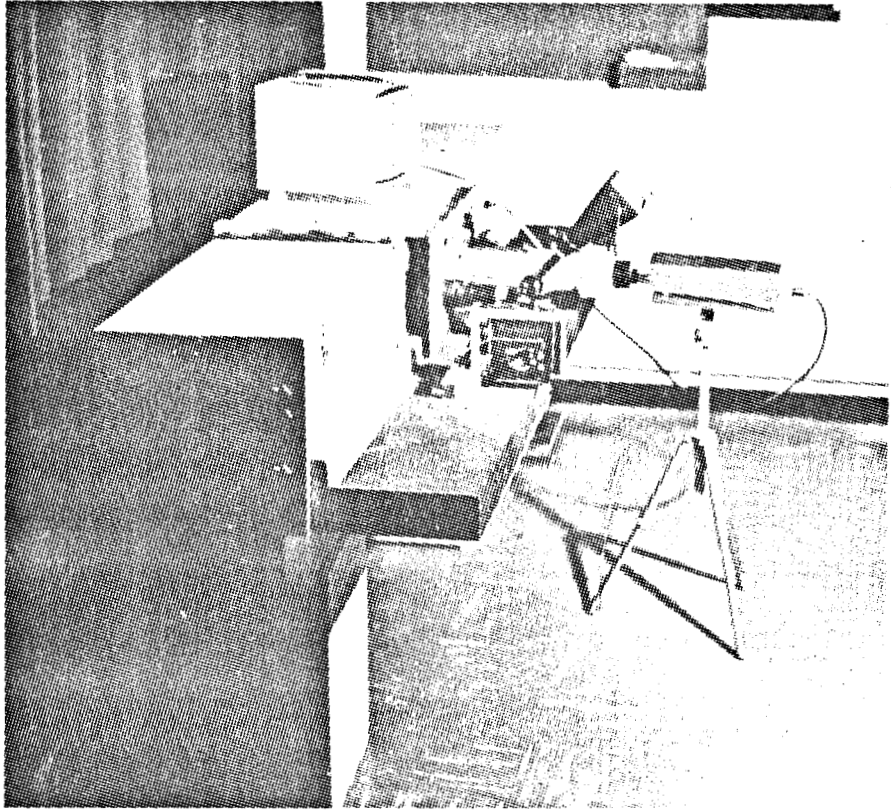


Fig. 49 : Aspect général du second prototype construit au laboratoire.

La procédure d'alignement optique est classique mais plus complexe que pour un spectromètre conventionnel. Les deux monochromateurs sont alignés, réglés séparément puis couplés à l'aide d'un laser d'alignement et d'une lampe spectrale basse pression.

Le microscope et les différentes optiques (lentilles des optiques de transfert) sont ensuite mis en place sur l'axe optique du monochromateur défini par le faisceau du laser d'alignement. Leur position est contrôlée

en vérifiant la position et la grandeur des images qui se forment au niveau des fentes et des réseaux du filtre optique puis des détecteurs.

Le travail d'alignement se termine par la mise en place des optiques d'éclairement de la préparation. Pour l'optique d'illumination ponctuelle de l'échantillon, il convient tout particulièrement de s'assurer que l'axe optique de l'ensemble : objectif-optique de transfert-monochromateur et l'axe du faisceau laser sont parfaitement confondus. Un léger décentrage du faisceau laser peut "rendre aveugle" le système car l'image du point de focalisation qui se forme dans le plan de la fente d'entrée n'est plus sur l'axe de cette dernière.

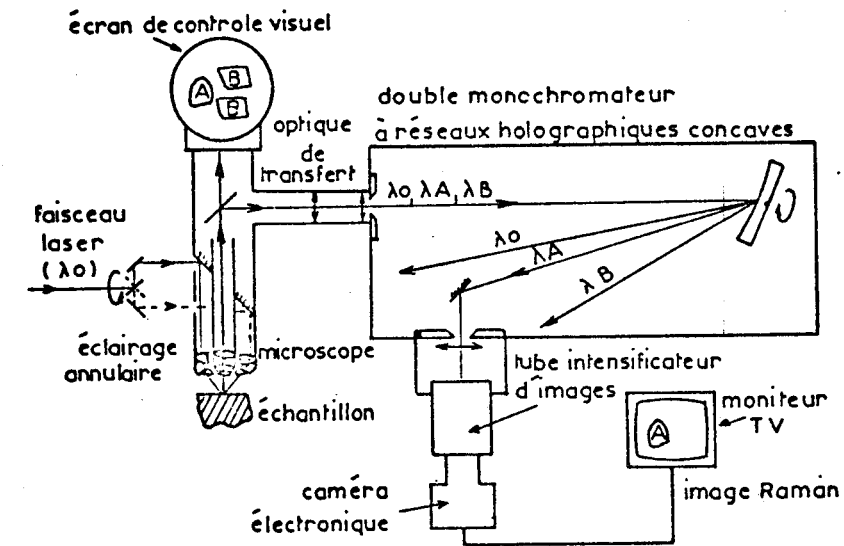
- CHAPITRE III -

CONTRÔLE ET ESSAI DU PROTOTYPE DE LABORATOIRE

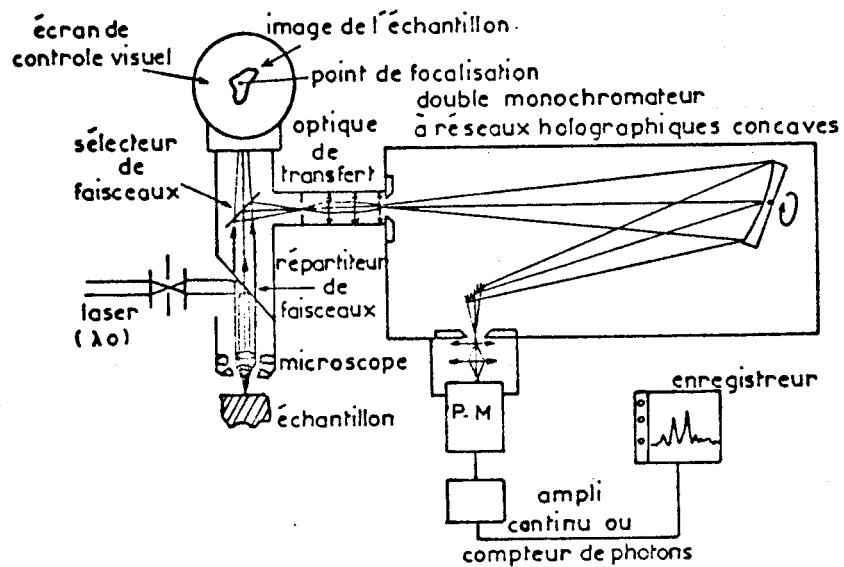
De nombreux tests et essais ont été réalisés en collaboration avec P. Bisson (35) aussi bien sur le premier prototype de laboratoire ne comportant qu'un filtre à un étage que sur le prototype définitif précédemment décrit, comportant un filtre à deux étages.

Nous présentons quelques résultats caractéristiques obtenus avec ce prototype.

La figure 50 rappelle par un schéma optique simplifié, le principe de chacun des modes de fonctionnement.



MICROSCOPE RAMAN



MICROSPECTROMETRE RAMAN

Fig. 50 : Schémas optiques simplifiés rappelant le principe des deux principaux modes de fonctionnement.

Les photographies que nous présentons ont été obtenues à l'aide d'un appareil photographique reflex NIKON (objectif $F = 55 \text{ mm} - F/1,2$) soit placé directement après le tube intensificateur muni d'une optique

travaillant à l'infini ($F = 50 \text{ mm} - F/0,95$), soit utilisé pour photographier l'écran du moniteur de télévision. Les films utilisés étaient de sensibilité 400 ASA (Ilford HP 4 ou Agfapan 400 -). Les spectres que nous présentons ont été réalisés à l'aide d'un photomultiplicateur Hamamatsu R 268 suivi d'un amplificateur à courant continu.

I - UTILISATION EN MICROSCOPE RAMAN - ECLAIREMENT GLOBAL DE LA PREPARATION

La figure 51 rappelle le principe de l'identification et de la localisation des constituants d'un échantillon hétérogène.

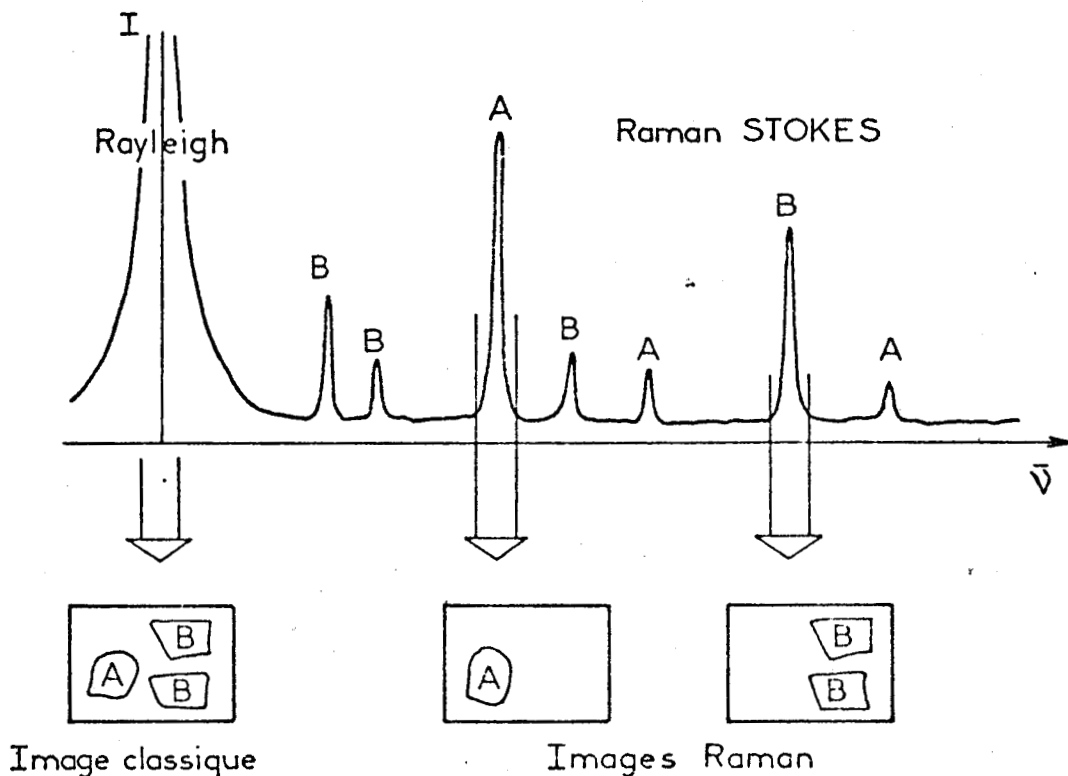


Fig. 51 : Identification et localisation des constituants d'un mélange hétérogène.

Pour ces tests, nous avons recherché des substances possédant un spectre Raman intense et suffisamment structuré. Nous avons finalement retenu :

- le trioxyde de molybdène (MoO_3) qui se présente sous la forme de petits cristaux très plats (quelques microns d'épaisseur) avec de nombreux détails de surface (de l'ordre du micron) ;
- le chromate de potassium (K_2CrO_4) qui possède un spectre de raies fines dans une région étroite ($800\text{-}950\text{ cm}^{-1}$) ;
- le soufre S_8 qui possède un spectre de basses fréquences intense.

La raie 514,5 nm d'un laser à Argon ionisé est utilisée pour éclairer les préparations.

A - Obtention d'images sélectives de constituants d'un mélange hétérogène :

Ce test illustre en même temps le principe de l'identification et de la localisation des constituants d'un échantillon solide hétérogène.

Sur une lame de microscope est déposé un mélange de cristaux de trioxyde de molybdène et de chromate de potassium.

L'échantillon est observé en utilisant l'objectif 20 X (fig. 52). L'optique de transfert placée à l'entrée du filtre optique est telle

que l'on forme l'image de la préparation au niveau des réseaux. L'optique placée après le filtre est d'abord commutée de façon à former sur la photocathode du tube intensificateur d'images le spectre Raman de l'ensemble de la préparation. Puis le filtre est calé de manière à isoler une bande spectrale maximum (170 cm^{-1}) centrée sur 830 cm^{-1} dans laquelle est comprise une raie de l'oxyde de molybdène (818 cm^{-1}) et plusieurs raies du chromate de potassium ($850, 870, 880$ et 908 cm^{-1}).

Par déplacement de la platine du microscope, on recherche une zone de la préparation faisant apparaître simultanément les raies des deux substances.

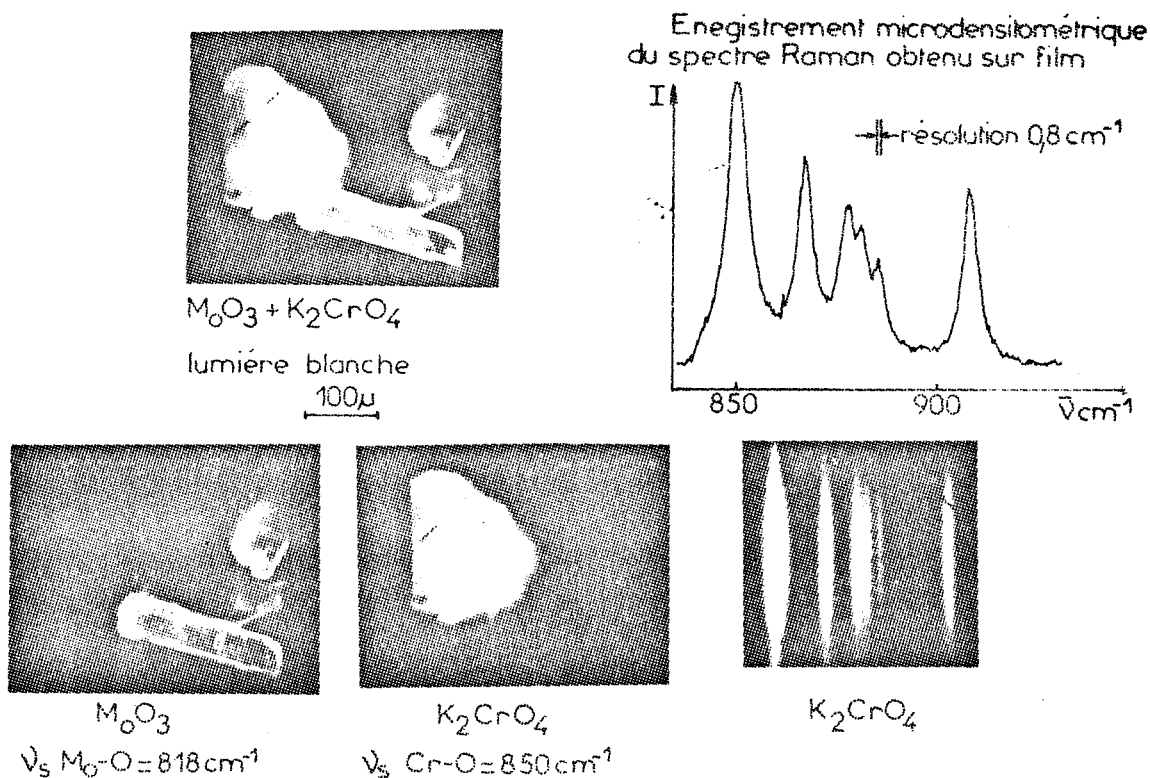


Fig. 52 : Analyse d'un mélange de microcristaux d'oxyde de molybdène et de chromate de potassium.

Sur la figure est représentée la partie du spectre Raman correspondant au chromate de potassium. La fente d'entrée est peu ouverte (100 μm) pour obtenir une bonne résolution spectrale ($0,8 \text{ cm}^{-1}$).

L'enregistrement microdensitométrique correspondant est tout à fait comparable au spectre d'un échantillon macroscopique de chromate de potassium enregistré à résolution égale, à l'aide d'un spectromètre conventionnel (T. 800). Il démontre l'excellente qualité du filtre optique.

L'utilisation de l'appareil en spectrographe s'avère ici particulièrement utile pour la reconnaissance quasi immédiate de l'espèce chimique présente dans la zone analysée.

L'optique de transfert après le filtre est ensuite commutée de façon à former des images sur la photocathode du tube intensificateur et l'observation de la zone précédemment sélectionnée (présence simultanée des deux substances) est faite successivement :

- en lumière blanche dans la bande spectrale qu'isole le monochromateur (170 cm^{-1}). Puis, par rotation des réseaux et fermeture des fentes intermédiaire et de sortie (jusqu'à 2 mm) pour isoler une raie Raman de chacun des composés ;
- 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^{2-} ($\nu_1 = 850 \text{ cm}^{-1}$ -
élongation symétrique des liaisons Cr-O).

Bien que les raies Raman soient relativement proches, on obtient sans interférence des images donnant la répartition de chacun des constituants. Le bon contraste des images prouve que le taux de lumière parasite demeure faible pour des ouvertures de fente importantes.

B - Test de résolution spatiale :

La préparation est déplacée de façon à n'observer dans le champ du microscope que des petits cristaux d'oxyde de molybdène très plats. L'objectif 40 X est mis en service pour observer des détails. Deux cristaux d'environ 65 microns dans leur plus grande dimension et d'une épaisseur de l'ordre de 4 microns sont isolés (fig. 53). Nous avons reporté sous la micrographie une échelle graduée en microns. Elle montre que des détails de l'ordre du micron sont parfaitement visibles.

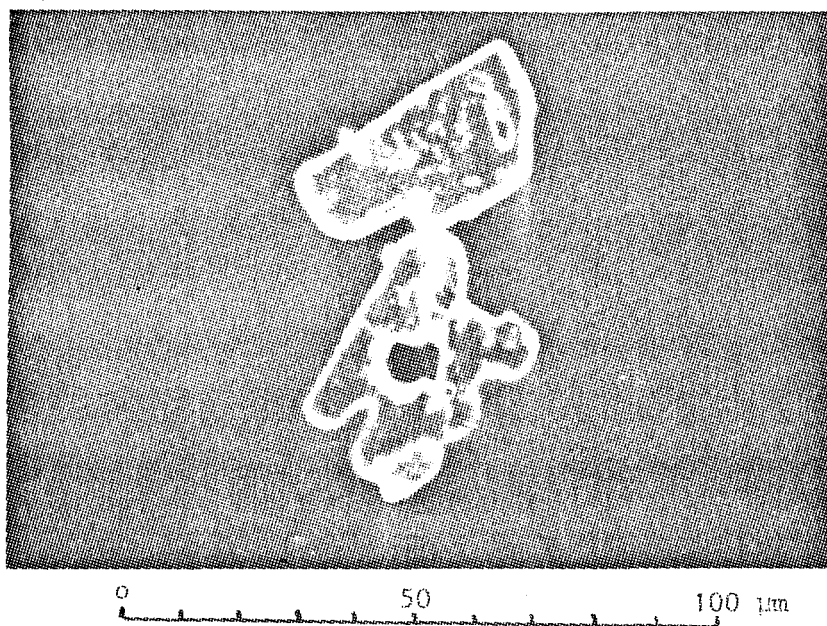


Fig. 53 : Test de résolution spatiale.

C - Obtention d'images à partir de raies Raman de basse fréquence :

Pour que l'étude d'échantillons à partir de raies Raman de basse fréquence soit possible, il faut que le taux de lumière parasite soit réduit à un niveau extrêmement bas. Il faut alors fermer les fentes au minimum compatible avec la résolution spatiale nécessaire à l'observation des détails.

La préparation est constituée de petits cristaux de soufre (S_8) déposés sur une lame de microscope. L'image Raman (fig. 54) est obtenue à partir de la raie 43 cm^{-1} . L'objectif utilisé est de grandissement 40

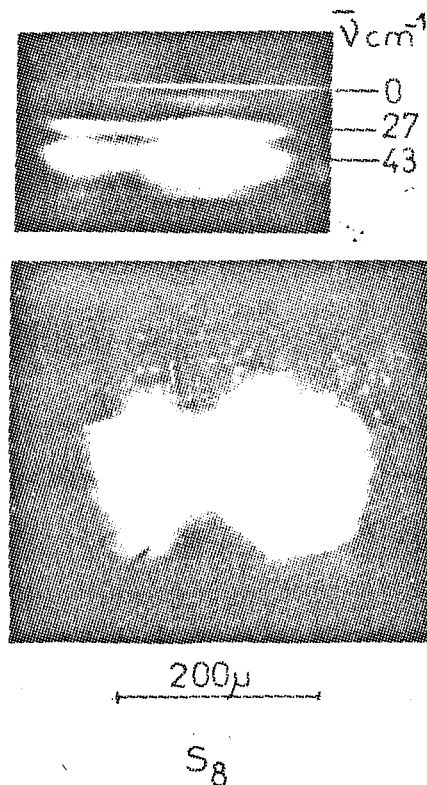


Fig. 54 : Test d'imagerie à partir de raies Raman de basse fréquence.

et l'ouverture des fentes de 1 mm. A ce niveau, la lumière parasite résiduelle diminue fortement le contraste et fait apparaître l'image de poussières sur le réseau. Cette expérience, ainsi que beaucoup d'autres réalisées avec des substances plus ou moins diffusantes, montre que 50 cm^{-1} est la limite en deçà de laquelle les images Raman deviennent inexploitable.

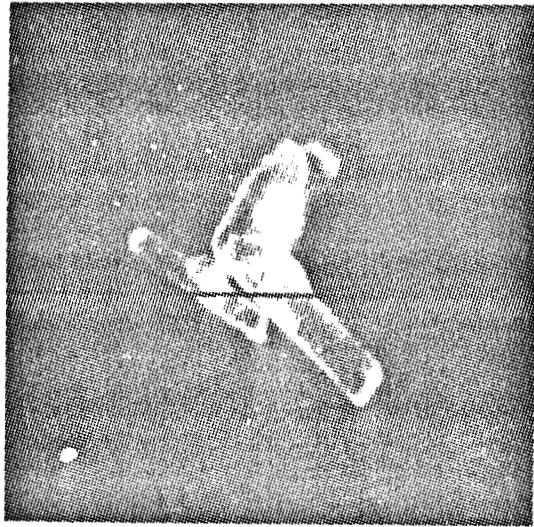
Par contre, en fermant davantage la fente d'entrée, le spectre Raman peut être observé dans le domaine des basses fréquences.

D - Utilisation d'une caméra électronique pour bas niveau :

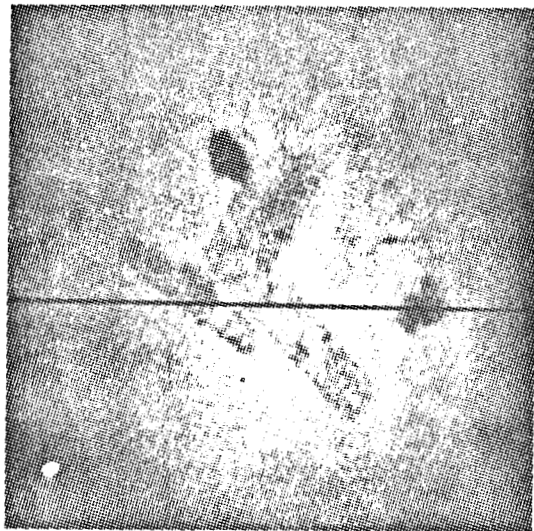
L'utilisation d'une caméra électronique de type S.E.C. qui autorise des intégrations jusqu'à plusieurs minutes, améliore considérablement la sensibilité de la chaîne de détection multicanale. De plus, on peut y associer un oscilloscope à sélecteur de ligne qui analyse le signal vidéo et permet d'obtenir facilement des profils d'intensité reflétant la distribution des constituants selon une ligne de balayage que l'on peut choisir en n'importe quelle partie de l'image.

La figure 55 illustre le principe de cette technique.

L'échantillon est constitué de petits cristaux d'oxyde de molybdène inclus dans une matrice de chromate de potassium. L'observation des images est faite avec un faisceau laser atténué d'un facteur 100 par

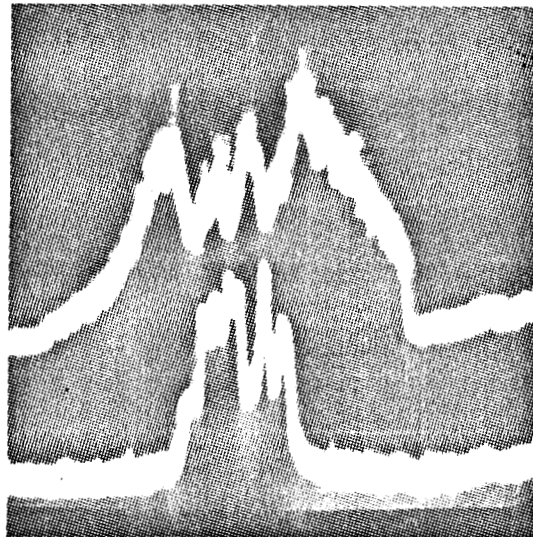


MoO_3 (818 cm^{-1})



K_2CrO_4 (850 cm^{-1})

100 μm



K_2CrO_4

MoO_3



Fig. 55 : Utilisation d'une caméra électronique pour bas niveau.

rapport aux manipulations précédentes par un filtre de densité 2. Les images Raman sont obtenues après un temps d'intégration de 4 secondes. L'analyse d'une ligne TV correspondant au centre de l'image selon que le monochromateur est calé sur une raie caractéristique de MoO_3 ou une raie caractéristique de K_2CrO_4 montre la complémentarité des distributions des deux constituants.

II - UTILISATION EN MICROSPECTROMETRE RAMAN - ECLAIREMENT PONCTUEL DE LA PREPARATION.

Pour tester ce mode de fonctionnement, nous avons réalisé un nombre important de spectres de particules de taille microscopique.

A - Contrôle de la fonction d'appareil et du taux de lumière parasite :

L'oxyde de molybdène qui possède un spectre intense avec de nombreuses raies fines permet de réaliser très facilement ce contrôle.

Nous isolons dans un échantillon constitué de petits cristaux d'oxyde de molybdène une particule d'environ 10 microns dans sa plus grande longueur et 5 microns d'épaisseur. L'objectif 40 X est utilisé pour éclairer la particule. Le diamètre du spot est de l'ordre du micron au point de focalisation ("waist") et la puissance à l'échantillon 10 mW (irradiance maximum 1 MW/cm^2). Le spectre obtenu est présenté figure 56.

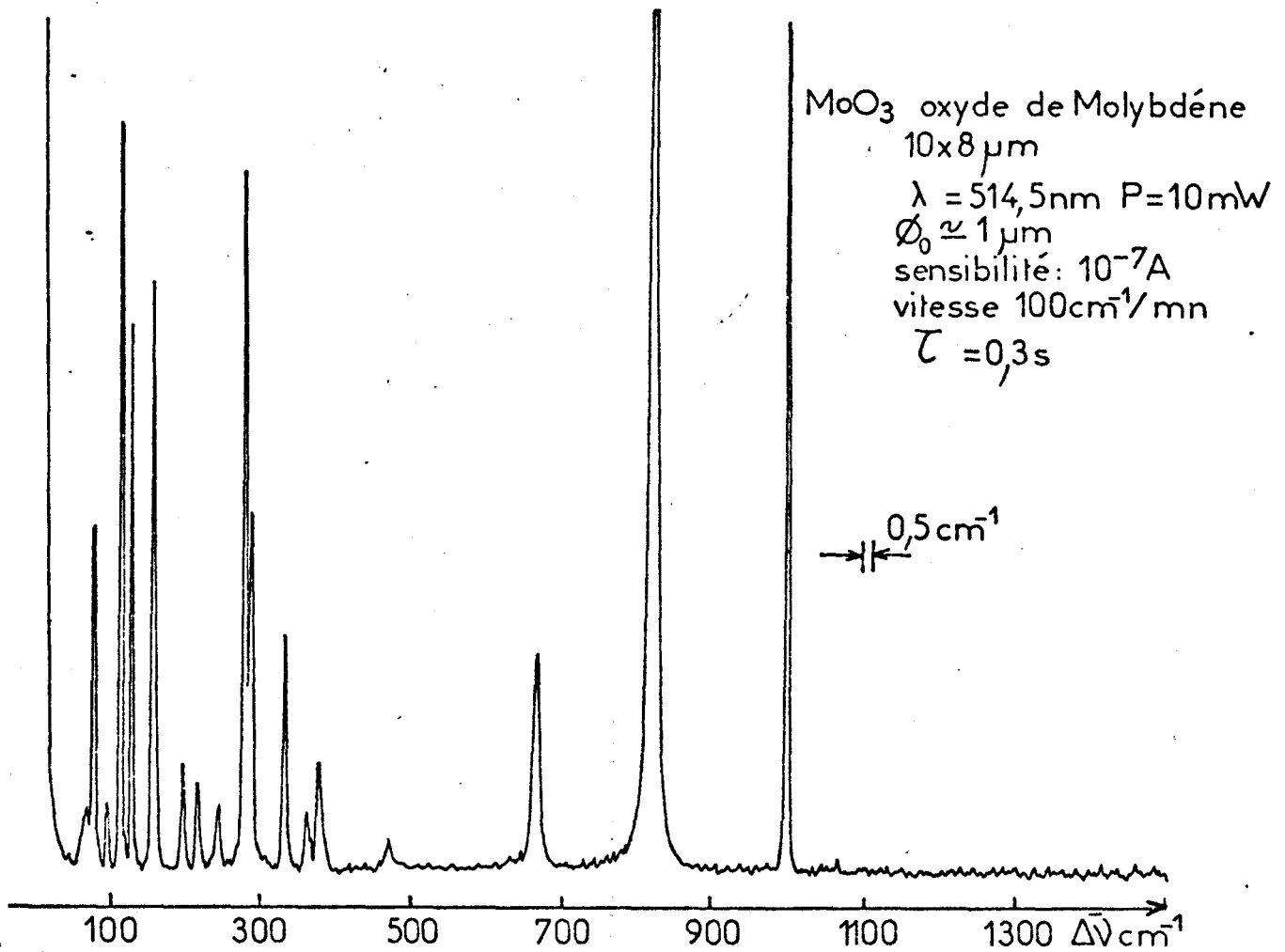


Fig. 56 : Spectre d'une particule d'oxyde de molybdène.

L'ouverture des fentes est de 60 microns ($\approx 0,5 \text{ cm}^{-1}$). Il montre des raies fines avec un profil bien symétrique. La largeur à mi-hauteur mesurée pour la raie la plus fine ($0,6 \text{ cm}^{-1}$) est tout à fait comparable à la résolution affichée. La ligne de base remonte lentement vers l'excitatrice à partir de 50 cm^{-1} . Ceci est dû à la présence des lentilles à l'intérieur du monochromateur (fente intermédiaire) qui augmente le



taux de lumière parasite. L'appareil n'a pas été conçu pour enregistrer les spectres de très basses fréquences.

B - Spectres Raman de particules de taille microscopique - Sensibilité - Irradiance de l'échantillon :

De nombreux spectres ont été réalisés à partir de substances minérales et organiques bien connues afin de pouvoir comparer ces spectres à ceux obtenus à l'aide de macroéchantillons (poudres polycristallines). Nous présentons quelques spectres illustrant la diversité des analyses que l'on peut faire. Ils ont été obtenus à partir de particules inférieures à 10 microns dans leur plus grande dimension (taille moyenne ≈ 5 microns). La fente d'entrée du monochromateur est chaque fois ajustée de manière à juste commencer d'atténuer le signal Raman provenant de la particule. Ce réglage est effectué à partir d'une raie de fréquence élevée ($\approx 1000 \text{ cm}^{-1}$).

- Spectres Raman de substances minérales :

Nous présentons quelques spectres de particules de sels minéraux du calcium (anhydrite, apatite et calcite) ainsi qu'un spectre du quartz α . (Figures 57, 58, 59, 60).

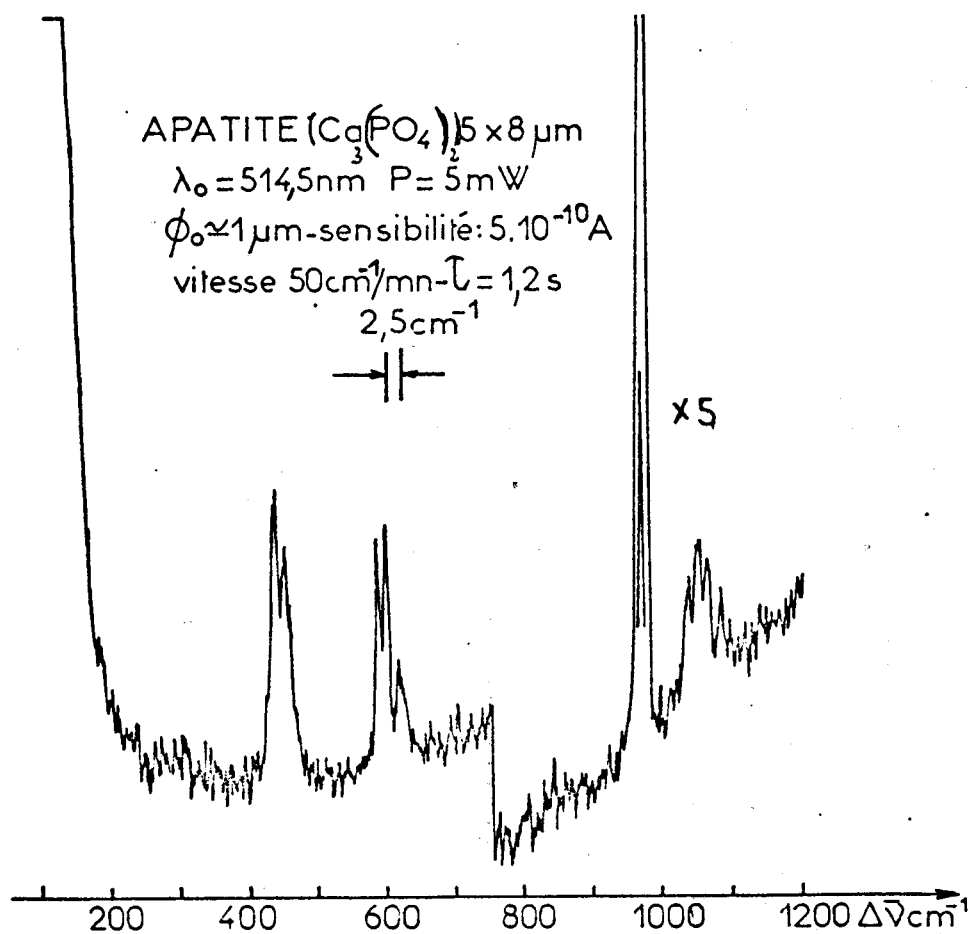
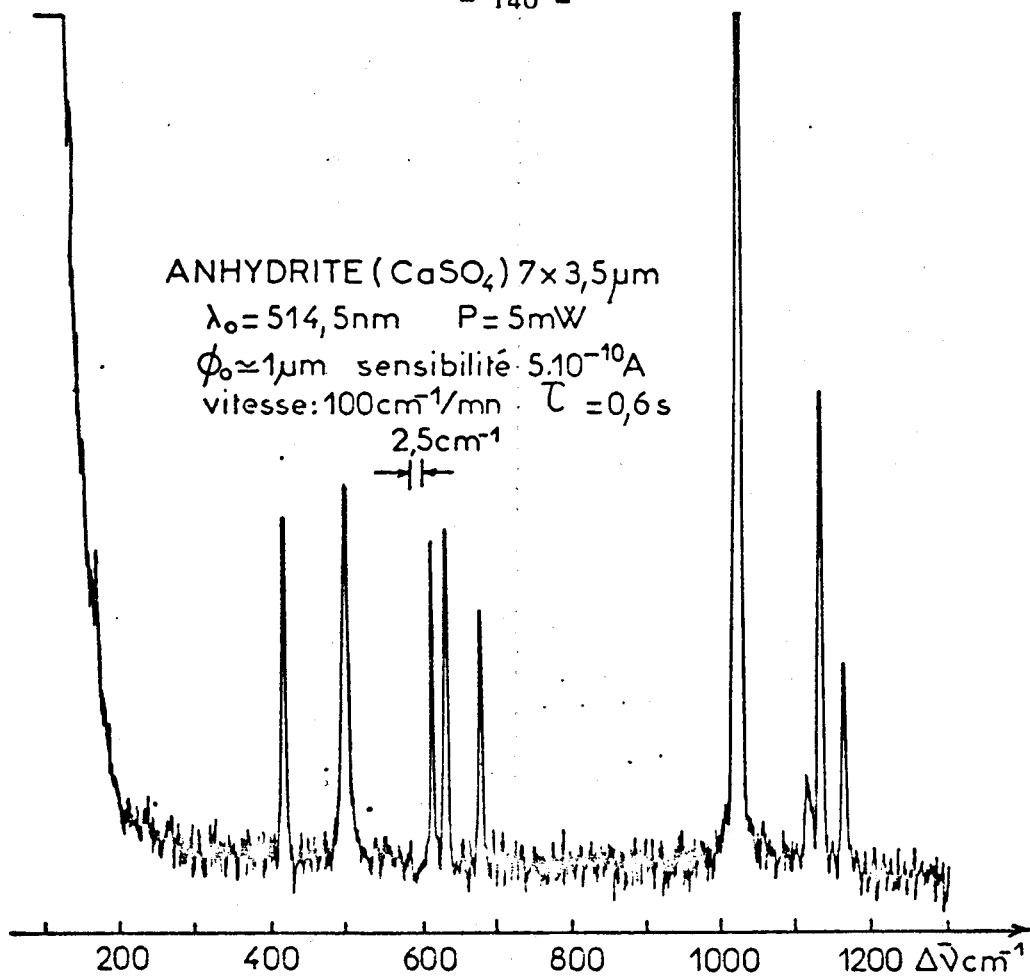


Fig. 57 et 58 : Spectres de particules isolées : Anhydrite et Apatite.

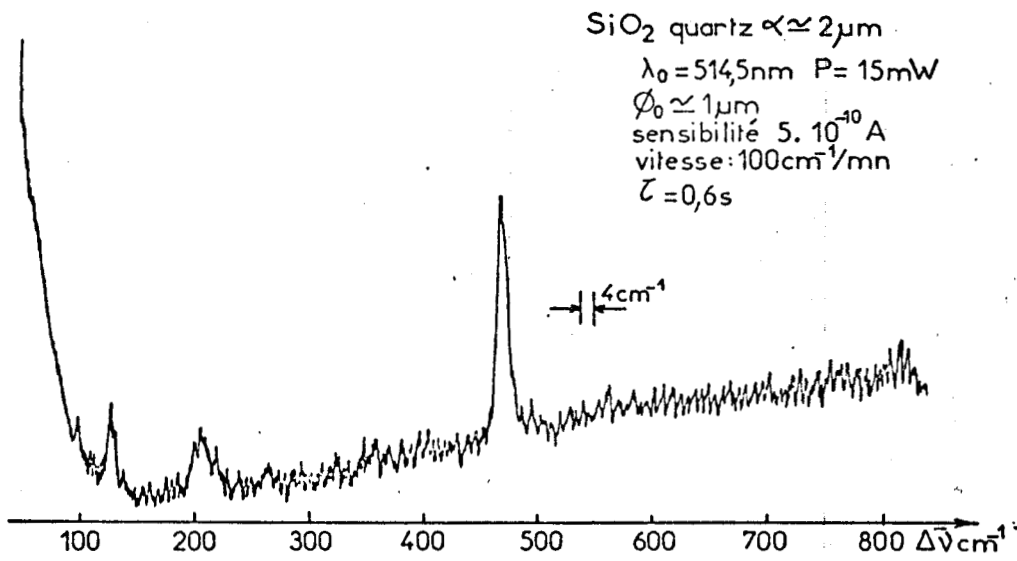
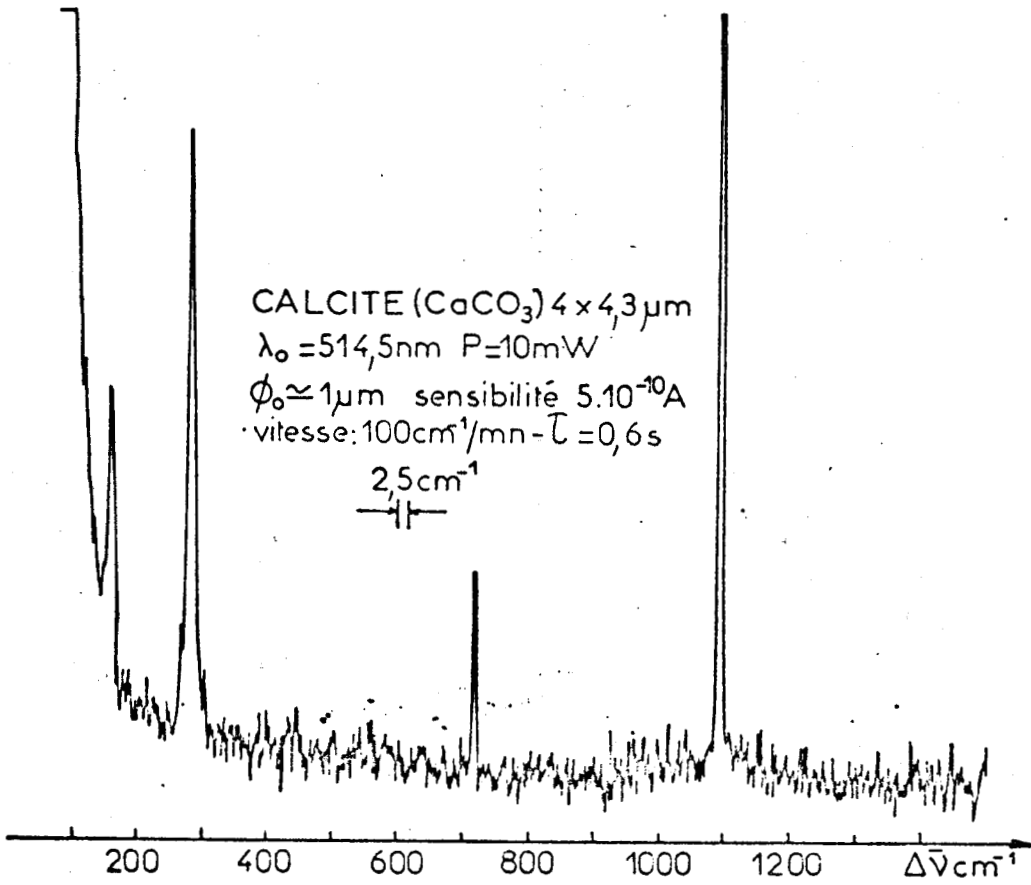


Fig. 59 et 60 : Spectres de particules isolées : Calcite et Quartz.



- Spectres Raman de substances organiques :

Nous présentons quelques spectres de substances solides : camphre, acide acétyl-salicylique, urée, polystyrène. (Figures 61, 62, 63, 64).

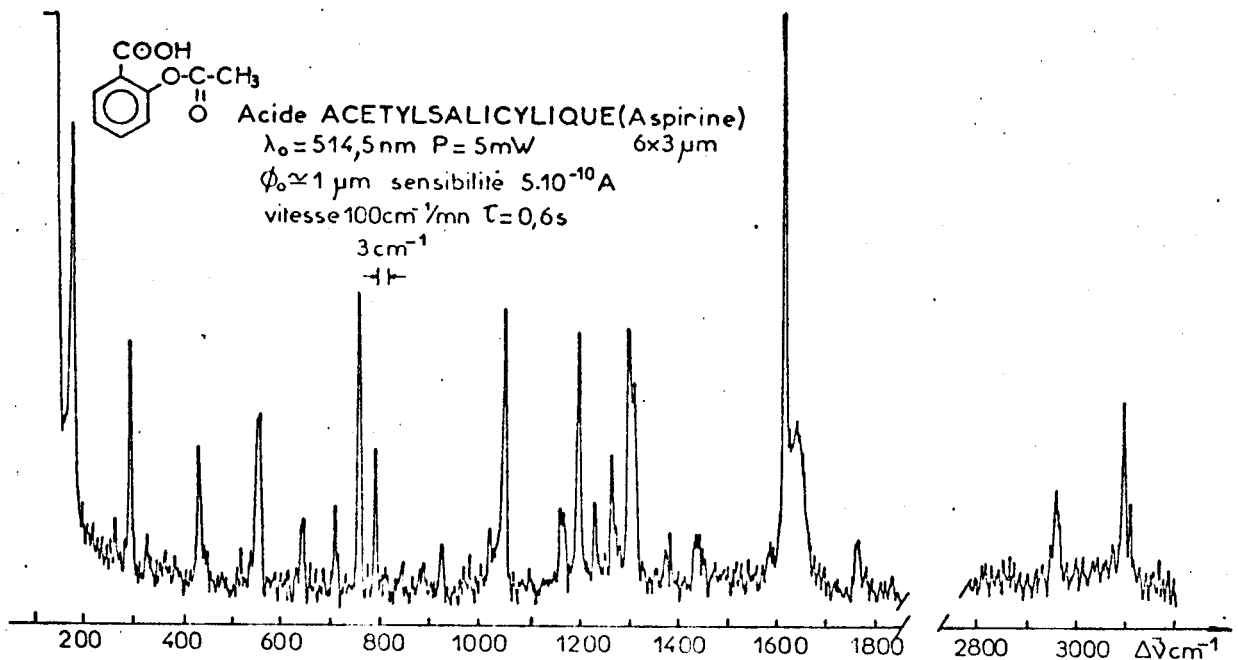
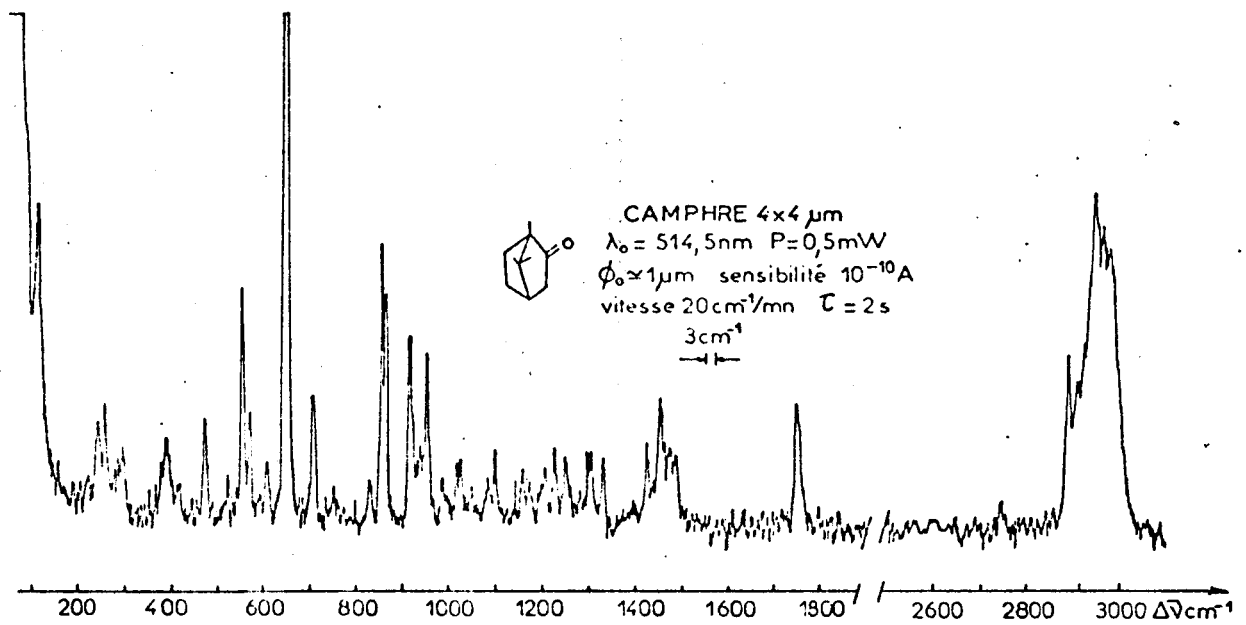


Fig. 61 et 62 : Spectres de particules isolées : Camphre et Aspirine.

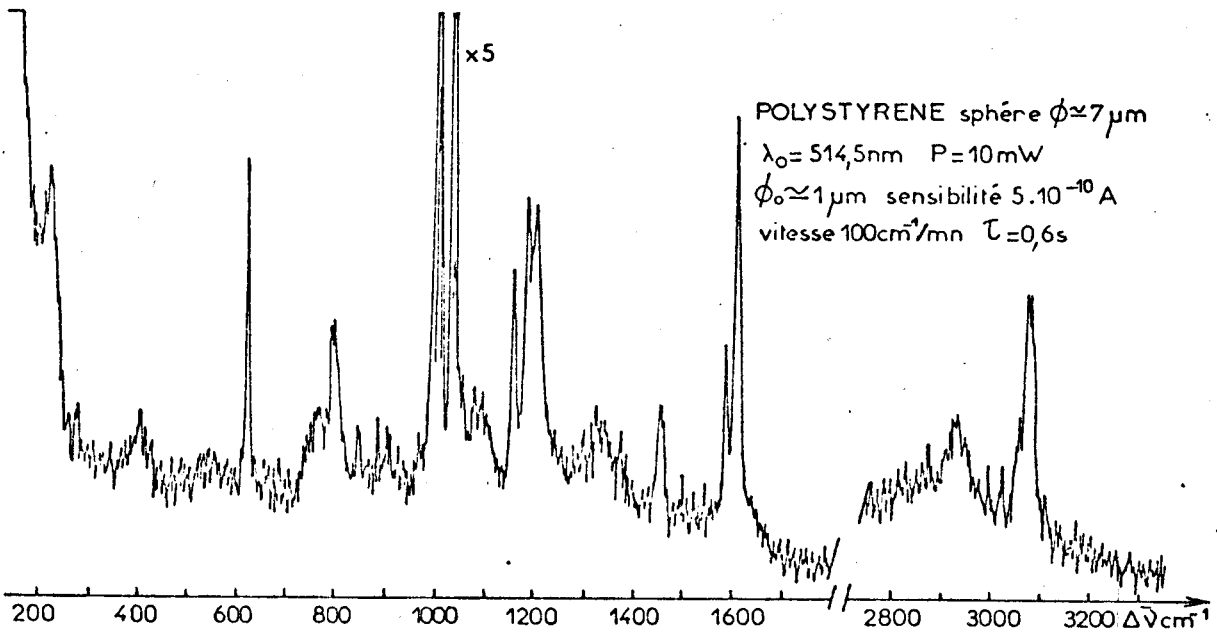
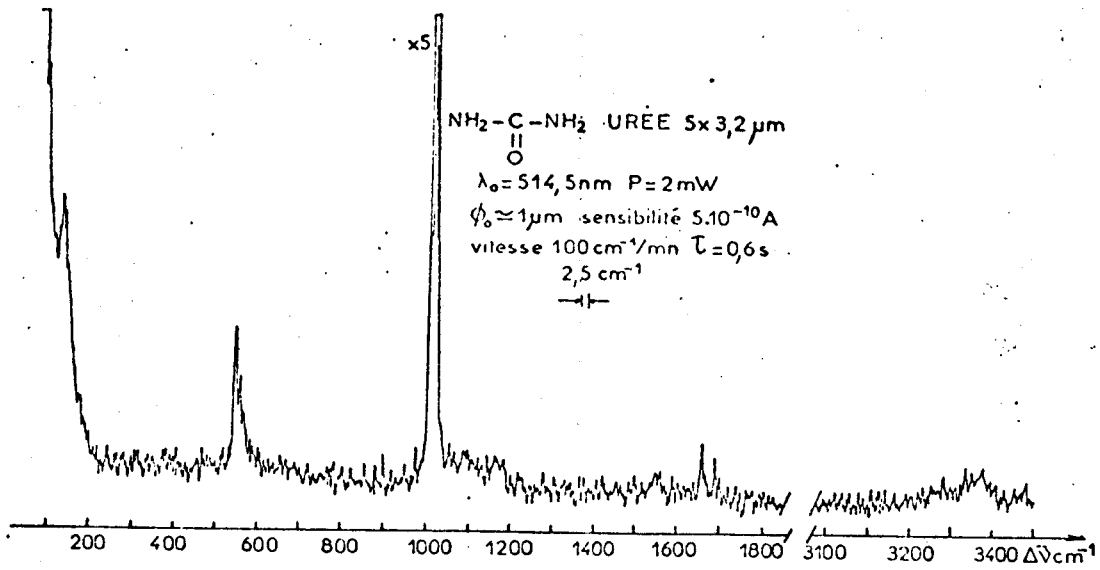


Fig. 63 et 64 : Spectres de particules isolées : Urée et polystyrène.

La taille des échantillons ainsi que les conditions d'enregistrement sont précisées sur les spectres.



Pour tous ces enregistrements, la lame de microscope en verre ordinaire ($\text{Na}_2\text{O}, 3 \text{SiO}_2$) a été utilisée comme support. Le verre s'est avéré être un bon support. Après nettoyage, la fluorescence résiduelle due à la lame est négligeable et son spectre Raman est peu gênant (deux bandes faibles et larges vers 550 cm^{-1} et 1100 cm^{-1}). Lorsque le contact thermique est bon (particule présentant une facette en contact avec le support), la conductivité du verre est suffisante pour écouler des flux de chaleur produits par l'irradiation de l'échantillon qui sont inférieurs au milliwatt.

Il faut noter que les spectres ont été obtenus avec des puissances à l'échantillon très différentes (irradiances allant du MW/cm^2 à la dizaine de KW/cm^2). L'irradiance qu'il est nécessaire d'utiliser pour obtenir un spectre exploitable dépend en effet (chapitre I) de la section efficace du matériau analysé, de son coefficient d'absorption, de sa conductivité thermique et du contact avec le support.

Malheureusement la connaissance de ces paramètres, quand elle est possible (il existe très peu de documents relatifs à la détermination des sections efficaces de diffusion Raman) ne suffit pas à déterminer la puissance nécessaire à appliquer à l'échantillon car dans la plupart des cas, des pollutions de surface et des inhomogénéités du matériau modifient considérablement les propriétés optiques et thermiques de ce dernier.

Une longue expérience de l'analyse de microéchantillons, confirme

en accord avec les travaux réalisés au N. B. S. par G.J. Rosasco et ses collaborateurs (36) qu'il n'existe pas de recette particulière pour déterminer la puissance à appliquer à l'échantillon si ce n'est qu'en règle générale, les substances minérales supportent des irradiances plus importantes que les substances organiques.

Cependant dans tous les cas, la puissance à l'échantillon doit être augmentée très progressivement pour permettre aux équilibres thermiques de s'établir.

Dans certains cas, comme l'ont montré Rosasco et Etz (36), on améliore considérablement le contact thermique entre échantillon et support en déposant sur le tout un fin film d'huile (huile pour microscopie de fluorescence ou tout autre substance non fluorescente), n'interagissant pas avec la substance à analyser. L'épaisseur du film qui recouvre l'échantillon est trop faible pour donner un spectre qui interfère avec celui de la substance à analyser.

Ces quelques tests démontrent qu'il est parfaitement possible d'identifier les substances minérales ou organiques à partir de quantités d'échantillon inférieures au nanogramme.

III - CONCLUSION

Le microscope optique est un outil parfaitement au point, possédant une large gamme d'accessoires. Il nous a paru préférable de l'utiliser sans modification et de construire le spectromètre et la détection en adaptant les techniques de pointe de la spectroscopie Raman mises au point au laboratoire. Cette démarche apparaît maintenant fondée puisque l'appareil répond parfaitement aux problèmes que pose la microanalyse d'échantillons par effet Raman.

-oo0oo-

- 2ÈME PARTIE -

DESCRIPTION DU PROTOTYPE INDUSTRIEL

Ce travail a fait l'objet de plusieurs brevets (ANVAR n° 528 804 et 762 1539 - US Patent 403 0827) et a conduit, en étroite collaboration avec une Société d'instrumentation française, la Société LIRINORD, à la réalisation d'un appareil commercial dénommé M.O.L.E.

M. Delhaye, P. Bisson, R. Demol et nous-même pour le laboratoire ont collaboré à la réalisation d'un prototype industriel avec E. Da Silva, M. Leclercq, R. Bordejo et C. Allet de la Société LIRINORD.

Après une brève critique de notre prototype de laboratoire, nous décrirons les solutions qui ont été adoptées lors de la réalisation d'un premier prototype industriel (1976) puis des instruments de série (1977).

I - CRITIQUE DU PROTOTYPE DE LABORATOIRE.

Bien que fonctionnant parfaitement, ce prototype présente essentiellement deux défauts pour son utilisateur :

- le microscope placé trop près du monochromateur est d'un accès mal commode et rend difficile les changements d'optique de transfert ;

- le changement des optiques d'éclairage et de transfert, entièrement manuel, est long et fastidieux car il oblige chaque fois l'opérateur à reconstrôler l'alignement de ces optiques lors de leur mise en place.

Un accès facile au microscope et une grande commodité d'emploi (automatismes qui permettent le passage rapide et aisé d'un mode à l'autre) ont donc été les préoccupations principales qui ont guidé le choix des solutions adoptées.

Un équilibre des formes et des volumes a été également recherché, ce dernier point, sans objet pour un prototype de laboratoire, a son importance pour un instrument destiné à être largement diffusé.

Le prototype industriel ainsi que les premiers instruments de série ont été entièrement réalisés par la Société LIRINORD.

Ce prototype a servi pendant plusieurs mois, à tester dans les conditions normales d'utilisation, la stabilité de l'alignement de l'optique, les automatismes et l'électronique. Ces tests ont ainsi permis de corriger quelques petits défauts avant le passage à la présérie industrielle.

La figure 65 représente le schéma optique complet de l'instrument. Le microscope utilisé est le modèle orthoplan de Leitz. Les objectifs sont montés sur tiroirs pour l'éclairage global de l'échantillon (objectifs UO 22 X, 32 X et 42 X, munis d'une optique annulaire) et sur tourelle pour l'éclairage ponctuel (NPL 5 X, 10 X, 20 X, 50 X et

- 1 laser;
- 2 miroirs tournants escamotables.
- 3,4 objectifs de microscope.
- 5 écran de contrôle.
- 6 optique de report d'images.
- 7,8 optiques de transfert (entrée) commutables.
- 9 optiques de transfert (sortie) commutables.
- 10 photomultiplicateur.
- 11 commutation des systèmes de détection.
- 12 tube intensificateur d'images.
- 13 optique de couplage (intensificateur-caméra électronique).
- 14 caméra électronique.
- 15 utilisation possible d'une platine porte échantillon conventionnelle.

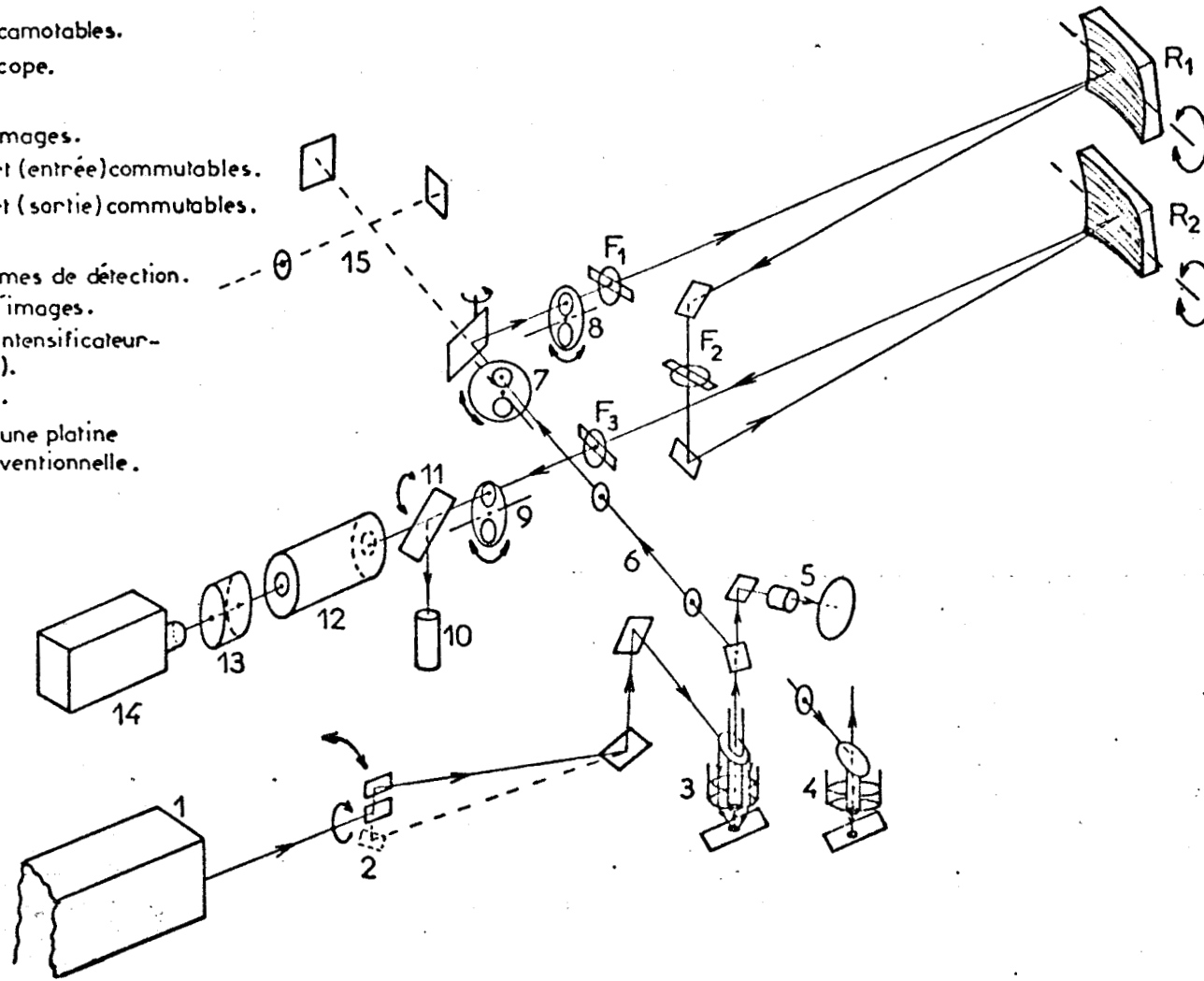


Fig. 65 : Schéma optique de l'appareil industriel.

100 X ou UMK 50 à longue frontale). Le choix de ces objectifs Leitz n'a aucun caractère restrictif. Tous les objectifs proposés par les différents constructeurs conviennent, pourvu que lors de leur acquisition, on choisisse le grandissement et l'ouverture numérique de manière à réaliser l'adaptation correcte des ouvertures (cf. 1ère Partie - Chapitre II).

Une seule restriction cependant, les objectifs dits "à la fluorine" sont à proscrire car cette substance présente un spectre de fluorescence intense qui interfère avec le spectre Raman des échantillons analysés.

II - SOLUTIONS ADOPTÉES POUR LE PROTOTYPE INDUSTRIEL ET LES INSTRUMENTS DE SERIE.

A - Accès au microscope :

Le microscope a été complètement dégagé de l'appareil. Pour ce faire, une optique reportée à une distance de 420 mm en grandeur et en positions relatives l'image de la préparation et la pupille de l'objectif.

L'axe optique du microscope se trouve ainsi placé à une distance de 700 mm de la fente d'entrée du monochromateur.

B - Automatisme intégral de la commutation des optiques et des systèmes de détection :

Le schéma optique montre les parties mobiles des optiques de transfert montées sur disques. Ces derniers sont commandés par des micromoteurs et des butées mécaniques autorisent un positionnement précis et parfaitement reproductible des lentilles sur l'axe optique de l'instrument.

De la même manière, un micromoteur actionnant la rotation d'un miroir permet de passer de la détection monocanale à la détection multicanale et un autre met en place ou escamote le système de miroirs tournants pour l'éclairage global ou ponctuel de la préparation.

Par simple basculement de contacteurs, on peut ainsi passer en quelques secondes du mode image au mode spectre et inversement.

C - Le filtre optique :

Afin de réduire l'encombrement du filtre optique, les deux monochromateurs sont superposés et couplés par un système de miroirs en toit. On diminue de moitié la longueur du filtre optique.

Les commandes des fentes sont électriques. Pour chaque fente, un potentiomètre multitours commande la rotation d'un moteur pas à pas, extérieur au monochromateur, qui entraîne le mécanisme d'ouverture des fentes. Ces dernières peuvent être ajustées avec une précision d'un micron.

D - Description de l'instrument de série :

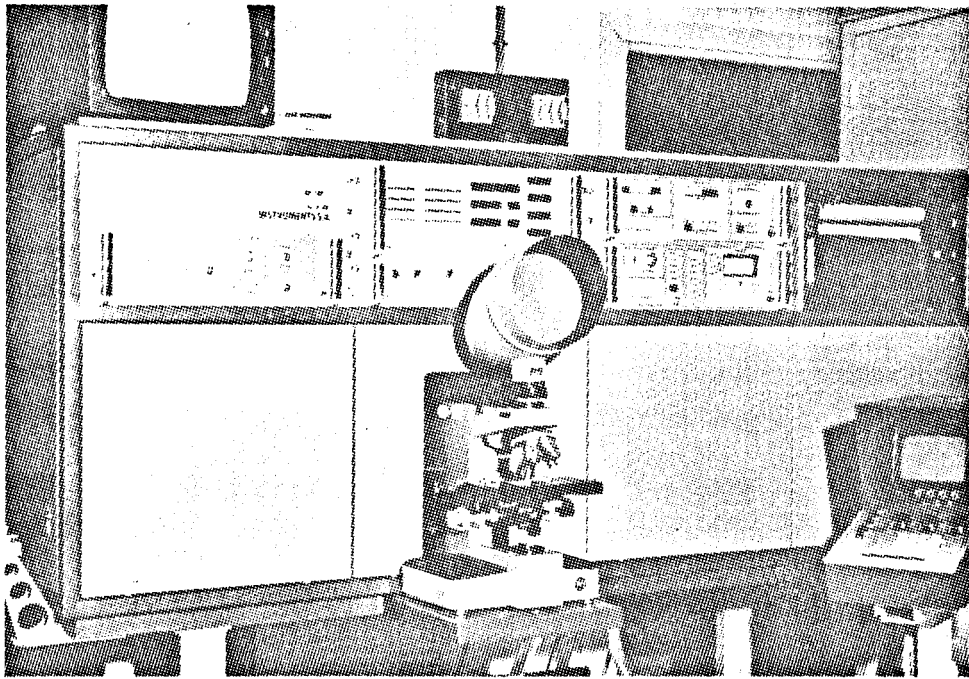


Fig. 66 : Aspect général de l'appareil industriel.

La figure 66 montre l'aspect général de l'instrument. Le bâti a été conçu de manière telle que le microscope soit au centre de l'instrument

réalisant ainsi l'équilibre des volumes et des formes.

A l'intérieur du bâti, la partie droite est occupée par le filtre optique et la partie gauche par la caméra électronique S.E.C. ainsi que le mécanisme de mise en position et d'entraînement des miroirs tournants.

Le diagramme présenté sur la figure 67 résume les fonctions et les automatismes de l'appareil.

Sur l'instrument, on trouve sous forme de tiroirs :

- les commandes de la caméra électronique, du tube intensificateur d'images, de la tension du photomultiplicateur, des vitesses du moteur commandant la rotation des réseaux ;
- un bloc qui permet l'affichage numérique des nombres d'ondes, le positionnement automatique du monochromateur sur quatre valeurs présélectionnées, le balayage cyclique entre bornes et la coupure automatique du faisceau laser. Un clavier fonctionnel permet d'initier toutes ces fonctions ;
- l'amplificateur à courant continu et l'enregistreur à plume.

Sur un pupitre, près du microscope, on trouve le moniteur de télévision, les commandes de commutation des modes de fonctionnement (image-spectre) et d'ouverture des fentes, les touches de positionnement auto-

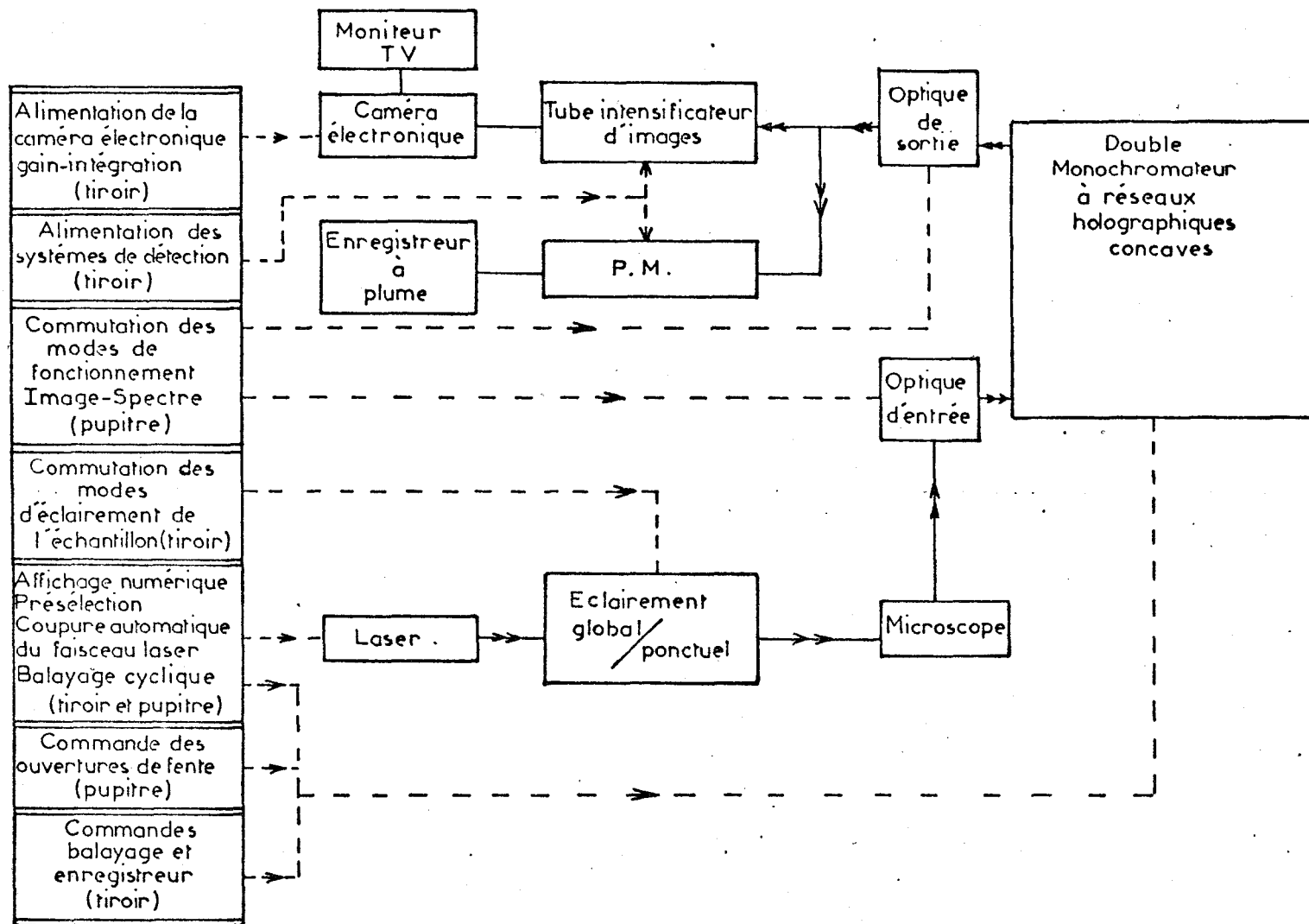


Fig. 67 : Fonctions et automatismes de l'appareil industriel.

matique sur les quatre valeurs présélectionnées et une touche pour la coupure du faisceau laser.

E - Conclusion :

L'automatisme de commutation des modes de fonctionnement fait de l'instrument de série un appareil extrêmement souple d'emploi. Selon la nature de l'échantillon et du problème à résoudre, il est possible d'utiliser aussi bien l'éclairement global avec la détection monocanale (pour éviter la dégradation thermique d'un échantillon fragile, par exemple) que l'éclairement ponctuel avec le système d'imagerie. Cette dernière possibilité est particulièrement intéressante car elle permet de déterminer très rapidement les conditions d'enregistrement qui permettent d'obtenir le maximum de signal Raman et, en ajustant l'ouverture d'un diaphragme de champ, d'éliminer toute la lumière (zones fluorescentes, fond continu, matrice) qui ne provient pas du point irradié.

110

- 3ÈME PARTIE -

QUELQUES DOMAINES D'APPLICATION

- L'analyse des ions dissous dans les phases aqueuses est effectuée par les techniques de la voie humide ou de la radioactivation (dosage des ions Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Cl^- , SO_4^{2-} , Br^- ...). Ces techniques sont destructives et ne permettent d'analyser qu'une population d'inclusions.
- L'analyse des gaz H_2O , CO_2 , CH_4 et d'autres hydrocarbures est effectuée par chromatographie en phase gazeuse ou spectrométrie de masse.

Ces deux derniers types d'analyse font également appel à des techniques destructives (broyage ou décrépitation par chauffage) et l'échantillon récupéré peut parfois être très différent de celui qui existait dans l'inclusion (absorption sélective de certains constituants par le minéral broyé ou par contamination atmosphérique). Elles ne permettent d'analyser en général qu'une population d'inclusions.

La technique idéale devrait être non destructive et permettre l'analyse des différentes phases d'une seule inclusion à la fois. La microsonde à effet Raman, de par sa capacité à analyser "in situ" de façon non destructive, de très faibles quantités de matières ($< 10^{-9}$ g) est particulièrement bien adaptée à l'étude des inclusions fluides et ceci fut démontré pour la première fois en 1975 par G.J. Rosasco et E. Rodder (40). Cependant, cette technique comme tout autre, a ses limites.

Nous nous efforcerons dans cette partie de montrer par quelques exemples ce qu'elle peut apporter et quelles sont ses limites.

Ce travail a été essentiellement réalisé en collaboration avec B. Poty et J. Dubessy du Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques de Vandoeuvre-les-Nancy. (Dolomies de Lastourville - Gabon -, quartz de Vermuthfluh - Suisse -, quartz de Camperio -Tessin -, pegmatite de Bancroft - Ontario -, quartz de Brigue - Valais) et pour une plus faible part avec J.C. Touray du département des Sciences de la Terre de l'Université d'Orléans et Madame Guilhaumou du laboratoire de Minéralogie de l'Ecole Normale Supérieure de Paris (Dolomites et quartz provenant de diapsirs tunisiens).

a) *Analyse des phases fluides :*

1 - *Inclusions monophasées gazeuses ou liquides :*

La microsonde permet dans ce cas l'identification des différents constituants d'un mélange et la détermination de leur fraction molaire à partir des sections efficaces de diffusion Raman relatives et de la courbe de réponse spectrale de l'instrument.

La figure 68 montre les résultats obtenus lors de l'analyse d'une inclusion monophasée contenue dans un quartz provenant des Dolomies de Lastourville (Gabon) (41).

Cette inclusion est essentiellement constituée de CH_4 , CO_2 et H_2S avec des fractions molaires respectives de 66 %, 33 % et 1 %.

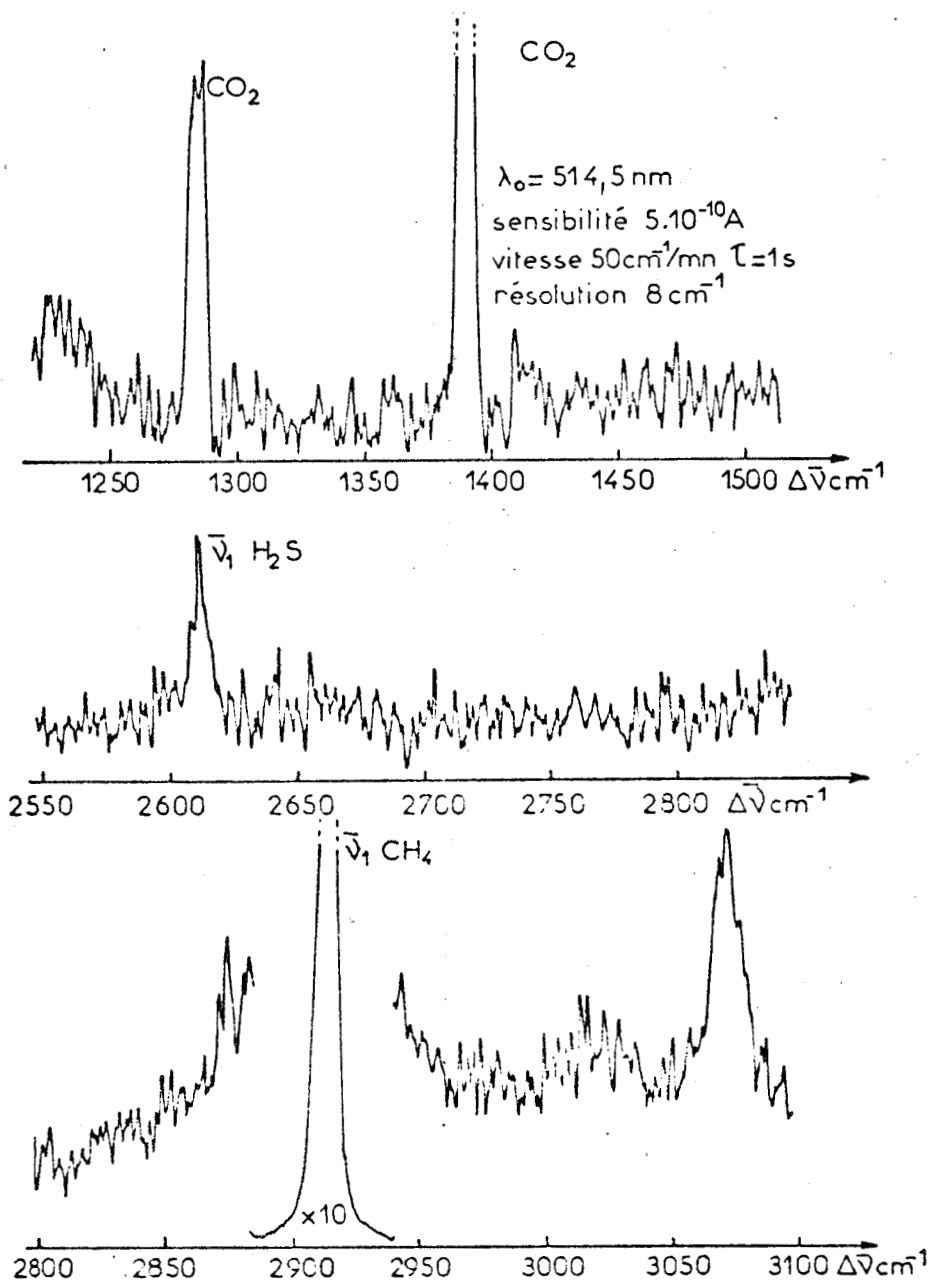


Fig. 68 : Analyse d'une inclusion monophasée dans un quartz provenant des Dolomies de Lastourville (Gabon).

De la même façon, des inclusions gazeuses ($< 50 \mu\text{m}$) constituées de mélanges en proportions variées d'azote et de gaz carbonique ont été étudiées dans des cristaux de quartz et Dolomite de Tunisie centrale (42).

Le rapport des fractions molaires N_2/CO_2 varie de 0,3 à 9 selon les inclusions. La figure 69 montre un exemple de spectre obtenu à partir d'une inclusion monophasée riche en azote d'un cristal de Dolomite.

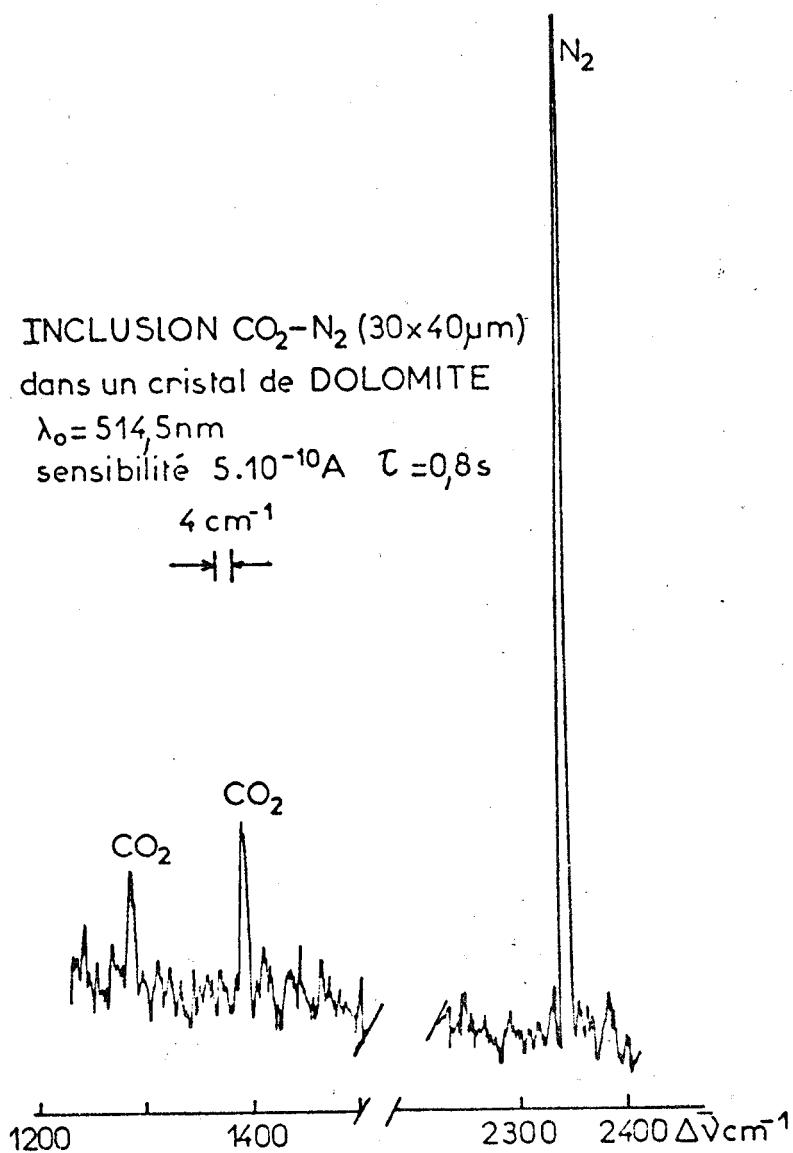


Fig. 69 : Analyse d'une inclusion monophasée dans une Dolomite provenant de diapsirs tunisiens.

On observe également dans ces minéraux de rares inclusions organiques essentiellement constituées d'hydrocarbures aromatiques ou aliphatiques selon les inclusions comme nous l'a révélé l'enregistrement des spectres Raman (fig. 70 et 71). Les caractéristiques générales du spectre présenté fig.70 indiquent des hydrocarbures proches du benzène.

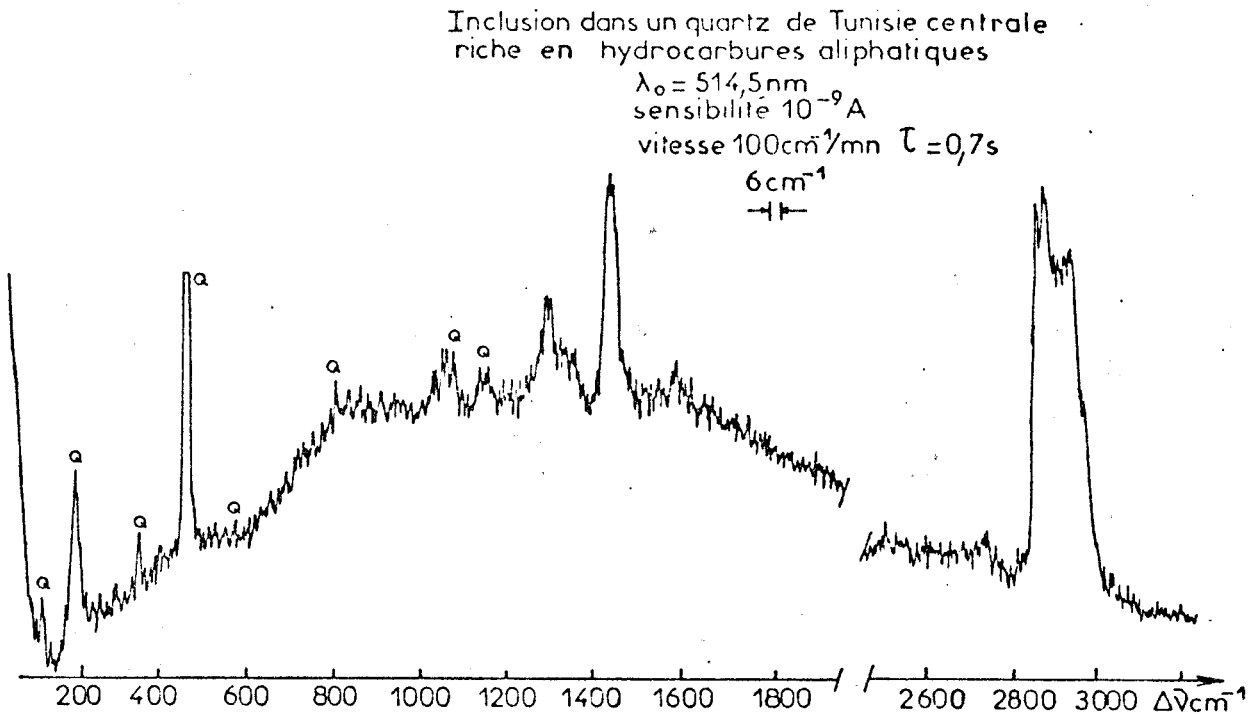
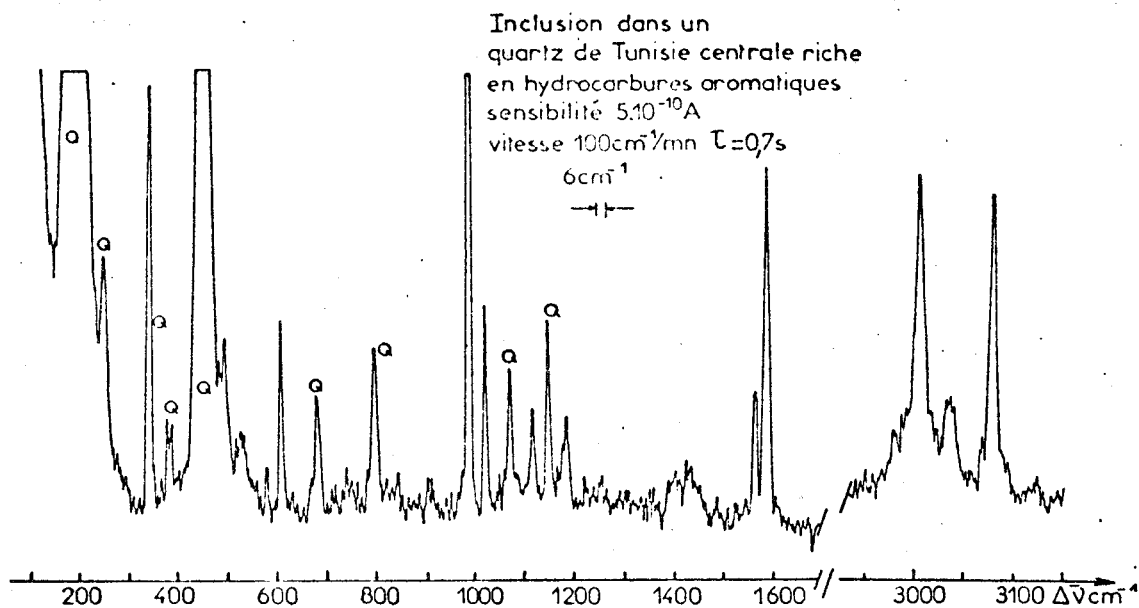


Fig. 70 et 71 : Analyse d'inclusions à hydrocarbure dans un quartz provenant de diapsirs tunisiens.

L'origine de l'azote reste problématique. Cependant, l'association des inclusions riches en azote à des inclusions d'hydrocarbures liquides, comme l'association spatiale des gites dont proviennent les cristaux avec des indices pétroliers superficiels, rend plausible une origine organique de ce gaz en dépit de l'absence de méthane dans les cavités qui le renferment (43).

2 - *Inclusions multiphasées - gaz et ions dissous dans l'eau.*

- *Inclusions biphasées CH_4 (v) - H_2O (l) :*

L'échantillon étudié provient de Vermuthfluh (Aar). La figure 72 montre que le méthane, bien que très peu soluble (la teneur en méthane dissous est de l'ordre de quelques ppm) est détectable dans la phase aqueuse. Ceci est très important, car on peut de cette manière, obtenir une mesure indirecte des pressions dans les inclusions. Cette mesure est également possible à partir du déplacement en fréquence, par effet de pression, de la raie ν_1 du méthane contenu dans la bulle.

- *Inclusions triphasées CO_2 (v) - CO_2 (l) - H_2O (l) :*

Le gaz carbonique est très facilement identifiable, dans les trois phases fluides des inclusions de quartz de Camperio (Tessin) (fig. 73). On confirme ainsi que le gaz carbonique dissous dans la phase aqueuse n'est pas sous forme de H_2CO_3 mais reste sous forme de molécules CO_2 de structure linéaire. La modification du rapport des intensités du doublet de Fermi ainsi que l'élargissement des bandes sont dues à un effet de solvant.

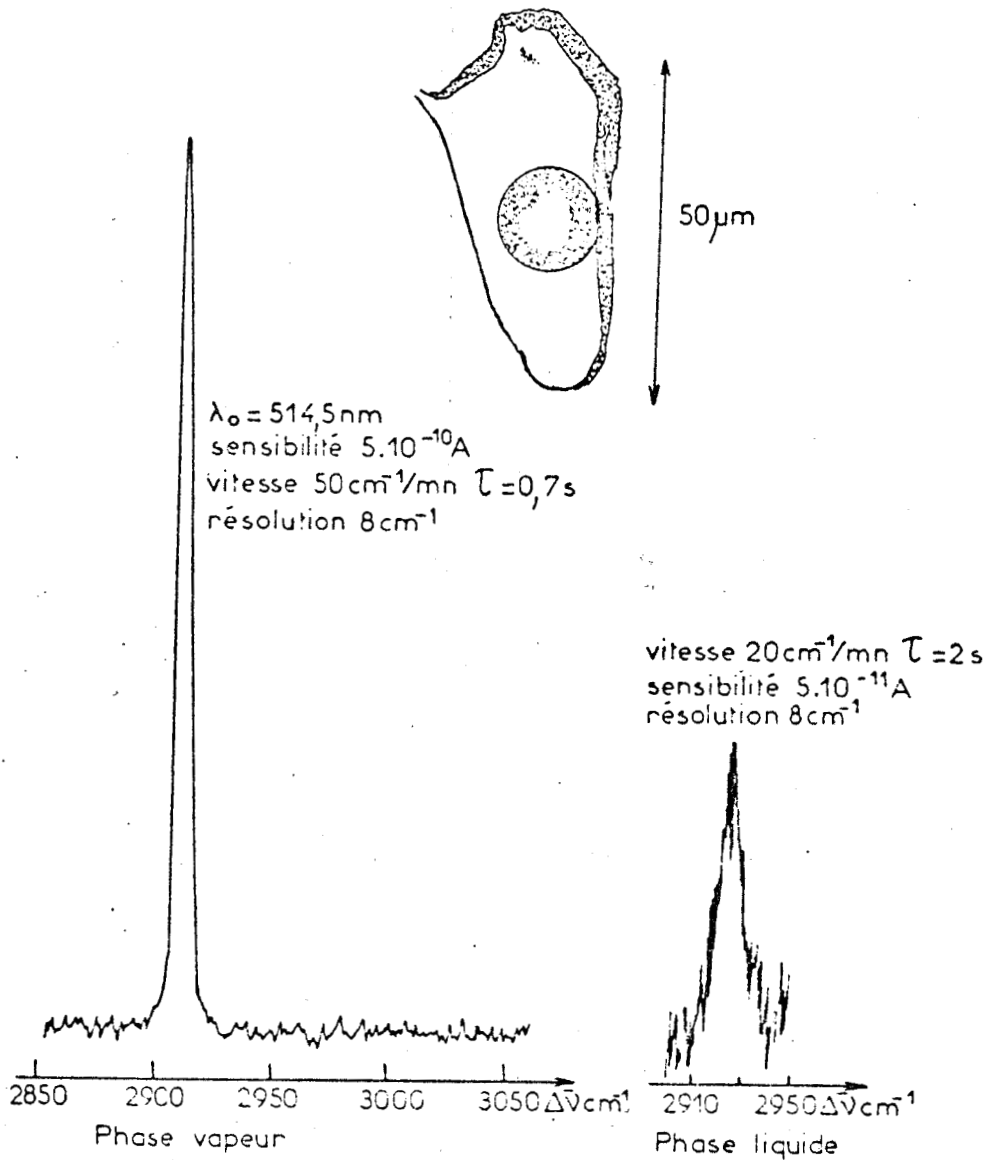


Fig. 72 : Analyse d'une inclusion biphasée $\text{CH}_4(\text{v}) - \text{H}_2\text{O}(\text{l})$ dans un quartz provenant de Vermuthfluh (Suisse).



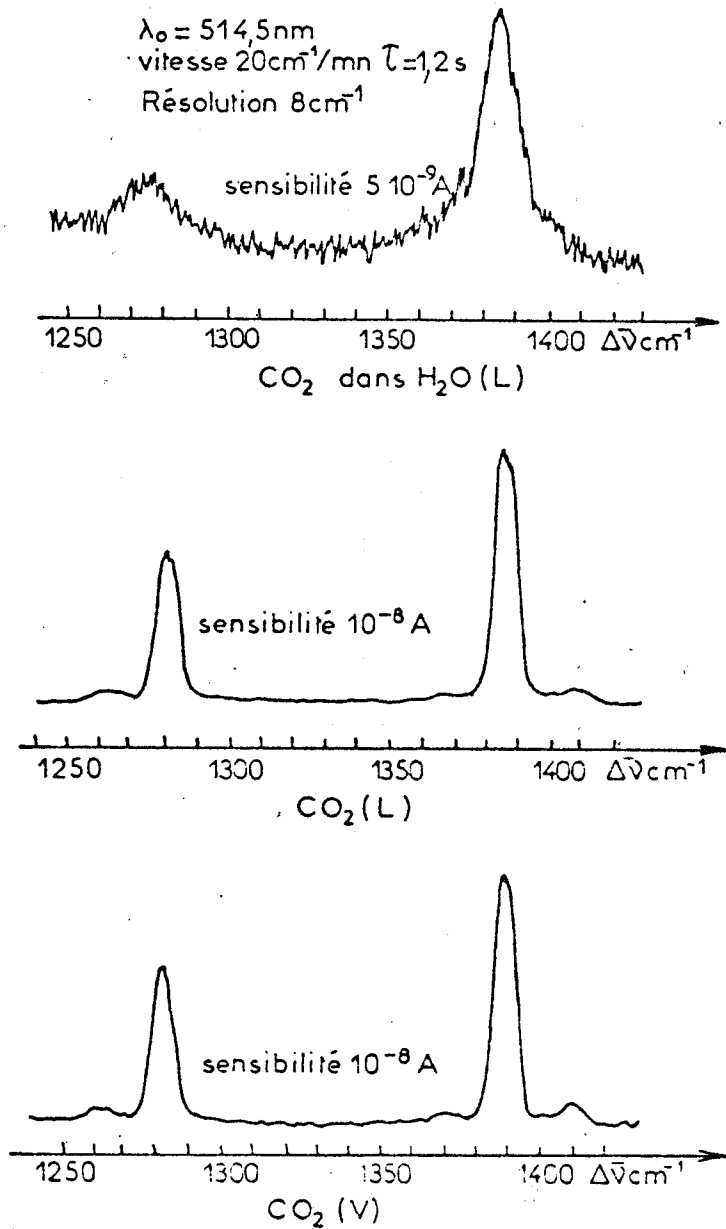


Fig. 73 : Analyse d'une inclusion triphasée $\text{CO}_2 \text{ (V)} - \text{CO}_2 \text{ (L)} - \text{H}_2\text{O (L)}$ dans un quartz provenant de Camperio (Suisse).

Enfin, la méthode permet l'analyse isotopique (mesure de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) à partir du spectre du gaz carbonique liquide ou gazeux (fig. 74).

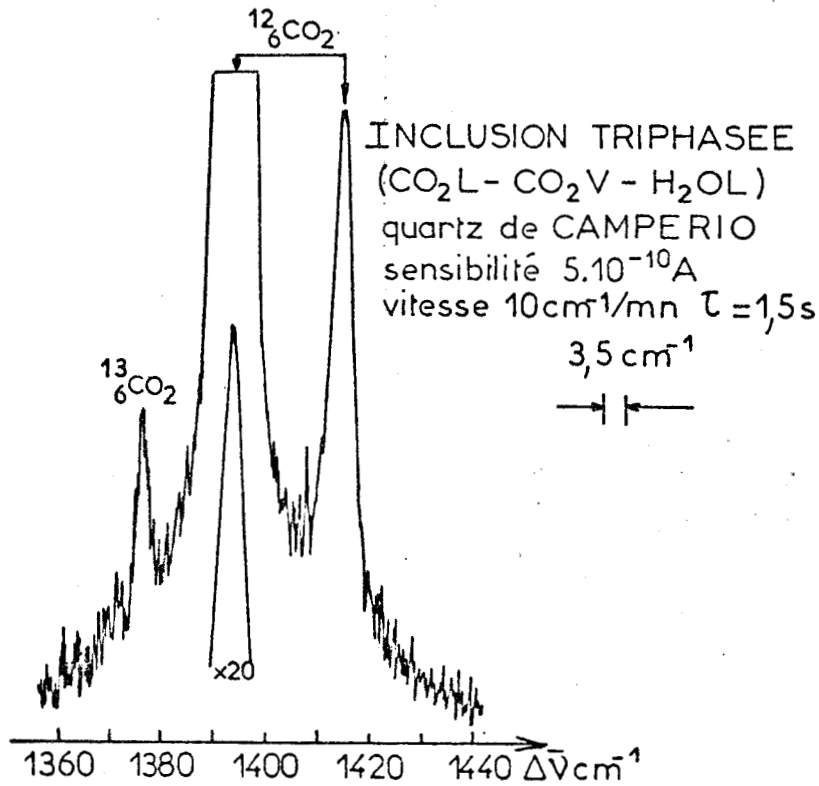


Fig. 74 : Analyse isotopique à partir du spectre de la phase $\text{CO}_2(\text{L})$.

La mesure précise de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ exige cependant l'utilisation de standards, car le rapport des intensités du doublet de Fermi n'est pas le même pour les molécules de $^{12}\text{CO}_2$ et $^{13}\text{CO}_2$ (44). Il faut noter que l'analyse est non destructive, réalisée "in situ" et que la quantité d'échantillon qui est effectivement analysée, de l'ordre de 10^{-11}g , est bien inférieure à celle

nécessaire pour effectuer la même analyse par spectrométrie de masse.

- Les ions polyatomiques peuvent être également identifiés dans de très faibles volumes. Les essais effectués sur les ions sulfates (SO_4^{2-}) par J. Dubessy, ainsi que les estimations de G.J. Rosasco (45) montrent que l'on peut atteindre un seuil de détection inférieur à 1000 ppm dans les conditions normales d'utilisation (sans accumulation de spectres). Pour l'ion uranyle, qui présente un spectre de résonance lorsqu'il est excité dans le bleu (46), on peut s'attendre à une détectivité encore meilleure, d'où des applications très importantes pour la compréhension de la géochimie de l'uranium.

b) *Analyse des phases solides :*

Les phases solides de quelques microns de dimension, à l'intérieur d'inclusions multiphases, peuvent être identifiées sans difficulté à partir de leur spectre Raman.

La figure 75 montre, par exemple, l'enregistrement obtenu à partir d'un petit cristal biréfringent, contenu dans une inclusion fluide d'un quartz de pegmatite de Bancroft. Les raies notées S sont celles du solide, les autres raies proviennent de la matrice et de la phase fluide. On identifie ainsi directement, la Nahcolite (NaHCO_3) (52). L'apport de la microsonde Raman, dans ce cas, est déterminant, car aucune méthode ne permettait jusqu'ici l'analyse "in situ" des phases solides.

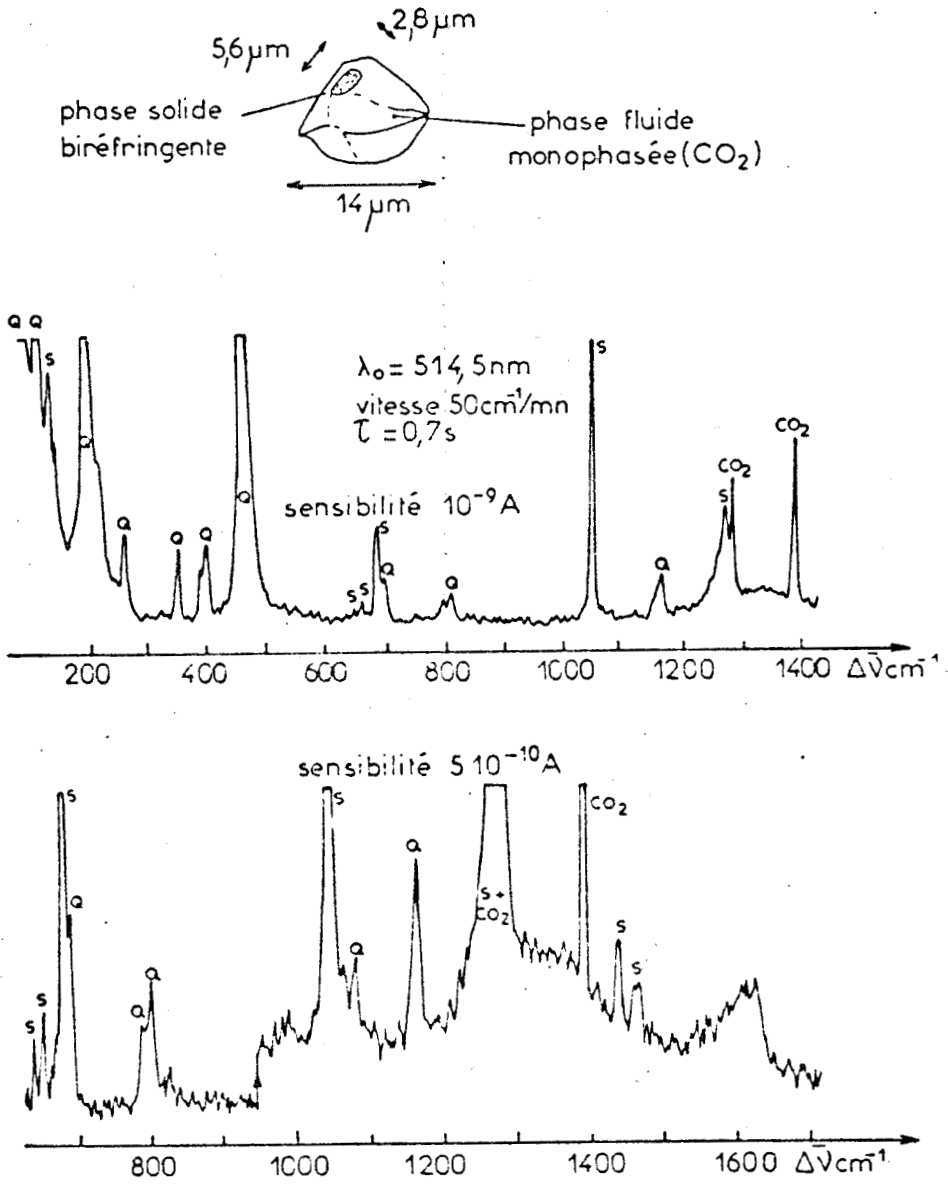


Fig. 75 : Analyse de la phase solide d'une inclusion dans un quartz provenant de Bancroft (Canada).

c) Conclusion :

La microanalyse par effet Raman n'est certes pas la panacée universelle pour le géochimiste, car il existe certaines limitations inhérentes à la technique. En particulier, l'étude des phases colorées en brun ou

noir peut s'avérer difficile si l'échantillon est trop absorbant (destruction thermique) et certains hydrocarbures en inclusion peuvent être fluorescents. La technique ne permet pas de détecter les ions monoatomiques et, sauf exception (spectre de résonance), les substances en trop faible teneur. De plus, les métaux très réfléchissants, n'ont qu'un spectre Raman d'intensité extrêmement faible. Enfin, dans le cas de mélanges complexes d'hydrocarbures, il semble difficile d'en préciser la composition exacte.

Malgré ces limitations, la microsonde Raman s'est révélée être un outil d'un intérêt exceptionnel pour l'analyse non destructive et ponctuelle des inclusions fluides contenues dans les minéraux. En particulier, elle vient en complément de la microthermométrie et ces études sont actuellement en plein développement.

B - Identification et authentification des gemmes :

La microsonde Raman est un outil particulièrement bien adapté aux études de matières précieuses que sont les gemmes. D'autres méthodes, qui ne permettent souvent que des observations et des mesures à la surface des échantillons, sont peu utilisées en raison de leur caractère destructif.

De la même manière que pour les minéraux, les phases incluses dans les gemmes peuvent être aisément identifiées "in situ" et ceci directement à travers un clivage, une face cristalline ou une table ou autre "facette" d'une pierre précieuse taillée. Les deux opérations d'identification et

d'authentification sont ainsi réalisées simultanément par l'enregistrement des spectres : celui de la gemme matricée afin de déterminer son espèce minéralogique et celui de ses inclusions afin de la différencier des pierres synthétiques, et parfois de retrouver sa localité d'origine ou à défaut le type de gisement dans lequel elle s'est formée (rubis, saphir...) (47).

La figure 76 montre un exemple d'identification d'inclusions d'apatite ($\approx 30 \mu\text{m}$) caractéristiques dans un grenat de Madagascar.

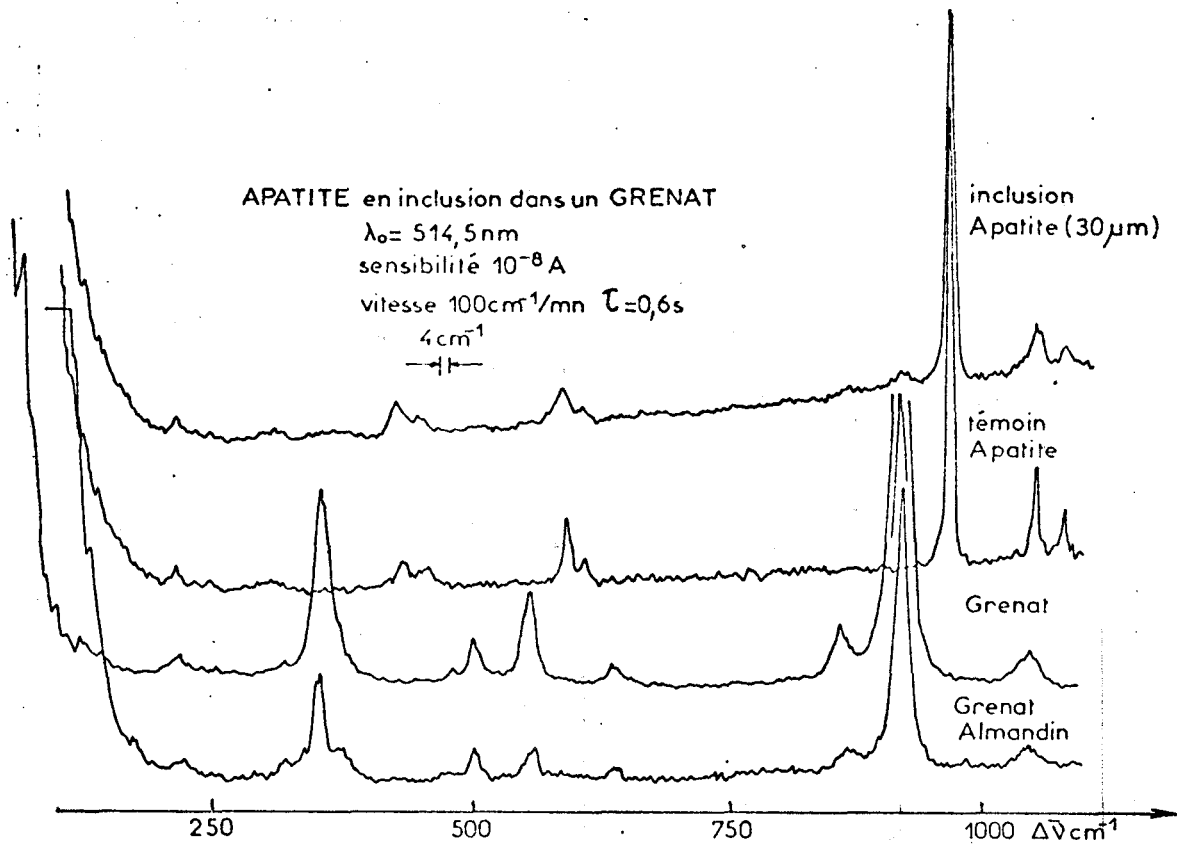
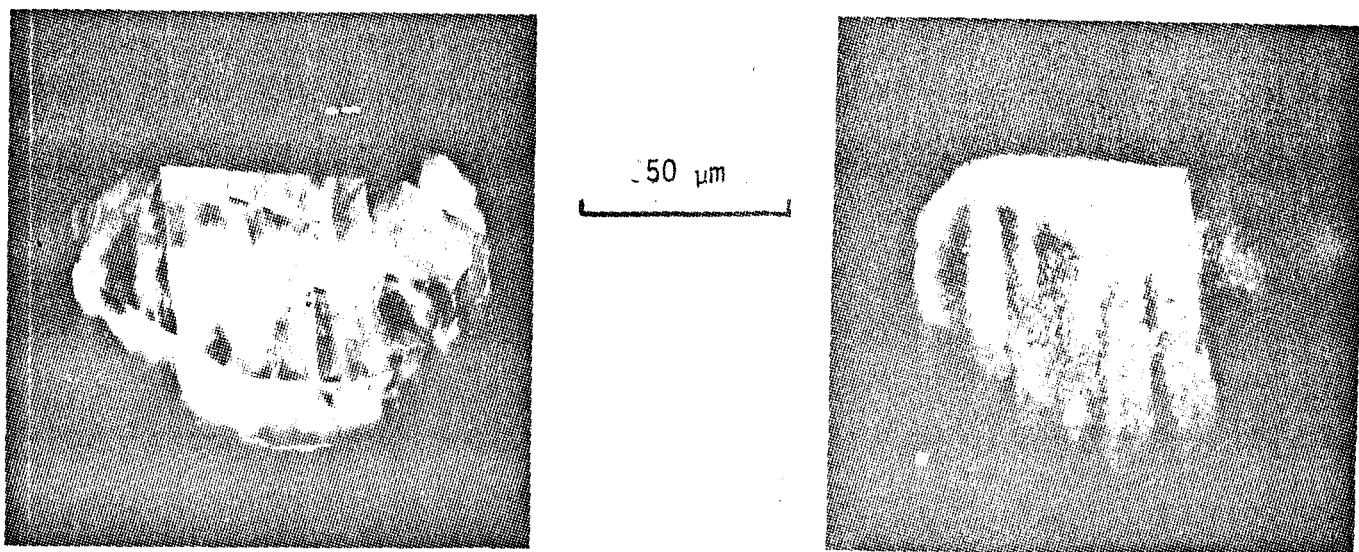


Fig. 76 : Identification d'inclusions d'Apatite dans un grenat provenant de Madagascar.

Dans certains cas, l'image Raman des solides en inclusion peut être obtenue, ce qui permet de la comparer à l'image classique en lumière blanche. La figure 77 montre l'image d'une inclusion de sphène dans une orthose jaune de Madagascar. L'image Raman laisse très bien apercevoir les plans de clivage de l'inclusion.



*lumière blanche par
transmission*

raie Raman (600 cm^{-1})

Fig. 77 : Images d'une inclusion de sphène dans une orthose jaune de Madagascar.

Enfin, la possibilité d'étudier sur des objets de taille décimétrique de très petites zones localisées, ouvre encore plus l'éventail d'utilisation de cet appareil notamment en muséologie, archéologie, cosmo-minéralogie.

Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec H.J. Schubnel du laboratoire de Minéralogie du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.

II - APPLICATION AU CONTROLE DES MATERIAUX INDUSTRIELS.

L'apparition de défauts lors de la production industrielle de matériaux est un problème qui est couramment rencontré. L'identification de ces défauts présente un grand intérêt, car elle permet de modifier les procédés de fabrication et de mieux choisir les matériaux entrant dans la composition du produit fini.

Très souvent, ces défauts sont malheureusement trop petits pour que l'on puisse faire appel aux méthodes d'identification chimiques usuelles et les méthodes physiques d'analyse élémentaire n'apportent pas toujours la réponse espérée. Dans bien des cas, l'analyse est impossible sans détruire l'échantillon ce qui peut modifier considérablement les résultats de celle-ci.

Parmi les nombreux problèmes qui nous ont été soumis, nous avons choisi trois exemples qui illustrent tout particulièrement l'intérêt que peut présenter la méthode de microanalyse par effet Raman.

Remarque : Certains de ces travaux ont été réalisés à la demande ou en collaboration avec des laboratoires de très grandes firmes industrielles françaises ou étrangères. Pour des raisons évidentes de secret industriel,

nous ne citerons ni le nom de ces firmes, ni le nom commercial des produits analysés.

A - Identification des substances présentes dans des bulles à l'intérieur d'un verre :

L'analyse "in situ" est la seule méthode qui permette de conserver l'intégrité du contenu de ces bulles et donc qui permette de ne pas modifier les substances qui s'y trouvent en équilibre.

La figure 78 présente un exemple d'analyse d'une bulle de l'ordre de 1 mm de diamètre dans un échantillon de verre qui se présente sous la forme d'un cube de 1 cm de côté dont une face a été polie. Nous avons mis successivement en évidence des dépôts de soufre, de sulfates et polysulfures de sodium. Enfin, la formation d'images Raman à partir de raies caractéristiques de ces substances permet de repérer très rapidement leur distribution sur les parois de la bulle. L'analyse des gaz contenus dans ces bulles est également possible. Ce travail a été réalisé en collaboration avec le laboratoire de Chimie Minérale de l'Ecole Nationale Supérieure de Strasbourg.

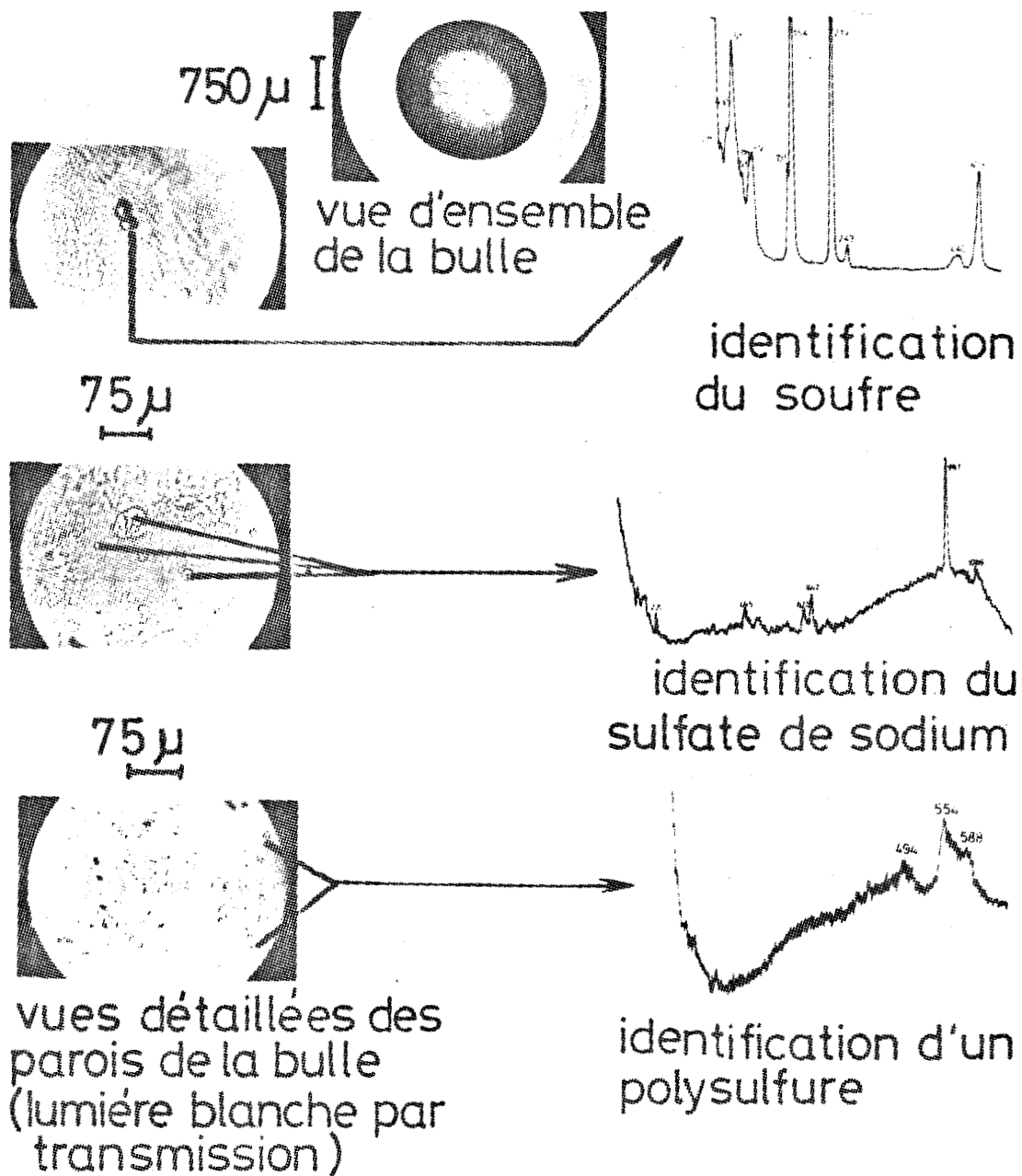


Fig. 78 : Analyse des dépôts solides sur la paroi d'une bulle dans un verre industriel.

B - Analyse de défauts dans les fibres et films synthétiques :

L'apport de la microsonde Raman est dans ce cas considérable car elle permet la microanalyse moléculaire "in situ" de très petites zones ou inclusions à l'intérieur de fibres ou films synthétiques ce qu'aucune méthode ne permettait d'obtenir jusqu'ici, car ces minuscules défauts représentent dans la plupart des cas des quantités d'échantillon très inférieures au microgramme. Nous présentons deux exemples qui illustrent bien le type d'analyse que l'on peut très rapidement réaliser avec cet instrument.

a - *Analyse d'inclusions dans un film de polyéthylène téréphtalate :*

Le problème qui nous fut soumis était l'identification de petites inclusions (10 à 20 μm) à l'intérieur d'un film de polyéthylène utilisé comme support pour la fabrication de films photographiques. Bien que presque transparentes, ces inclusions étaient très visibles après traitement du film. La microsonde Raman apporta une réponse immédiate au problème. Ces inclusions étaient de petites particules de polytétrafluoroéthylène (fig. 79) provenant des joints d'étanchéité en P.T.F.E. situés dans le circuit d'éthylène.

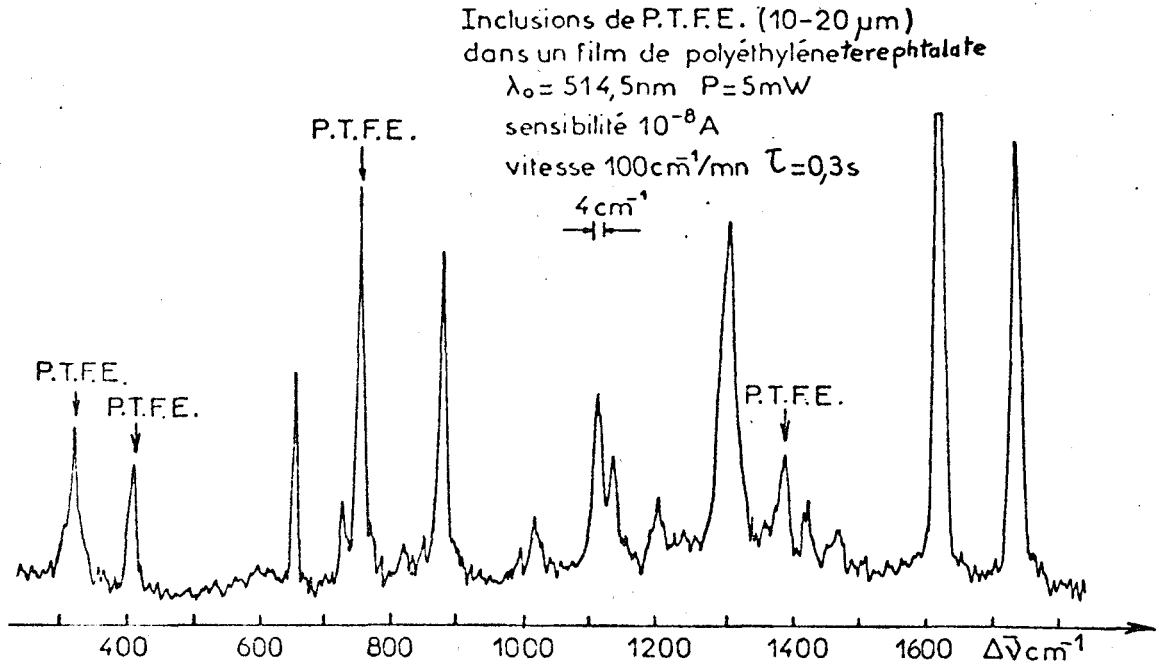


Fig. 79 : Identification d'inclusions de P.T.F.E. dans un film de polyéthylène téréphtalate.

- Analyse de défauts dans des fibres :

Des inclusions de forme ovoïde sont à l'origine de la rupture mécanique de fibres en polyéthylène téréphtalate (fig. 80). Le problème était également l'identification de la nature chimique de ces inclusions. Aucune différence notable entre les spectres de vibration interne de la fibre et de l'inclusion n'a été observée. Par contre, le domaine des basses fréquences, auquel correspondent les mouvements d'ensemble des chaînes, laisse apparaître des différences importantes qui montrent que

que les inclusions observées sont des défauts locaux de cristallinité de la fibre.

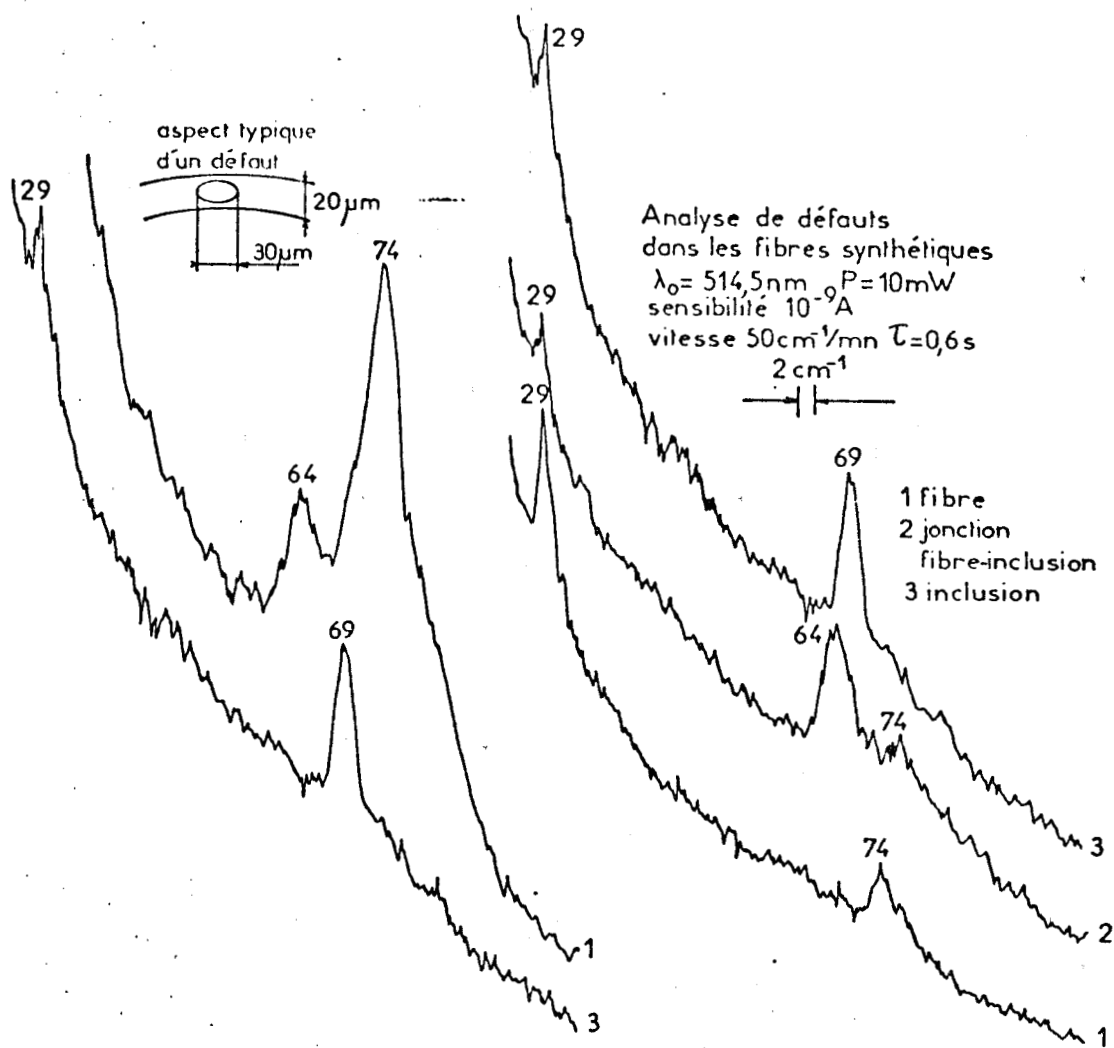


Fig. 80 : Mise en évidence de défauts locaux de cristallinité dans une fibre de polyéthylène téréphtalate.

C - Identification de dépôts et impuretés dans des circuits intégrés :

De nombreuses opérations sont nécessaires lors de l'élaboration d'un circuit intégré. Si un dépôt se forme, une impureté subsiste ou une pollution apparaît au cours de l'une de ces opérations, le déroulement de l'opération suivante est perturbé, ce qui conduit au rejet du circuit lors du contrôle en cours ou en fin de fabrication.

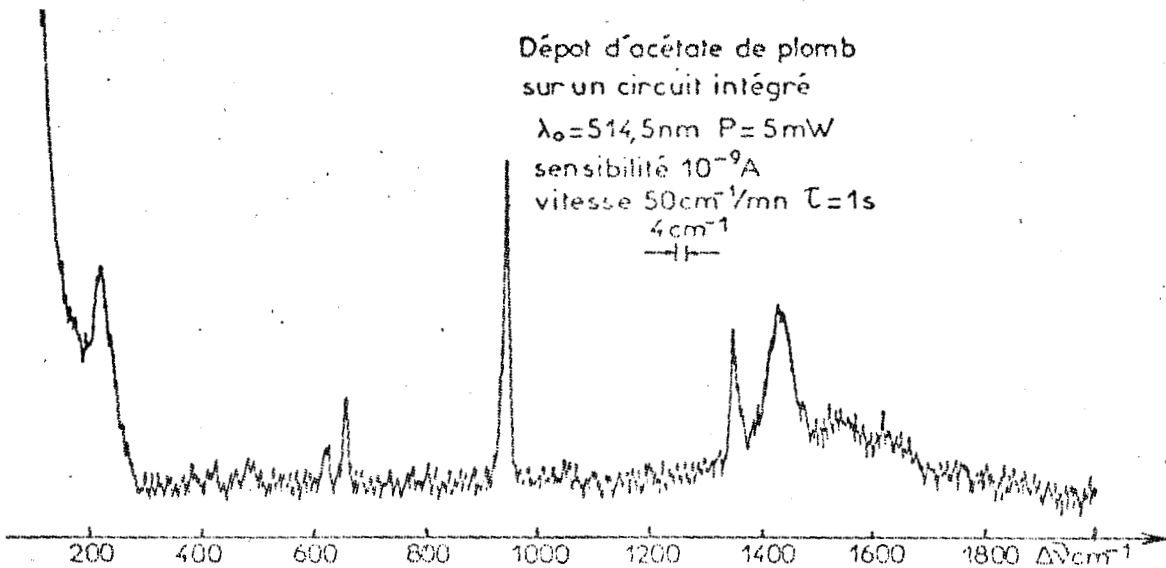
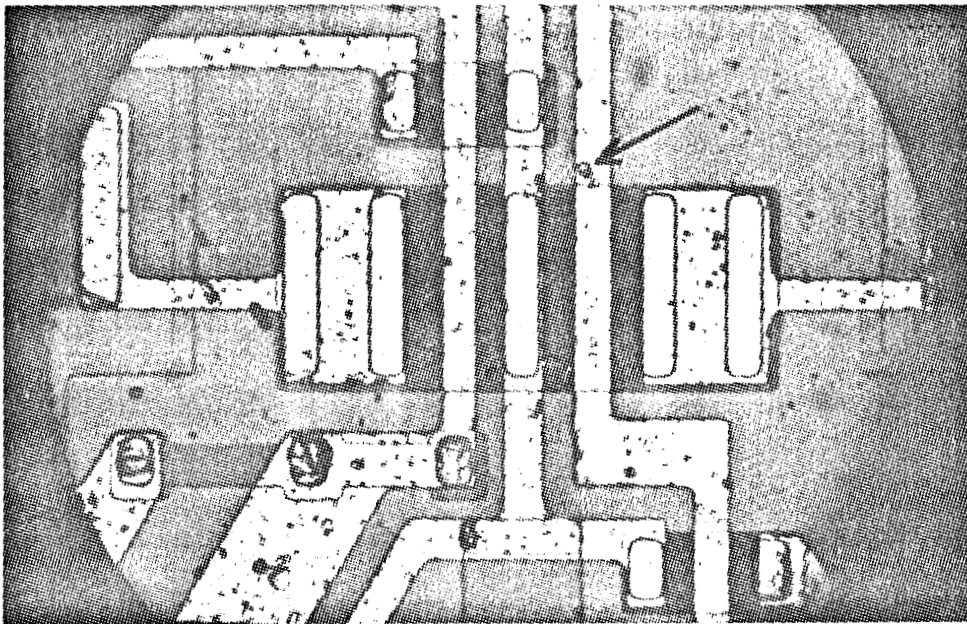


Fig. 81 : Spectre Raman d'un dépôt d'acétate de plomb sur un circuit intégré.

Tous les essais qui ont été réalisés au laboratoire présentent un caractère secret.

L'exemple que nous donnons ne correspond pas à une analyse réelle. Il a été réalisé sur un circuit test sans valeur présentant des dépôts d'acétate de plomb.

La figure 81 montre la photographie du circuit ainsi que le spectre Raman obtenu à partir d'un dépôt de très petite taille (5 μm).

III - ETUDE DE CATALYSEURS.

Des études de catalyseurs ont été entreprises au laboratoire par E. Payen et J. Barbillat, en collaboration avec le laboratoire de Catalyse et Physicochimie des Surfaces, de Lille I. Les échantillons $\text{Mo}/\gamma\text{Al}_2\text{O}_3$ ont été préparés par ce laboratoire pour différents rapports $\text{Mo}/\text{Al}_2\text{O}_3$ par imprégnation avec une solution de paramolybdate d'ammonium suivie d'un séchage, d'un broyage et d'une calcination à 550°C sous oxygène (48). La figure 82 montre les spectres obtenus à partir de particules de catalyseurs à 2 %, 4 % et 10 % en molybdène.

L'utilisation de petites particules permet d'obtenir de très bons spectres Raman. Pour un faible rapport, le molybdène se fixe sur l'alumine avec un environnement tétraédrique (spectre A) puis sous la forme d'une phase polymolybdate à concentration plus élevée (spectre C). Ces résul-

tats sont en bon accord avec les études menées parallèlement par E.S.C.A. (48).

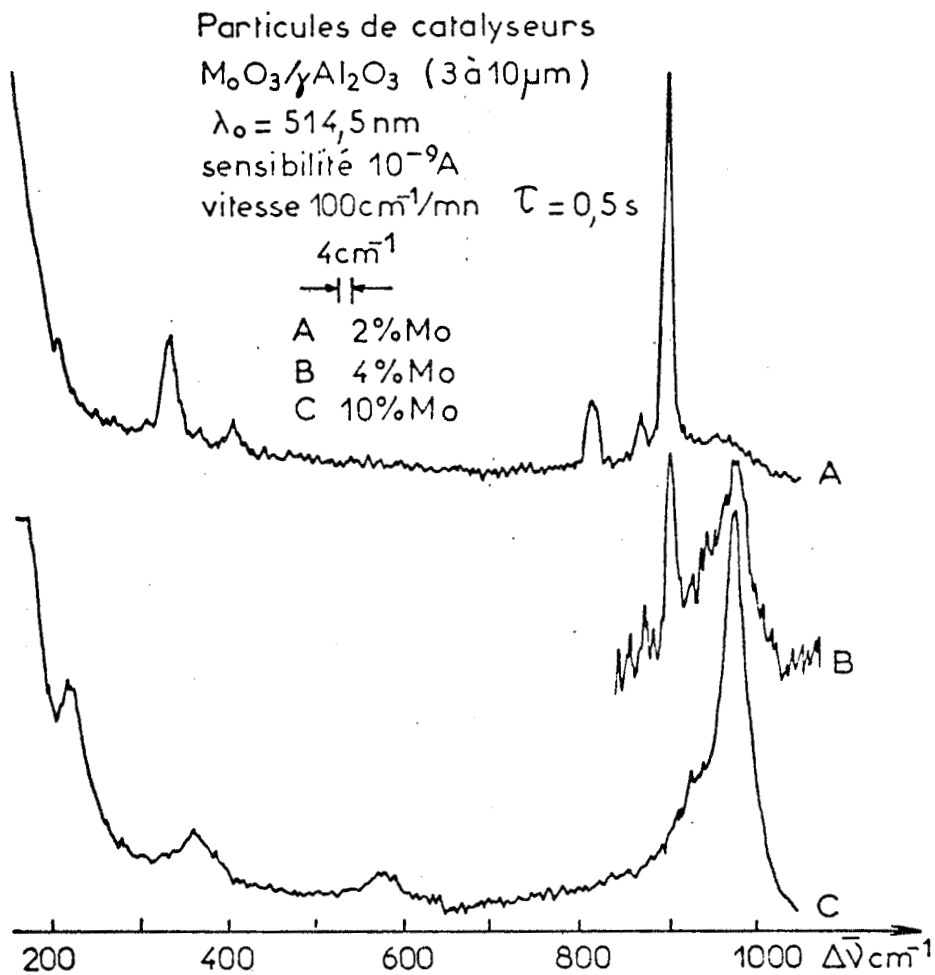


Fig. 82 : Spectres de particules de catalyseurs $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$.

Au delà de 10 %, en plus des raies de la phase polymolybdate, apparaissent les raies caractéristiques de MoO_3 puis au delà de 20 %, seul le spectre de MoO_3 est enregistré.



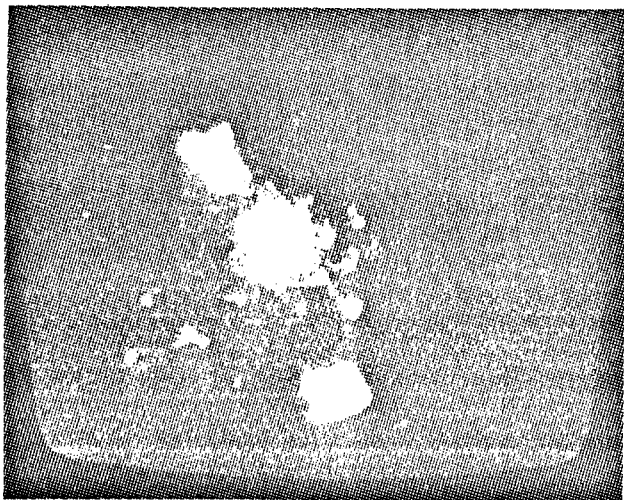


Fig. 83

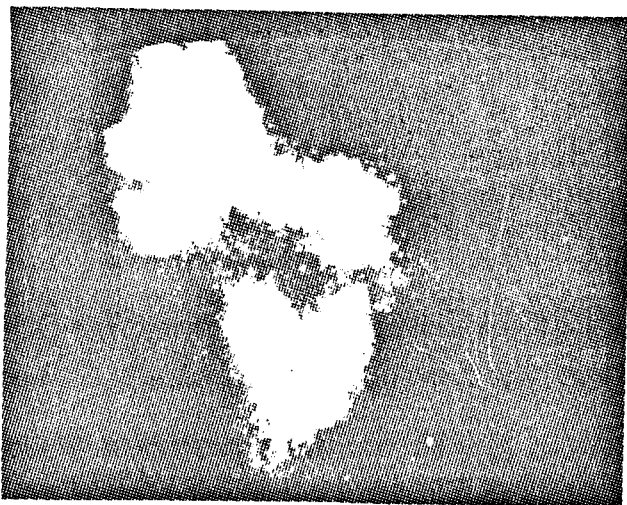


Fig. 84

100 μ m

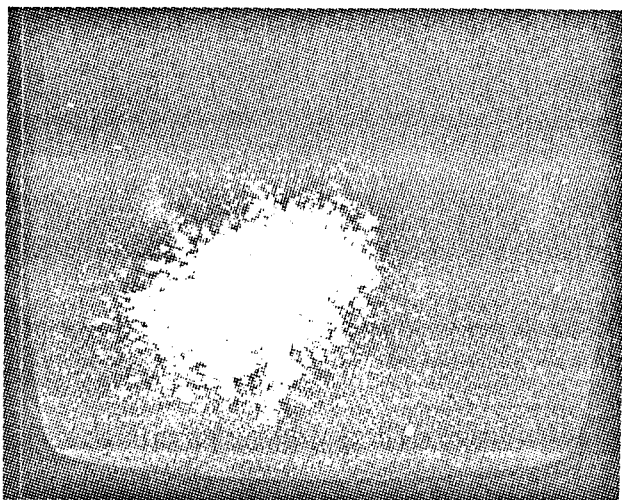


Fig. 85

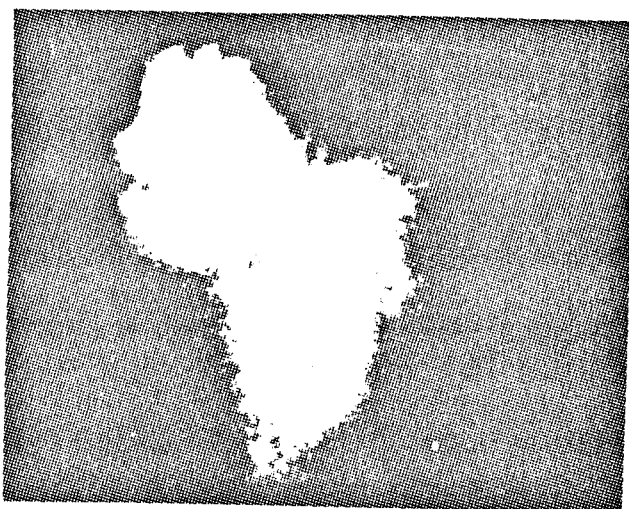


Fig. 86



Répartitions types observées pour les différentes phases du molybdène fixé sur alumine.

Nous avons cherché alors à déterminer comment étaient réparties les différentes phases du molybdène fixé sur alumine. Pour cela, nous avons utilisé des échantillons d'origine industrielle et étudiés au laboratoire par B. Sombret. Ils correspondent à des teneurs en molybdène de 10, 20 et 30 % et donnent les mêmes spectres Raman que les particules précédemment étudiées (nous ne disposons pas d'échantillons de teneur inférieure à 10 % en Mo). Ces échantillons se présentent sous la forme de bâtons ou de plaquettes avec des dimensions allant de quelques millimètres à plusieurs centimètres.

Les images présentées correspondent à des répartitions types observées dans un grand nombre de cas.

La figure 83 représente l'image Raman observée pour une teneur en Mo de 20 % à partir de la raie 822 cm^{-1} (aucune raie n'apparaît à 970 cm^{-1}). Elle montre une distribution irrégulière d'amas d'oxyde de molybdène. Pour une teneur de 15 % en Mo, les images observées (fig. 84 et 85) respectivement à partir des raies à 822 et 970 cm^{-1} montrent des amas d'oxyde de molybdène entourés de zones où le molybdène est sous forme de polymolybdate. Enfin, pour une teneur égale à 10 % en Mo, l'image Raman obtenue figure 86, à partir de la raie 970 cm^{-1} (aucune raie n'apparaît plus à 822 cm^{-1}), ne laisse plus apparaître qu'une distribution irrégulière de zones où le molybdène se trouve sous forme de polymolybdate. Ceci pourrait constituer une bonne méthode de contrôle de l'homogénéité des catalyseurs.

IV - ANALYSE DE POUSSIÈRES ATMOSPHÉRIQUES.

La chimie de l'Environnement est une discipline en plein essor. Un besoin croissant se fait sentir pour les techniques fines d'analyse de poussières atmosphériques car le problème est très compliqué. En effet, les échantillons de poussières recueillies sur filtres sont souvent des mélanges très complexes de particules de nature chimique différente. L'analyse individuelle des particules peut seule apporter des renseignements valables, en particulier sur les réactions qui ont pu se produire entre les poussières et les substances chimiques en suspension dans l'atmosphère (aérosols) (49).

La figure 87 montre un exemple d'analyse de poussières récupérées sur un filtre placé au voisinage d'une autoroute. Des carbonates (calcite et Dolomite), la silice (quartz α) et un feldspath (orthoclase) y ont été identifiés sans ambiguïté.

Les bandes observées vers 1350 et 1600 cm^{-1} pour certaines particules sont attribuables à du carbone provenant soit d'un dépôt de suie sur ces particules, soit de la décomposition sous le faisceau laser de substances organiques absorbées à leur surface (50).

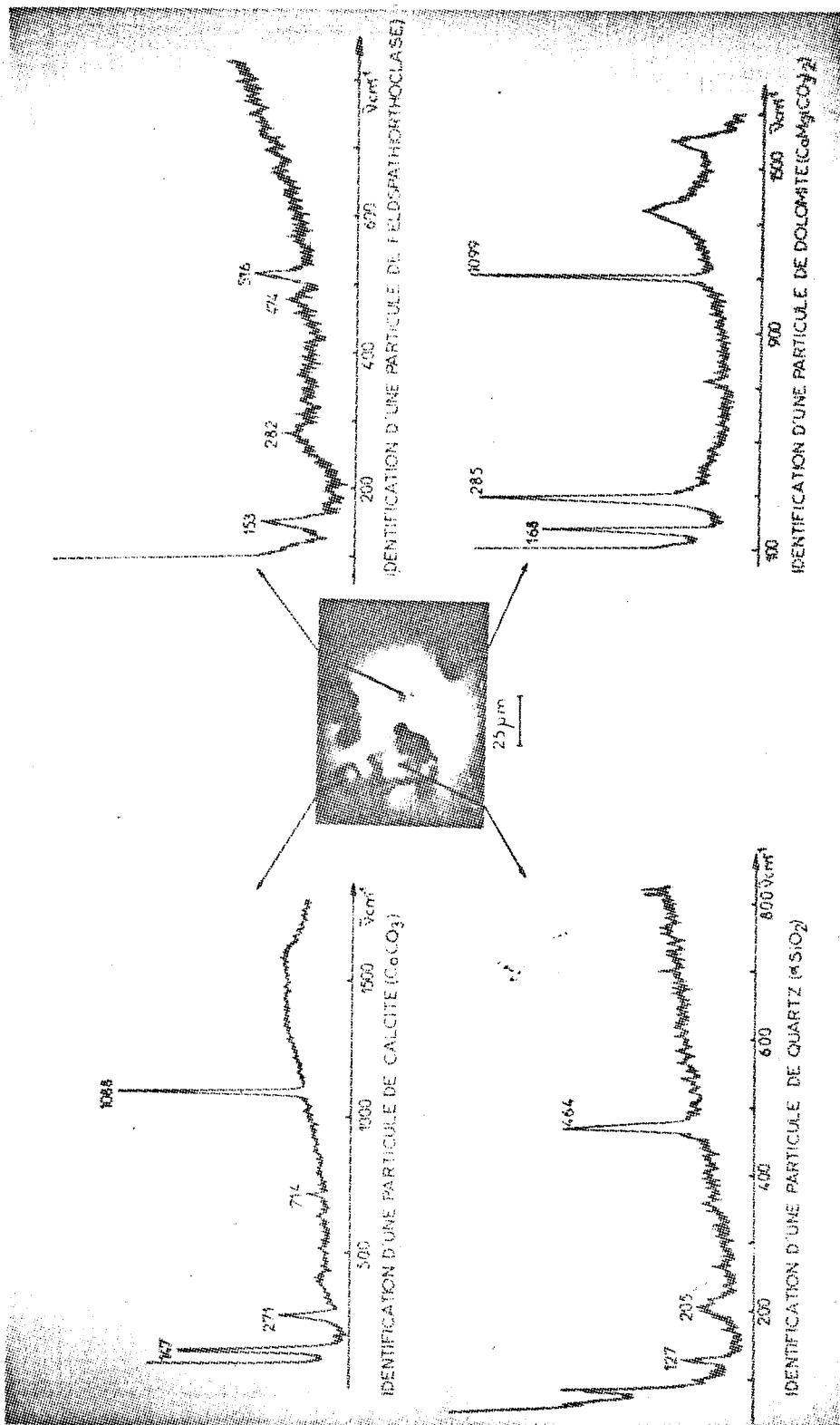


Fig. 87 : Identification de poussières atmosphériques



V - BIOLOGIE.

Dans ce domaine, la microsonde Raman permet d'obtenir des informations sur les échantillons biologiques qu'il est impossible d'atteindre par les sondes électroniques et ioniques, en particulier la microanalyse organique de tissus biologiques à partir de coupes minces qu'utilisent couramment les histophysiologistes. Nous avons travaillé en collaboration avec C. Ballan et M. Truchet du laboratoire d'Hystophysiologie des insectes, de l'Université de Paris VI, afin d'évaluer les possibilités de cette technique dans ce domaine et de définir les conditions expérimentales notamment en ce qui concerne le matériau analysé (coupes fraîches, fixées chimiquement ou lyophilisées).

La figure 88 représente une partie d'une coupe histologique (7 μm d'épaisseur) de *Blatella Germanica* (Insecta Dictyoptera), obtenue en lumière blanche par transmission montrant des sphéro-cristaux (1 à 12 μm) de Corps Gras. Le Corps Gras, ainsi que les Utricules sont des bioaccumulations liées au catabolisme des acides nucléiques et des protéines. Ils sont une forme d'excrétion des déchets puriques. Cet exemple est très intéressant car les sphéro-cristaux ont déjà été très étudiés par d'autres méthodes (51) qui ont donné les résultats suivants dans le cas du Corps Gras.

Biochimie	Rayons X	Sondes électronique et ionique
Acide urique	Amorphe	K abondant . Ca, P en petites quantités



Fig. 88 : Micrographie en lumière blanche d'une coupe histologique de *Blatella Germanica* L.

La figure 89 représente les spectres obtenus à partir de substances de référence (particules d'environ 5 µm), acide urique (A) et urate de potassium (C) et de sphéro-cristaux de Corps Gras (B). La comparaison de ces spectres nous a permis de conclure que le Corps Gras était essentiellement constitué d'acide urique avec de petites quantités d'urate de potassium. Des traces de xanthine ont été également mises en évidence.

D'autres expériences ont été réalisées également sur des coupes de cartilage et de tendon qui montrent que l'utilisation de coupes lyophilisées

est certainement la meilleure façon d'étudier les échantillons, car, les coupes fixées chimiquement, sont dans la plupart des cas fluorescentes, ce qui rend leur exploitation difficile, sinon impossible.

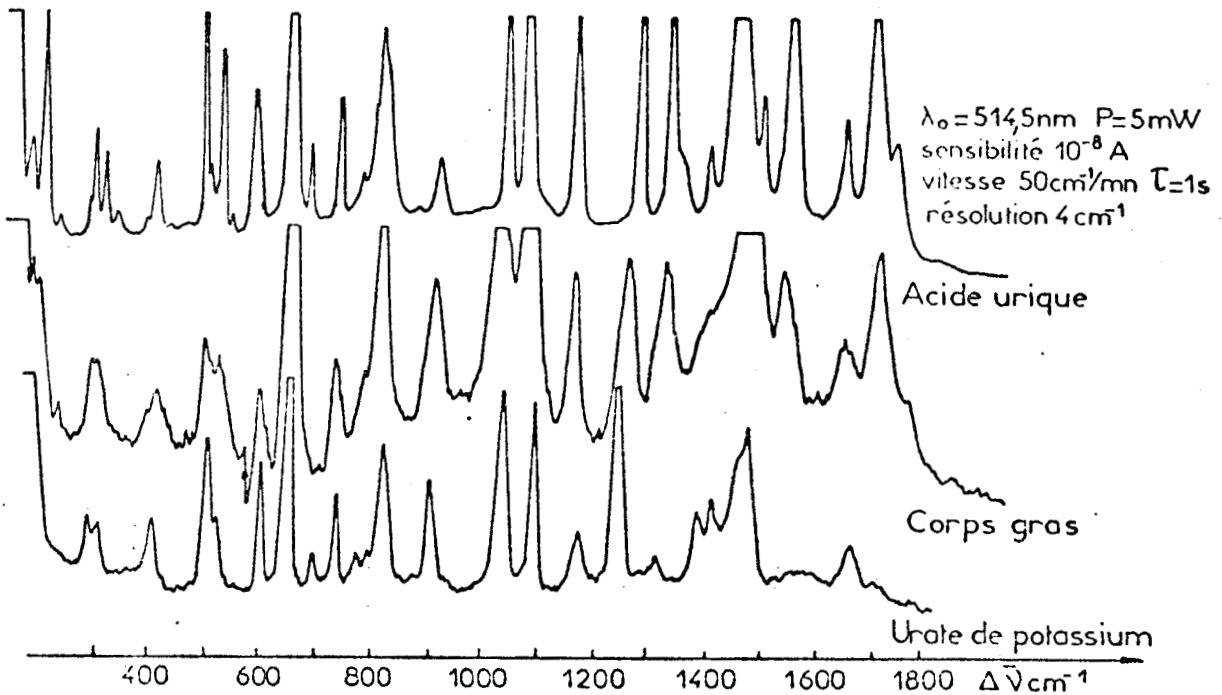


Fig. 89 : Comparaison entre le spectre du Corps Gras et ceux des substances de référence.

Une expérience également intéressante est l'observation de la répartition du β carotène dans une coupe transversale de carotte (fig. 90), à partir de la raie Raman 1527 cm^{-1} , caractéristique des liaisons éthyléniques conjuguées du carotène. On profite dans ce cas de l'effet Raman de

prérésonance. Dans cet exemple, on peut considérer que le carotène est utilisé comme marqueur interne des membranes cellulaires. On pourrait donc utiliser cette méthode pour observer par effet Raman de résonance la répartition de marqueurs colorés en très faible teneur dans des cellules vivantes, non observables en microscopie optique conventionnelle.

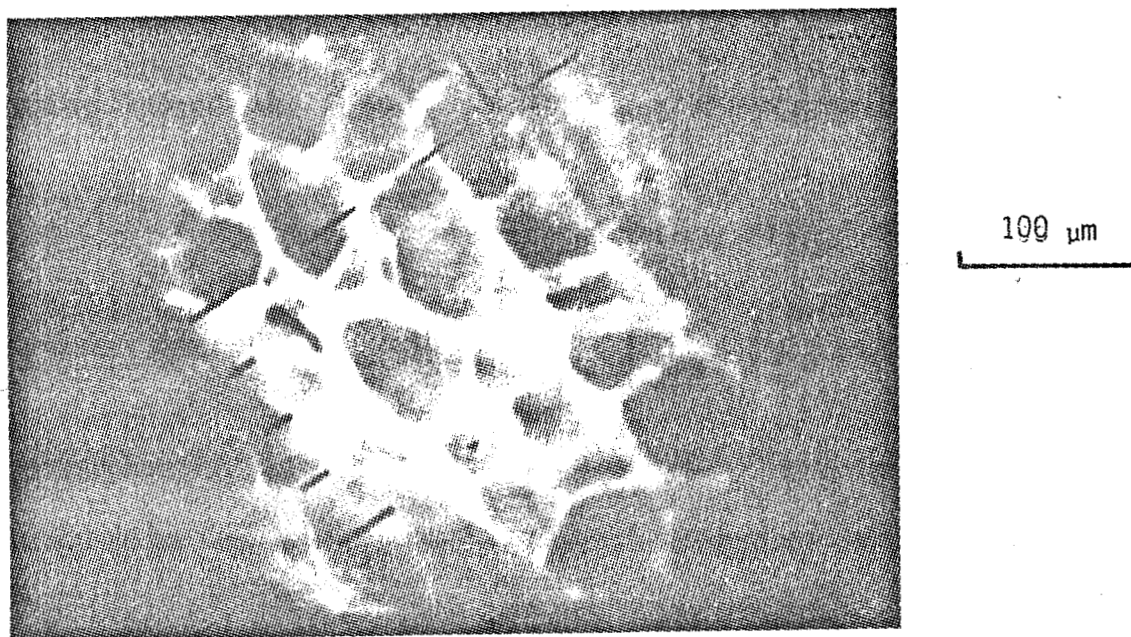


Fig. 90 : Image Raman d'une coupe fraîche de racine de carotte obtenue à partir de la raie 1527 cm^{-1} correspondant aux vibrations des liaisons éthyléniques conjuguées du β carotène.

VI - CONCLUSION.

Ces quelques exemples d'application que nous avons choisis, dans des domaines aussi différents que possible, illustrent bien tout l'intérêt que peut présenter la microanalyse par effet Raman. Ceci est particulièrement sensible dans le cas des laboratoires industriels. Jusqu'ici, encore très fermés à la spectrométrie Raman qu'ils considéraient souvent comme un partenaire mineur de la spectroscopie Infrarouge, ces laboratoires se sont ouverts à cette nouvelle méthode de microanalyse. Plusieurs de ceux-ci ont acquis ou vont acquérir une Microsonde à Effet Raman.

Enfin, actuellement six ou sept laboratoires dans le monde utilisent déjà cet instrument, apportant ainsi la meilleure preuve de son intérêt dans le domaine de la microanalyse.

- CONCLUSION -

- CONCLUSION -

Au terme de ce travail, on peut essayer de dresser un bilan. En 1974 deux communications étaient présentées à la quatrième Conférence Internationale de Spectroscopie Raman qui décrivaient les premières tentatives couronnées de succès de l'utilisation de la Spectroscopie Raman pour étudier des échantillons de taille microscopique.

G.J. ROSASCO et ses collaborateurs au N. B. S. (U.S.A.) avaient modifié un spectromètre Raman pour l'adapter à l'étude de microparticules.

Nous-même, après avoir envisagé plusieurs méthodes, avons suivi une démarche tout à fait opposée consistant à partir de l'outil du microscopiste - le microscope optique - pour créer un instrument permettant d'utiliser l'effet Raman pour la microanalyse d'échantillons.

Deux prototypes furent ainsi successivement réalisés au laboratoire, le second constituant une véritable Microsonde Moléculaire à Effet Raman.

L'instrument ainsi réalisé, outre qu'il ait permis de caractériser à partir de l'enregistrement de leur spectre Raman, des quantités de matière inférieures au nanogramme, a également permis et ceci pour la première fois, d'obtenir des images micrographiques sélectives donnant la répartition des constituants d'un échantillon hétérogène avec une résolution spatiale de l'ordre du micron. Ce travail et l'expérience ainsi acquise dans le domaine de la microanalyse ont conduit en collaboration avec une société d'instrumentation française à la réalisation d'instruments industriels diffusés sous le nom de M.O.L.E., déjà bien implantés sur le marché international. Un grand nombre de problèmes tant académiques que pratiques ont été résolus grâce à ces instruments et nous avons volontairement, dans ce mémoire, limité le nombre des exemples présentés en les choisissant dans des domaines où la Microsonde s'est révélée être un outil de choix, soit qu'elle ait permis de résoudre des problèmes inabornables par ailleurs, soit qu'elle ait complété d'autres techniques de microanalyse.

Beaucoup reste encore à faire cependant pour parvenir à une maîtrise suffisante de cette toute jeune technique de microanalyse et deux directions de recherche s'imposent plus particulièrement.

Il est nécessaire d'une part d'établir une systématique des conditions opératoires selon la nature de l'échantillon analysé et le problème qui est posé, d'autre part d'améliorer encore les performances de l'instru-

ment (sensibilité, sélectivité) notamment en ce qui concerne le mode de fonctionnement "Microscope Raman".

En effet, l'obtention d'images sélectives est actuellement difficile voire impossible lorsque l'on se trouve en présence d'un fond continu important telle que la fluorescence souvent rencontrée lors de l'analyse d'échantillons d'origine naturelle ou industrielle, en raison de l'ouverture importante des fentes du filtre optique dans ce mode de fonctionnement.

L'analyse ligne par ligne de la surface de l'échantillon, telle que nous l'avons décrite dans la première partie de ce mémoire suivie éventuellement d'un traitement des images obtenues est certainement la meilleure technique pour surmonter ce problème du fond continu. Nous avons déjà réalisé quelques expériences ayant donné des résultats très encourageants.

Finalement que dire pour conclure si ce n'est qu'une petite pierre a été ajoutée à l'édifice des techniques de microanalyse et qu'il faut persévé rer.

- BIBLIOGRAPHIE -

- 1 - R. CASTAING, Thèse d'Etat (1951)
G. SLODZIAN, Ann. Phys. Française, 3, 13 (1964)
- 2 - M. DELHAYE, et M. MIGEON, C.R. Acad. Sc. Paris, 262 (1966)
- 3 - S.K. FREEMAN, P.R. REED et D.O. LANDON, Microchim. Acta (Wien), 288 (1972)
- 4 - M. DEPORCQ-STRATMAINS, et R. DEMOL, Revue du G.A.M.S., 3, 234 (1969)
- 5 - R.A. NYQUIST et R.O. KAGEL, Pratical Spectrosc., Vol.1, Ed. Dekker,
New York (1975)
- 6 - J.J. BARRETT et N.I. ADAMS, J. Opt. Soc. Am., 58, 311 (1968)
- 7 - G.J. ROSASCO et J.H. SIMMONS, Am. Ceram. Soc. Bul., 53, 626, (1974)

- 8 - G.J. ROSASCO, E.S. ETZ et W.A. CASSATT, Appl. Spectrosc., 29, 396 (1975)
- 9 - Scanning Electron Microscopy (1977), Vol.1, I.T.T. Research Institute
Chicago, Illinois (U.S.A)
- 10 - Molecular Spectra and Molecular Structure, Vol.1 et 2 (1945)
Herzberg G., Ed. Van Nostrand
- 11 - Molecular Vibrations (1955), E.B. WILSON, J.C. DECIUS et P.C. CROSS
Ed. Mc Graw-Hill
- 12 - Laser Raman Spectroscopy (1971), M.C. TOBIN, Ed. Wiley Interscience
- 13 - Raman Spectroscopy (1977), D.A. LONG, Ed. Mc Graw-Hill
- 14 - G.J. ROSASCO, Proceedings of the Sixth International Conference on
Raman Spectroscopy - Bangalore (Inde) 4-9 Sept. 1978, Vol.1, p.389
- 15 - H.J. BERNSTEIN, Resonance Raman Spectra, p.395 in Advance in Raman
Spectroscopy, Vol.1 (1973), by J.P. MATHIEU, Ed. Heyden
- 16 - M. MIGEON, Thèse d'Etat, Lille (1968)
- 17 - H.S. BENNETT et G.J. ROSASCO, J. Appl. Phys., 49, 640 (1978)
- 18 - Diffraction Gratings Ruled and Holographic Handbook, JOBIN-YVON, p. 27

- 19 - E.H. ARTFIELD, Laser Focus, 9, 47 (1973)
M.J. BUZAWA et R.E. HOPKINS, Prod. Soc. Photo ; Opt. Instum. Eng.
52, 9 (1974)
- 20 - M. BONNET et G. COURTES, Brevet A.N.V.A.R., n° 1.602.587 (1970)
- 21 - M. LECLERCQ, Thèse 3ème Cycle, Lille (1975)
- 22 - W.R. EDMONDS, Appl. Opt., 12, 8 (1973)
- 23 - P.A. BELANGER et M. RIOUX, Appl. Opt., 17, 7 (1978)
- 24 - J.J. BARRETT et N.I. ADAMS, J. Opt. Soc. Amer., 58, 3 (1968)
- 25 - J. CORDELLE, J. FLAMAND, G. PIEUCHARD, et A. LABEYRIE, Optics, Instruments and Techniques (1970), Ed. Oriel Press
- 26 - M. DELHAYE et P. DHAMELINCOURT, J. Raman Spectrosc., 3, 33 (1975)
- 27 - M. DUCHESNE, Advances in Electronics and Electrons Physics, XVI 19 (1962)
- 28 - J.D. Mac GHEE, Reports on progress in Physics, XXIV, 167 (1961)
- 29 - P.R. COLLINGS, R.R. BEYER, J.S. KALAFAUT et G.W. GOETZ, Adv. in E.E.P.
28, 105 (1969)

- 30 - M. BRIDOUX, et M. DELHAYE, *Nouv. Rev. d'Optique Appliquée*, 1, 1, (1970)
- 31 - A. DEFFONTAINE, *Thèse de 3ème Cycle*, Lille (1975)
- 32 - H.W. ZIELER, *The Optical Performance of the Light Microscope, Part 2*
(1974) Ed. Microscope Publications
- 33 - R. FACON et J. WROBEL, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 9.b, (1968)
- 34 - DEVORE et R. ANNEQUIN, *Cours de Physique, Optique II* (1964), Ed. Vuibert
- 35 - P. BISSON, *D.E.A. Lille* (1975) et *Thèse de 3ème Cycle*, Lille (1977)
- 36 - G.J. ROSASCO et E.S. ETZ, *Research and Development* (June 1977)
- 37 - *Fiches techniques du laboratoire d'application de la Société JOBIN-YVON*
(Longjumeau, France)
- 38 - P. DHAMELINCOURT, *Proceedings of the Sixth International Conference*
on Raman Spectroscopy, Bangalore (Inde), 4-9 Sept. 1978
Vol. 1, p.399, Ed. Heyden
- 39 - J.C. TOURAY, *La Recherche*, 93, 900 (1978)
- 40 - G.J. ROSASCO, E. ROEDDER et J.H. SIMMONS, *Science*, 190, 557 (1975)

- 41 - J. DUBESSY, P. DHAMELINCOURT, et B. POTY, Colloque "Minéraux et Minerais"
Nancy 26-29 Septembre 1978
- 42 - N. GUILHAUMOU, P. DHAMELINCOURT, J. BARBILLAT, et J.C. TOURAY
C.R. Acad. Sc. Paris, D 767 (1978)
- 43 - V. PERTHUIZOT, Thèse d'Etat, Paris VI, (1978)
- 44 - H.E. HOWARD-LOCK et B.P. STOICHEFF, J. Mol. Spectrosc., 37, 321, (1971)
- 45 - G.J. ROSASCO et E. ROEDDER, Internat. Geol. Congress, Sidney (1976)
- 46 - H.B. TRIPATHI, H.D. BIST et H.C. KANDPAL, Proceedings of the Sixth
International Conference on Raman Spectroscopy, Bangalore (Inde)
4-9 Sept. 1978, Vol. 2, p. 140, Ed. Heyden
- 47 - H.J. SCHUBNEL, P. DHAMELINCOURT, et M.L. DELE-DUBOIS, XI General Meeting
of International Mineralogical Association, Novosibirsk, U.R.S.S (1978)
- 48 - E. PAYEN, J. BARBILLAT, J. GRIMBLOT, et J.P. BONNELLE, Spectroscopy
Letters (à paraître)
- 49 - E.S. ETZ, G.J. ROSASCO et W.C. CUNNINGHAM, Environmental Analysis,
Edition Academic Press, New York (1977)

50 - J.J. BLAHA, G.J. ROSASCO et E.S. ETZ, Appl. Spectrosc., 32, 3, (1978)

51 - C. BALLAN-DUFRANCAIS, Thèse d'Etat, Paris VI, (1975)

52 - K. NAKAMOTO, Y.A. SARMA et H. OGOSHI, J. Chem. Phys., 43, 1171 (1965)

-00000-

