# UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
# UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SÉTIF 1
## Thèse en cotutelle

**École Doctorale Mathématiques, Sciences de l'Information et de l'Ingénieur**

**Laboratoire ICube, Université de Strasbourg, France**
**Laboratoire d'Optique Appliquée, Université Ferhat Abbas Sétif1, Algérie**

# THÈSE présentée par :


## Rayenne BOUDOUKHA


soutenue le : **12 juillet 2022**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**
Discipline/ Spécialité : **Photonique**

# Contribution à la compréhension de la microscopie assistée par microsphère

**THÈSE dirigée par :**

| | |
|---|---|
| **Dr. Paul MONTGOMERY** | Directeur de Recherche, CNRS (ICube) |
| **Prof. Nacer-Eddine DEMAGH** | Professeur, Université Ferhat Abbas Sétif1 (LOA) |

**RAPPORTEURS :**

| | |
|---|---|
| **Prof. Omar LAMROUS** | Professeur, Université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou (LPCQ) |
| **Prof. Fadi BAIDA** | Professeur, Université Bourgogne Franche-Comté (FEMTO-ST) |

**AUTRES MEMBRES DU JURY :**

| | |
|---|---|
| **Prof. Saïd MEGUELLATI** | Professeur, Université Ferhat Abbas Sétif1 (LOA) |
| **Dr. Luiz POFFO** | Maître de Conférence, Université de Rennes (Foton) |

---

**INVITÉS**

| | |
|---|---|
| **Dr. Assia GUESSOUM** | Maître de Conférence, Université Ferhat Abbas Sétif1 (LOA) |
| **Dr. Stéphane PERRIN** | Chef de projet, Photonics-Bretagne |
| **Prof. Sylvain LECLER** | Professeur, INSA de Strasbourg (ICube) |

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
**Université Ferhat ABBAS - Sétif 1**
**Faculté/Institut : Institut d'Optique et Mécanique de précision**
**Département : Optique**
**Laboratoire ou unité de recherche de rattachement : Laboratoire d'Optique Appliquée**

# THÈSE

**Préparée dans le cadre d'une cotutelle internationale de thèse**

**Docteur de l'université Ferhat ABBAS (Algérie)**

**Domaine :** Sciences et Technologies **Filière :** Optique et mécanique de Précision

**Spécialité :** Optique et photonique

**Docteur de l'université de Strasbourg**

**Présentée par : Boudoukha Rayenne**

## *Thème*

# *Contribution à la compréhension de la microscopie assistée par microsphère*

**Soutenue, le : 12 / 07 / 2022** **Devant le jury composé de :**

| Nom et Prénom | Grade | Etablissement d'appartenance | Membre de jury |
|---|---|---|---|
| **Pr. Saïd MEGUELLATI** | **Professeur** | **IOMP, UFA Sétif1(LOA)** | **Examinateur** |
| **Pr. Nacer-Eddine DEMAGH** | **Professeur** | **IOMP, UFA Sétif1 (LOA)** | **Co-Directeur** |
| **Dr. Paul MONTGOMERY** | **Directeur de Recherche** | **CNRS (ICube)** | **Directeur** |
| **Pr. Fadi BAIDA** | **Professeur** | **Univ. Bourgogne FEMTO-ST** | **Président** |
| **Pr. Omar LAMROUS** | **Professeur** | **Université de UMMTO** | **Rapporteur** |
| **Dr. Luiz POFFO** | **Maître de Conférence** | **Université de Rennes (Foton)** | **Examinateur** |
| **Autres membre de jury** | | | |
| **Dr. Assia GUESSOUM** | **Maître de Conférence** | **Université Ferhat Abbas Sétif1 (LOA)** | |
| **Dr. Stéphane PERRIN** | **Chef de projet** | **Photonics-Bretagne** | |
| **Prof. Sylvain LECLER** | **Professeur** | **INSA de Strasbourg (ICube)** | |

**Année universitaire : 2021/2022**

Ce travail a été financé par des subventions d'un programme de coopération algéro-française : Hubert Curien (PHC) Tassili. Géré par : La France à travers le Ministère de L'Europe et des Affaires Etrangères **(MEAE)** et le Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation français **(MESRI)**, et L'Algérie, à travers le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique **(MESRS).**

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'EUROPE ET DES
AFFAIRES ÉTRANGÈRES

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'ENSEIGNEMENT
SUPÉRIEUR,
DE LA RECHERCHE
ET DE L'INNOVATION

République Algérienne
Démocratique et Populaire

Ministère de
l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

*A la mémoire de "**Ilhem DJAFAR**", ma mère...*

# Dédicace

*A la mémoire de celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et pour ma réussite. Vous êtes la grande bougie qui s'est brûlée pour illuminer mon chemin de vie. Vous avez sacrifié votre santé et dédié toute votre attention et vos efforts pour que j'arrive à ce moment de grande réussite. Vous étiez le bouclier qui m'a protégé au milieu des moments difficiles.*

*Toutes les lettres ne sauront trouver les mots qu'il faut, et tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, et la reconnaissance que je vous porte. C'est vrai que vous n'êtes pas avec nous pour récolter le fruit de vos sacrifices, mais vous restez toujours la plus présente.*

*Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce modeste travail soit une prière pour votre âme.*

*A vous je dédie ce travail, mon inspiration, mon ange gardien, ma chère maman Ilhem Djafar...*

*Sans oublier mon âme soeur Racha, mon petit Ramy, et mon cher papa Mourad (Rozo), le premier homme de ma vie. Vous êtes la joie de ma vie.*

# Remerciements

Il me sera très difficile de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses personnes que j'ai pu mener cette thèse à son terme.

Cette thèse est le fruit d'une collaboration entre l'université de Strasbourg (Laboratoire d'ICube) en France et l'université de Ferhat Abbas Sétif 01-Institut d'optique et mécanique de précision (Laboratoire d'optique appliquée) en Algérie.

Tout d'abord, je voudrais adresser toute ma reconnaissance et gratitude à mon directeur de thèse **Paul MONTGOMERY** et à mon co-directeur de thèse **Nacer-Eddine DEMAGH** d'avoir accepté de m'encadrer et de me permettre de faire partie de ce projet, pour le temps qu'ils ont consacré à m'apporter les outils méthodologiques primordiales à gérer cette recherche, leurs encouragements et motivations en développant ma thèse. Sans oublier leur soutien morale pendant toutes les épreuves que j'ai vécues lors de la réalisation du projet.

Je suis très honoré de remercier pour leur présence à mon jury de thèse :
Messieurs **Fadi BAIDA** et **Omar LAMROUS**, pour l'honneur qu'ils m'ont fait de participer à mon jury de thèse en qualité de rapporteurs de mon travail, pour le temps consacré à la lecture de cette thèse, et pour les suggestions et les remarques judicieuses qu'ils m'ont indiquées.
Messieurs **Saïd MEGUELLATI** et **Luiz POFFO**, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail de recherche.

Je souhaite exprimer ma gratitude et tout mon respect à **Assia GUESSOUM** pour sa disponibilité, son professionnalisme et son acharnement au cours des démarches administratives qu'elle a effectuées tout au long de la thèse. Je la remercie surtout pour ses judicieux conseils et les orientations privilégiées qu'elle m'a données ces cinq ans et qui ont contribué à alimenter ma réflexion. Elle m'a beaucoup appris sur les défis à relever dans le monde de la recherche en partageant ses connaissances et expériences dans ce milieu. Un grand merci d'avoir cru en moi et de m'avoir donné l'occasion d'être un membre de ce projet.

Je tiens à remercier infiniment **Stéphane PERRIN** pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils. Il a énormément contribué à ce que ma thèse se déroule dans d'excellentes conditions scientifiques et dans une bonne ambiance générale, bonne humeur inébranlable, même dans certains moments délicats et qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse. Un grand merci pour avoir eu la patience de répondre à mes questions et d'avoir également su nourrir mes réflexions. Merci pour ses conseils précieux de rédaction, pour les documents fournis qui m'ont permis d'avancer dans cette recherche et d'avoir contribuer à relire et corriger mon mémoire.

Je présente mes sincères remerciements, mon respect et ma gratitude à **Sylvain LECLER** qui m'a encadré tout au long de cette thèse, il a toujours été présent à mes côtés pour m'orienter et qui m'a fait partager ses brillantes intuitions surtout en simulation numérique. Il m'a permis d'approfondir au maximum mes travaux afin de pouvoir être fier aujourd'hui du travail réalisé. Je le remercie pour sa patience de répondre à mes innombrables questions, pour sa disponibilité, pour les nombreux encouragements qu'il m'a prodiguée et pour son intérêt et son soutien.

Je remercie le directeur de l'unité de recherche URME **Mohamed HAMIDOUCHE** d'avoir accepté que j'effectue mes premiers travaux de modélisations sur leur station de calcul et surtout **Hala KENOUCHE**, **Akram BENNOUIOUA** et **Ilyes BENSALEM** et tous les personnels gérant la station et aussi de l'unité pour m'avoir aidé à réaliser cette partie dans de bonnes conditions.

J'aimerais exprimer ma gratitude à tous les chercheurs et spécialistes, trop nombreux pour les citer, qui ont pris le temps de discuter de mon sujet. Chacun de ces échanges m'a aidé à faire avancer mon analyse.

Durant la crise sanitaire du coronavirus, la thèse était soutenue par diverses organismes. Je remercie vivement et chaleureusement l'équipe IPP pour son soutien via SATT-Conectus. Également, je souhaite adresser un grand merci au recteur de l'institut Al-Andalous de Strasbourg **Mr. Messaoud BOUMAZA**, à **Mme. Mariam RACHEDI** et à **Mr. Kamel BENDRISS** sans oublier tous les personnels des associations qui travaillent avec eux qui m'ont permis, grâce aux diverses aides financières, de me consacrer sereinement à l'élaboration de ma thèse.

Je remercie **HUSNENI Mukhtar** d'avoir partagé ses connaissances et son expérience en microscopie interférométrique lors de ma familiarisation avec cette technique au sein du CNRS. Aussi, je remercie le stagiaire **HE ZHIWEI** pour la partie qu'il a développé sur la modélisation de la génération des sources ponctuelles évanescentes dans le cadre de son projet Photonique Tutoré.

Également, je voudrais exprimer ma reconnaissance envers mes collègues de l'équipe IPP, notamment **Patrice TWARDOWSKI**, **Manuel FLURY**, **Pierre PFEIFFER**, **Freddy ANSTOTZ**, **Jesse SCHIFFLER**, **Amir NAHAS**, **Rémy CLAVEAU**, **Alireza MORSALI**, **Ke ZHANG**, **Hishem HYANI** et mes amis **Sébastien MARBACH**, **Tony HAJJ** et **Amandine ELSCHINGER**. Ainsi que tous mes collègues et mes amis de l'institut d'optique et mécanique de précision pour les meilleures expériences qu'on a vécues ensembles lors de cette belle aventure et spécialement **Hossem TAALLAH**, **Oussema BOUZID** et **Ouis Chouaib BOUMEDDINE** pour leur soutien moral et physique en présentiel et à distance. Merci d'avoir été là, notamment, dans les moments difficiles.

Le séjour à Strasbourg était très enrichie par la diversité culturelle avec **Amina**

**TRABELSI** et ses petites anges, **Nouha TRABELSI**, **Emna BENSAAD**, **Hanine El ITAWI**, **Rima SAADAOUI** et son mari, **Zineb GUELLOUT** et **Djamila BOUAZIZ**. Un énorme merci d'avoir ajouté dela valeur aux moments que nous avons passé ensemble.

Finalement, je remercie ma petite famille mon cher **PAPA**, **Racha**et **Ramy**. Encore, ma grande famille et spécialement, ma **grande-mère**, mon **grand-père** "Maternelle", mes chers oncles **Lamri BOUDOUKHA** et **Abd El Hamid DJAFAR** qui ont toujours été à mes côtés pendant cette thèse et qui m'ont toujours encouragées. Ensuite, je tiens à témoigner toute ma gratitude aux copines proches de ma mère pour leur confiance et leur soutien inestimable avant et après son décès. Elles m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel et leurs encouragements tout au long de ma démarche et elles m'ont permis de donner vie, je l'espère, à ce récit.

Et avant tout, je remercie Dieu de m'avoir mis sur le chemin de la science et du savoir.

# Table des matières

**Introduction générale** **1**

**1 État de l'art : Microscopie optique assistée par microsphère** **5**
1.1 Microscopie directe . . . . . 5
1.1.1 Microscopie optique . . . . . 5
1.1.2 Microscopie électronique . . . . . 13
1.1.3 Microscopie optique super-résolue . . . . . 14
1.1.4 Microscopie assistée par microsphères . . . . . 19
1.2 Microscopie interférométrique . . . . . 23
1.2.1 Microscopie holographique numérique . . . . . 24
1.2.2 Microscopie interférométrique à décalages de phase . . . . . 26
1.2.3 Microscopie interférométrique en lumière blanche . . . . . 27
1.2.4 Configurations interférométriques . . . . . 28
1.2.5 Performances . . . . . 30
1.2.6 Microscopie interférométrique assistée par microsphères . . . . 31
1.3 Conclusion . . . . . 34

**2 Rôle des ondes évanescentes en microscopie optique assistée par microsphères** **37**
2.1 Résolution en microscopie optique par microsphères . . . . . 37
2.1.1 Jet photonique . . . . . 38
2.1.2 Cohérence de la lumière . . . . . 39
2.1.3 Ondes évanescentes . . . . . 40
2.2 Conversion et couplage des ondes évanescentes par microsphère . . . . 42
2.2.1 Modèle analytique . . . . . 42
2.2.2 Influence de la phase de l'onde d'incidence . . . . . 45
2.2.3 Influence de la distance entre la microsphère et l'interface . . . 46
2.2.4 Influence du diamètre de la microsphère . . . . . 48
2.2.5 Influence de la période de l'onde évanescente . . . . . 48

2.2.6 Conversion et couplage des ondes évanescentes par microsphère de 20 µm . . . . . 50
2.2.7 Démonstration expérimentale du phénomène . . . . . 52
2.3 Formation d'images de sources ponctuelles évanescentes par microsphère 54
2.3.1 Modèle analytique . . . . . 55
2.3.2 Formation d'images par une microsphère . . . . . 58
2.4 Conclusion . . . . . 67

**3 Interprétation de la réponse en phase mesurée en imagerie sub-diffractive 70**
3.1 Problématique . . . . . 70
3.2 Calcul de la réponse en phase d'une marche de largeur sub-longueur d'onde . . . . . 71
3.2.1 Description de l'étude . . . . . 71
3.2.2 Description du modèle . . . . . 72
3.2.3 Le cas monochromatique plus compliqué qu'attendu . . . . . 74
3.2.4 Notre proposition pour simuler la phase d'une onde à large spectre . . . . . 77
3.2.5 Pourquoi la PSM ? . . . . . 77
3.2.6 Étude théorique de l'influence des paramètres géométriques de la marche sur la phase mesurée . . . . . 83
3.3 Calcul de la réponse en phase d'un réseau sub-longueur d'onde . . . . 87
3.3.1 Objectif de l'étude . . . . . 87
3.3.2 Description du modèle . . . . . 88
3.3.3 Étude théorique de l'influence des paramètres optiques et géométriques du réseau sur la phase mesurée . . . . . 88
3.4 Conclusion . . . . . 104

**Conclusion générale 105**

**Bibliographie 108**

# Table des figures


1.1 La microscopie optique jusqu'à fin du xvii$^{e}$ siècle . . . . . 6
1.2 Schéma de principe d'un microscope optique . . . . . 7
1.3 Critères de résolution en microscopie optique . . . . . 9
1.4 Fonction de transfert optique en microscopie optique . . . . . 11
1.5 Techniques d'imagerie sub-diffractive . . . . . 16
1.6 Principe de la microscopie assistée par microsphère . . . . . 20
1.7 Influence du diamètre de la microsphère sur la résolution latérale . . . 22
1.8 Applications de la microscopie par microsphères pour la biologie . . . 23
1.9 Schéma de principe d'un interféromètre optique . . . . . 25
1.10 Algorithmes de reconstruction de hauteur par PSI et CSI . . . . . 26
1.11 Configurations de microscopes interférométriques . . . . . 28
1.12 Définitions de la résolution en topographie . . . . . 31
1.13 Reconstructions d'objets via l'interférométrie par microsphères . . . . 33

2.1 Génération de jets photoniques . . . . . 38
2.2 Influence de la polarisation . . . . . 41
2.3 Génération d'une onde évanescente à une interface . . . . . 43
2.4 Couplage d'une onde évanescente de surface par une microsphère . . . 45
2.5 Influence de la phase initiale de l'onde d'excitation sur les WGM . . . 46
2.6 Influence de la distance microsphère/interface sur la conversion . . . . 47
2.7 Champ électrique max couplé dans la sphère en fonction de son diamètre 48
2.8 Conversion d'une onde évanescente en une onde propagative . . . . . 49
2.9 Efficacité de conversion d'une grande microsphère . . . . . 50
2.10 Influence de la distance interface-microsphère de 20 µm sur le couplage de l'onde évanescente . . . . . 51
2.11 Montage de démonstration du phénomène de conversion . . . . . 52
2.12 Visualisation expérimentale du phénomène de conversion . . . . . 53
2.13 Schéma de principe de la génération de sources ponctuelles évanescentes 54
2.14 Génération de sources ponctuelles évanescentes en phase . . . . . 56
2.15 Génération de sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase 57
2.16 Génération de deux sources ponctuelles évanescentes . . . . . 58

2.17 Collection de la lumière de deux sources ponctuelles évanescentes en phase par une microsphère de 3 µm de diamètre . . . . . 59
2.18 Collection de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase par une microsphère de 3 µm de diamètre . . . . . 60
2.19 Champ électrique issu des deux sources ponctuelles évanescentes en phase et collecté par la microsphère décentrée horizontalement . . . . 61
2.20 Champ électrique issu des deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase collecté par la microsphère décentrée latéralement 62
2.21 Excitation d'une microsphère de 3 µm de diamètre par deux sources ponctuelles en phase . . . . . 63
2.22 Excitation d'une microsphère de 3 µm de diamètre par deux sources ponctuelles en opposition de phase . . . . . 64
2.23 Image virtuelle des deux sources ponctuelles classiques en phase . . . 64
2.24 Image virtuelle des deux sources ponctuelles classiques en opposition de phase . . . . . 65
2.25 Image virtuelle de deux sources ponctuelles évanescentes en phase . . 66
2.26 Image virtuelle de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase . . . . . 67

3.1 Spectre gaussien de l'onde incidente avec $2.\sigma$=200 nm. . . . . 71
3.2 Géométrie et conditions aux limites de la marche étudiée. Ligne verte en bas : substrat en silicium. Rectangle noir : la marche en silicium (n = 3,9485). Zone bleue : PML. Lignes rouges : conditions aux limites périodiques. L'onde incidente plane vient du haut (conditions aux limites de diffusion). . . . . 73
3.3 Distribution du champ Ez de l'onde incidente plane dans la zone de calcul (l'air) et de sa réflexion sur le substrat de silicium en bas en absence de marche (Ici n = 1 dans la marche, rectangle noir en bas). $\lambda$ = 600 nm. . . . . 74
3.4 Champ électrique totale $Ez$ (champ incident et champ réfléchi) en présence d'une marche en silicium. $\lambda$ = 600 nm. $H$ = 100 nm, $L$ = 1.2 µm. . . . . 75
3.5 Champ électrique réfléchie $Er$ par la marche. $\lambda$ = 600 nm. $H$ = 100 nm, $L$ = 1.2 µm. En pointillés verts, plan sur lequel la phase est prélevée. . . . . 75
3.6 Phase de l'onde réfléchie prise sur le plan passant par le haut de la marche et hauteur correspondante. $\lambda$ = 600 nm. Marche : $H$ = 100 nm, $L$ = 1.2 µm. . . . . 76

3.7 Interférogrammes de la PSM à 3 pas. a) à $\pi/4$, b) à $3\pi/4$ et c) à $5\pi/4$. Marche $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm, $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. . . . 78

3.8 Phase simulée. Marche : $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm : a) $\lambda = 400$ nm ; b) $\lambda = 800$ nm. En bleu : la phase, en rouge : la hauteur correspondante. 79

3.9 Phase calculée par PSM (avec une longueur d'onde centrale $\lambda_0 = 600$ nm) pour chaque longueur d'onde $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm par pas de 20 nm. Marche $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm. Au centre, courbe 800 nm en bas, courbe 400 nm en haut. . . . . 80

3.10 Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm et $2.\sigma = 100$ nm. Marche $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm. . . . . 81

3.11 Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma = 200$ nm. Marche $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm. . . . . 81

3.12 Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma = 400$ nm. Marche $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm. . . . . 82

3.13 Marches de largeurs $L = 800$ nm, 600 nm et 400 nm. Source à spectre gaussien de 400 nm à 800 nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) et e) Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) en fonction de la hauteur des marches. b), d) et f) Différence de phase du champ réfléchi par les marches en fonction de leur hauteur. . . . . 84

3.14 Marche de largeur $L = 1500$ nm et $L = 1200$ nm. Source à spectre gaussien de 400 nm à 800 nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) en fonction de la hauteur des marches. b), d) Différence de phase du champ réfléchi par les marches en fonction de leur hauteur. . . . . 85

3.15 Marches de largeurs $L = 300$ nm, 200 nm et 100 nm. Source à spectre gaussien de 400 nm à 800 nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) et e) Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) en fonction de la hauteur des marches. b), d) et f) Différence de phase du champ réfléchi par les marches en fonction de leur hauteur. . . . . 86

3.16 Géométrie et conditions aux limites du réseau étudié. Ligne verte : substrat en silicium (conditions aux limites d'impédances). Rectangle noir : partie haute de la période du réseau carré en silicium. Lignes rouges : conditions aux limites périodiques. L'onde incidente plane vient du haut (conditions aux limites de diffusion). . . . . 88

3.17 Phase de l'onde réfléchie prise sur le plan passant par le haut du réseau et hauteur théorique correspondante. $\lambda = 600$ nm, H = 100 nm, période = 2L avec L = 1.2 µm. . . . . 89

3.18 Phase simulée (en bleu) et hauteur théorique correspondante (en rouge). Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm : $\lambda$ = 400 nm à gauche et 800 nm à droite. . . . . 89

3.19 Phase simulée pour chaque longueur d'onde $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm par pas de 20 nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm. Courbe au centre $\lambda = 600nm$, courbe en bas $\lambda = 800nm$, courbe en haut $\lambda = 400nm$. . . . . 90

3.20 Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0$ = 600 nm) pour une source polychromatique $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm et $2.\sigma$ = 100 nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm. . . . . 91

3.21 Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0$ = 600 nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma$ = 200 nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm. . . . . 92

3.22 Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0$ = 600 nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma$ = 400 nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm. . . . . 92

3.23 Réseaux de période $2L$ avec $L$ = 1500 nm et $L$ = 1200 nm. Source à spectre gaussien, $\lambda_0$ = 600 nm, $2.\sigma$ = 200 nm. a), c) Réponse en phase simulée par PSM en fonction de la hauteur du réseau. b), d) Différence de phase entre centre de la partie haute et basse des réseaux en fonction de leur hauteur. . . . . 93

3.24 Réseaux de période $2L$ avec $L$ = 800 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0$ = 600 nm, $2.\sigma$ = 200 nm. Phase simulée par PSM en fonction de la hauteur du réseau. . . . . 94

3.25 Réseaux de période $2L$ avec $L$ = 800 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0$ = 600 nm, $2.\sigma$ = 200 nm. a) Différence de phase du champ réfléchi par les réseaux en fonction de leur hauteur. b) Idem modulo 2 $\pi$ pour le réseau avec $L$ = 800 nm et $H$ = 250 nm. . . . . 94

3.26 Réseaux de période $2L$ avec $L$ = 600 nm et 400 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0$ = 600 nm, $2.\sigma$ = 200 nm. a) et b) Différence de phase du champ réfléchi par les réseaux en fonction de leur hauteur. c) et d) Idem modulo 2 $\pi$ pour le réseau avec $L$ = 600 nm et $L$ = 400 nm et $H$ = 200 nm. e) et f) Idem modulo 2 $\pi$ pour le réseau avec $L$ = 600 nm et $L$ = 400 nm et $H$ = 250 nm. . . . . 95

3.27 Réseaux de période $2L$ avec $L = 600$ nm et 400 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. a) et b) Phase simulée par PSM en fonction de la hauteur des réseaux. . . . . 96
3.28 Réseaux de période $2L$ avec largeur $L = 300$ nm, 200 nm et 100 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) et e) Phase simulée par PSM en fonction de la hauteur des réseaux. b), d) et f) Différence de phase entre parties haute et basse des réseaux en fonction de leurs hauteurs. . . . . 98
3.29 Réseaux de période $2L$ avec $L = 300$ nm, $H = 100$ nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 100$ nm. Phase simulée par PSM pour différentes résolutions supposées du système imageur. a) Résolution spatiale de 10 nm, b) 50 nm, c) 100 nm et d) 200 nm. . . 101
3.30 Réseau de période $2L$ avec $L = 300$ nm, $H = 100$ nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 100$ nm. Phase simulée par PSM pour différentes résolutions supposées du système imageur. e) Résolution spatiale de 300 nm, f) 400 nm, g) 500 nm et h) 600 nm. . 102
3.31 Profil mesurée d'un réseau carré en silicium de période $2L = 400$ nm ($L = 200$ nm), H = 95 nm par PSM à travers une micro-bille en verre sodocalcique de diamètre 24 $\mu m$. Source de lumière blanche $\lambda_0$ = 520 nm. [1] . . . . . 103

# Introduction générale

L'essor des nanotechnologies permet de produire aujourd'hui de manière industrielle des objets dont la taille caractéristique est de l'ordre de la dizaine de nanomètre. La caractérisation de ces nano-objets est une étape clé pour pouvoir valider ou étudier leurs propriétés dans leurs domaines d'application de manière efficace [2].

En nano-métrologie, la caractérisation par imagerie est typiquement réalisée par microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM en anglais : Scanning Electronic Microscopy) ou par microscopie à force atomique (AFM en anglais : Atomic Force Microscopy). Bien que donnant des résolutions nanométriques (0,1-10 nm), ces techniques ne sont pas toujours adaptées aux besoins industriels et scientifiques : selon le cas, temps d'acquisition long, préparation des échantillons parfois nécessaire, nécessité de travailler sous environnement spécial (ex : vide pour le MEB) et mesures parfois délicates pour l'AFM [3, 4].

La microscopie optique a longtemps été considérée comme ne pouvant pas rivaliser avec la MEB ou l'AFM en raison de la limite de diffraction longtemps considérée comme intrinsèque et incontournable. Cette limite est latéralement de l'ordre de $\lambda/2$ (où $\lambda$ est la longueur d'onde de l'illumination) et axialement d'environ 1,5 $\lambda$. Récemment, de nouvelles techniques ont eu un grand impact sur l'imagerie optique en brisant la limite de résolution déterminé par la diffraction. Un des exemples ultime, actuel, concerne la microscopie de fluorescence, avec marqueurs ou fluorophores, comme la microscopie de déplétion par émission stimulée et la microscopie par localisation photo-activée (Prix Nobel de Chimie en 2014) [5], qui sont caractérisées par des pouvoirs de résolution d'environ 10 nm ($\lambda/40$). On parle alors de microscopie super-résolue.

En parallèle, d'autres techniques d'imagerie sub-diffractive sans marqueurs ont également été développées avec des pouvoirs de résolution compris entre $\lambda/2$ et $\lambda/10$. Elles permettent de repousser la limite de résolution latérale et offrent dans certains cas une alternative à la microscopie électronique pour l'observation d'éléments intra-cellulaires en biologie ou à la microscopie à force atomique pour les objets non-organiques en nano-technologie. Parmi elles, on retrouve la microscopie assistée par microsphère. En introduisant une microsphère transparente dans un

microscope optique classique, des objets ayant une taille de quelques centaines de nanomètres ($\lambda/5$), apparaissent résolus et contrastés [6]. Cependant, le phénomène physique à l'origine de ce pouvoir de résolution sub-diffractif à travers les microsphères est encore mal compris et ne fait pas consensus. Cette thèse de doctorat a pour objectif de contribuer à comprendre le mécanisme d'imagerie des billes dans la méthode de la microscopie assistée par microsphère et de considérer d'un point de vue théorique les spécificités de son utilisation en profilométrie interférométrique, spécialité d'ICube dans ce domaine.

Mon travail de doctorat s'inscrit dans le thème de recherche "Nanoscopie multimodale" de l'équipe IPP (Instrumentation et Procédés Photoniques) du laboratoire ICube. Il a été effectué en cotutelle entre l'Université de Strasbourg (France) et l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 (Algérie) dans le cadre d'une collaboration entre le Laboratoire d'Optique Appliquée (LOA) et le laboratoire ICube. Cette thèse a été co-financée par le programme de mobilité franco-algérien PHC Tassili. Elle est dirigée par Paul Montgomery (ICube) et Nacer-Eddine Demagh (LOA) et co-encadrée par Stéphane Perrin (ICube), Assia Guessoum (LOA) avec la contribution de Sylvain Lecler. Ce travail a été réalisé entre janvier 2018 et mai 2022. L'équipe IPP est parmi les premières qui, travaillant sur la microscopie optique assistée par microsphère, a développé des versions de microscopes super-résolus pour la profilométrie. Elle a acquis une reconnaissance internationale en microscopie interférométrique assistée par microsphère.

Ce manuscrit de thèse synthétise mon travail doctoral et est divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre décrit l'état de l'art de la microscopie optique assistée par microsphère. Il est subdivisé en deux parties, la première partie rappelle les méthodes de super résolution existante avec et sans marqueurs. La deuxième partie présente les différentes configurations de la microscopie interférométrique et l'état de l'art concernant la microscopie interférométrique assistée par microsphère.

Le deuxième chapitre est consacré à la compréhension théorique du mécanisme d'imagerie de la « microscopie optique assistée par microsphère ». Nous nous sommes intéressés au rôle des ondes évanescentes qui porte les hautes fréquences des détails des objets dans cette technique d'imagerie sub-longueur d'onde. Cette étude nous amène à proposer un nouveau modèle créé en 2D sous le logiciel COMSOL v5.5, dédié à l'étude de l'interaction des ondes évanescentes avec une microsphère. Des microsphères de diamètre 3 µm et 20 µm, en verre, ont été considérées. Cette étude est divisée en deux parties. La première partie étudie le couplage des ondes évanescentes aux modes de galerie de la microsphère, que ce soit en fonction de la position de la microsphère par rapport à l'objet, ou d'autre paramètres optiques et géomé-

triques tels que l'indice de réfraction de la microsphère, la longueur d'onde de la source d'illumination et sa phase, et le diamètre de la microsphère. La conversion d'ondes évanescentes du champ proche en ondes propagatives en champ lointain à travers la microsphère est démontrée. La deuxième partie de ce chapitre concerne notre but principal, celui de la capacité de la microsphère de former une image de deux sources ponctuelles séparées d'une distance inférieure à la limite de diffraction. Cette partie contient deux étapes essentielles : la première étape a consisté à générer deux sources ponctuelles constituées uniquement d'ondes évanescentes (concept proposé de sources ponctuelles évanescentes), dont la séparation de 200 nm est inférieure à la limite de diffraction. La section suivante met en avant les résultats de l'excitation de la microsphère par ces deux sources ponctuelles évanescentes. L'étape qui suit concerne la simulation de la formation de l'image virtuelle de ces deux sources ponctuelles évanescentes via le renversement temporel de la propagation du champ électrique de l'onde propagative convertie par la microsphère. Le résultat est comparé au cas de sources ponctuelles classiques.

Le troisième et dernier chapitre présente ce qui, à notre connaissance, est la première modélisation rigoureuse d'une des techniques de reconstruction de profil les plus utilisée en microscopie interférométrique : la microscopie à décalage de phase, ou PSM (en anglais Phase Shifting Microscopy). Cette méthode expérimentale, fait partie de longue date du savoir-faire de l'équipe IPP. L'objectif a été d'étudier le lien entre profil d'un objet et sa réponse en phase, en particulier dans le cas qui nous concerne, celui-ci où des motifs sub-longueur d'onde sont mesurés. L'étude a été réalisée sur deux objets : le premier objet est une simple marche en silicium dans l'air avec des largeurs et des hauteurs différentes, éclairée par une source polychromatique. Le deuxième objet est un réseau créneau en silicium dans l'air, avec des périodes et des hauteurs différentes. Le modèle a été implémenté sous COMSOLv5.5. L'évaluation numérique de la réponse en phase par PSM a été étudiée en fonction des paramètres optiques et géométriques. Pour les paramètres optiques, l'influence du contenu spectral de l'éclairage ($\Lambda$ entre 400 nm et 800 nm) sur l'évaluation de la profondeur de la marche et du réseau a été étudiée, comme par exemple la largeur spectrale de la source. Concernant les paramètres géométriques, l'influence de la variation de la hauteur et de la largeur de la marche ainsi que la variation de la période du réseau sont présentées et discutées. En outre, l'effet de la résolution spatiale du système imageur a été pris en compte, pour tenir compte du gain en résolution latérale apporté par les microsphères.

*Si l'apprentissage de la vérité est son objectif, le devoir de l'homme qui étudie des écrits scientifiques est de se faire ennemi de tout ce qu'il lit et de les soumettre au doute. Il devrait aussi remettre en question ses propres théories, à chacune de ses recherches afin d'éviter de succomber aux préjugés ou à la paresse intellectuelle,*
*Ibn al-Haytham*

# Chapitre 1

# État de l'art : Microscopie optique assistée par microsphère

La microscopie optique est une technique d'imagerie directe reposant sur la collection d'un faisceau de lumière diffracté ou diffusé par un objet. A travers une succession de composants optiques (généralement des lentilles), elle offre non seulement une image agrandit de l'objet à observer, mais également un pouvoir de résolution micrométrique, ce qui permet ensuite à l'objet d'être observable par l'oeil humain ou un capteur. Ceci en fait actuellement un outil performant et fiable, par exemple, pour le diagnostic biomédicale et la métrologie. De plus, combinée à l'interférométrie, elle offre la possibilité de reconstruire des topographies de surface (ou des tomographies de volume) avec une sensibilité spatiale très élevée. L'émergence des microtechnologies et des nanotechnologies, ainsi que l'observation de l'infiniment petit en biologie, a contribué à un essor récent et à de réelles avancées technologiques en microscopie en terme d'amélioration de la résolution spatiale et de la qualité d'imagerie.

## 1.1 Microscopie directe

### 1.1.1 Microscopie optique

#### Historique

Difficile de légitimer l'inventeur de la microscopie optique de nos jours, il est cependant juste de mettre en avant les travaux sur un microscope composé par la famille Janssen, à la fin du xvi$^{e}$ siècle et G. Galilei qui est crédité d'être l'un des premiers utilisateurs scientifiques du microscope composé, au début du xvii$^{e}$ siècle. Ces systèmes ont permis l'observation de minuscules objets vivants à une échelle

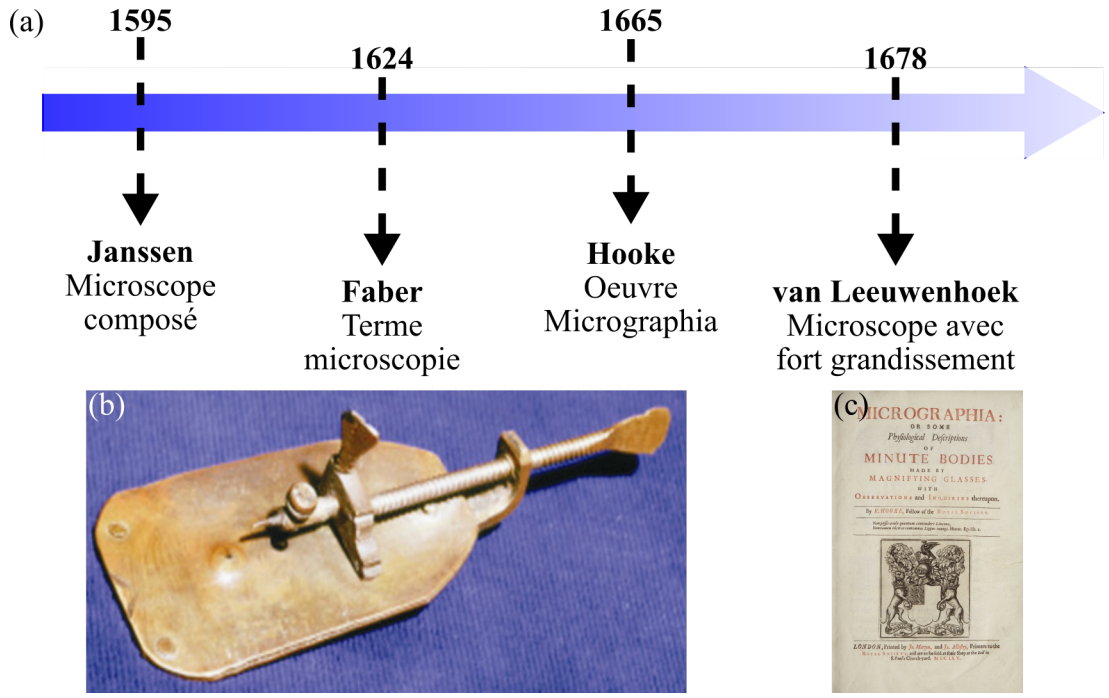



FIGURE 1.1 – (a) Évolution de la microscopie optique jusqu'à fin du xvii$^{e}$ siècle. (b) Photographie d'un microscope de A. van Leeuwenhoek. (c) Première couverture de l'oeuvre de R. Hooke, *Micrographia*.

jusque-là jamais atteinte (auparavant, l'agrandissement latérale était limité à cause de l'utilisation de simples lentilles). Mais, c'est seulement en 1624 qu'apparut pour la première fois le terme *microscopie* par G. Faber (provenant de la combinaison de deux mots grecques *mikrón*, signifiant petit, et *skopéō*, signifiant voir). S'en suit la correction des aberrations chromatiques par C. Huygens à travers un oculaire à double lentilles et l'investigation de micro-éléments biologiques par A. van Leeuwenhoek à travers des lentilles boules millimétriques (avec un grossissement qui sera égalé par un système composé seulement un siècle et demi après [7]). En 1665, R. Hooke édita le premier livre sur la microscopie optique et la description d'organismes vivants, *Micrographia*. Il fallu ensuite attendre le milieu du xix$^{e}$ siècle pour voir émerger la commercialisation à grande échelle de microscopes.

### Principe

A partir de cette époque, la configuration des microscopes optiques avec oculaire entrât dans un standard, similaire à ceux que nous connaissons aujourd'hui.

Sa conception repose sur deux composants optiques principaux qui sont un objectif de microscope et un oculaire qui est équivalent à une loupe (voir Fig.1.2). L'ob-

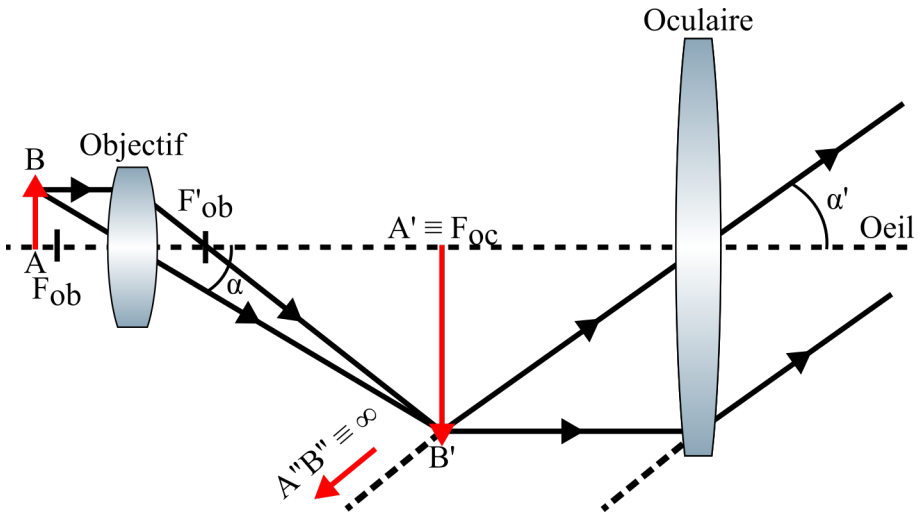



FIGURE 1.2 – Schéma de principe optique d'un microscope basé sur le tracé de rayon. L'objet $\overline{AB}$ est grossi à travers le système de lentilles puis l'image $\overline{A"B"}$ envoyée à l'infini pour être observée à l'oeil nu. $F_{ob}$ et $F'_{ob}$ sont les plans focaux de l'objectif. $F_{oc}$ est le plan focal objet de l'oculaire. $\overline{A'B'}$ est l'image intermédiaire renversée.

jectif de microscope transmet une image renversée et agrandie de l'objet (image réelle intermédiaire). Une lentille oculaire, dont le plan focal objet coïncide avec l'image intermédiaire, forme une image finale à l'infinie qui permet l'observation à l'oeil nu sans accommodation. L'une des caractéristiques principales qui décrit les performances du microscope est le facteur de grossissement commercial angulaire. Ce dernier est défini comme le rapport entre le demi angle maximal du faisceau d'entrée $\alpha$ déterminé par les extrêmes de l'objet et l'angle du faisceau de sortie $\alpha'$, déterminé par les extrêmes de l'image de l'objet formé par le système imageur [8]. Dans ce cas de figure, l'illumination de l'objet est en transmission. De nos jours, les objectifs de microscope sont corrigés à l'infini, nécessitant donc l'introduction d'une lentille relais avant l'oculaire. Cette avancée permit une illumination en réflexion de l'objet via l'insertion d'une séparatrice entre l'objectif et la lentille relais sans générer d'aberrations, ni de distorsions.

### Résolution latérale

C'est aussi à partir du milieu du xix$^{e}$ siècle que de nombreux travaux portant sur l'étude des performances furent reportés (voir Fig. 1.3), tel que l'influence de la diffraction de la lumière par E. Verdet [9]. En 1873, E. Abbe proposa la décomposition de l'objet à observer en une somme d'ondes ayant de multiples fréquences spatiales (séries de Fourier) [10]. En considérant l'objet comme une somme d'éléments périodiques diffractant la lumière, il montra que si au moins deux ordres de diffraction sont collectés par le microscope alors les motifs sont résolus. Ceci permit d'établir le premier critère de résolution latérale (critère de Abbe) qui fût déduit de la théorie de la diffraction de Descartes.

$$d(x,y) = \frac{\lambda}{n\ \sin\alpha} \tag{1.1}$$

où, $d(x,y)$ est la plus petite période spatiale de l'objet résolvable par le microscope dans le plan cartésien (x,y) transverse à l'axe optique. $\lambda$ est la longueur d'onde de la source d'illumination monochromatique, $n$ est l'indice de réfraction du milieu ambiant et $\alpha$ est le demi angle d'ouverture de l'objectif. Les motifs de l'objet ayant des fréquences spatiales supérieures à cette limite ne sont alors pas résolus. Peu de temps après, cette théorie fût mathématiquement confirmée par H. von Helmholtz [11]. En même temps, il étudia l'influence de la cohérence de la lumière et montra que quand une source à lumière blanche illumine l'objet, alors le pouvoir de résolution est améliorée d'un facteur $1/2$ ($\lambda$ devient $\lambda_m$, la longueur d'onde moyenne).

$$d(x,y) = 0.5\frac{\lambda_m}{n\ \sin\alpha} \tag{1.2}$$

De plus, H. von Helmholtz discuta d'un nouveau critère de résolution, récemment défini par J.W.S. Rayleigh [12].

Basé sur les travaux de G.B. Airy [13], Lord Rayleigh imagina l'objet à observer comme une multitude de sources ponctuelles incohérentes (lumière blanche). La résolution latérale d'un système d'imagerie est alors définie comme la distance entre le pique d'intensité maximale et le premier anneau de diffraction minimal.

$$d(x,y) \approx 0.61\frac{\lambda_m\ f}{n\ R} \approx 0.61\frac{\lambda_m}{n\ \sin\alpha} \tag{1.3}$$

où, $f$ est la longueur focale de la lentille de collection, $\lambda_m$ est la longueur d'onde centrale de la source d'illumination polychromatique et $R$ est le rayon de la pupille de la lentille . De nos jours, l'image d'un point source à travers un système d'imagerie optique parfait (limité seulement par la diffraction de la lumière) est appelée

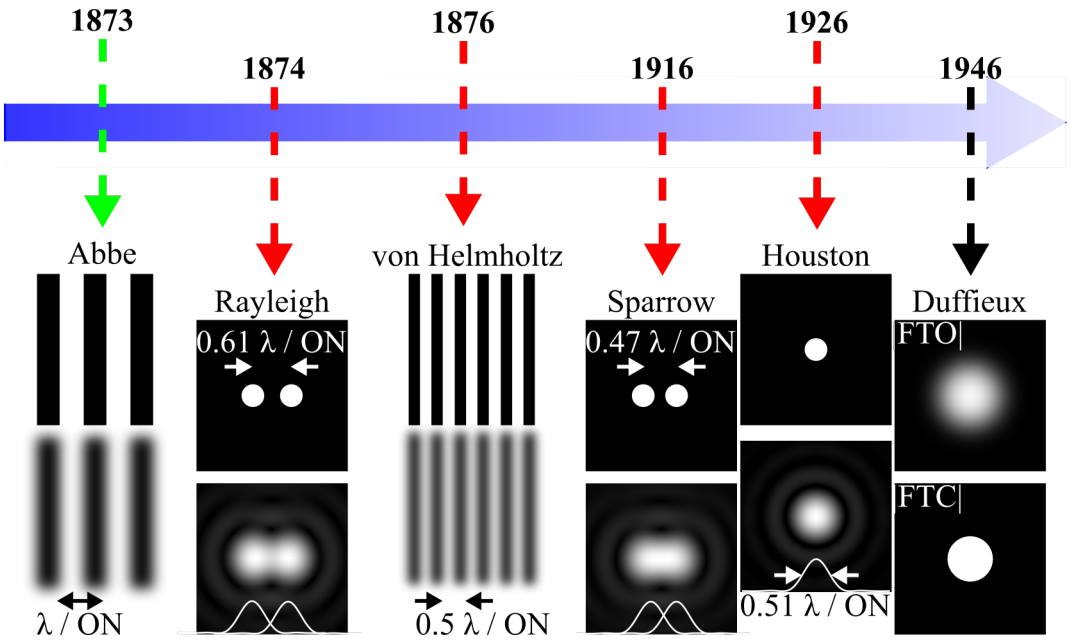



FIGURE 1.3 – Définitions des critères de résolution les plus couramment utilisés en microscopie optique. En verte, lorsque la source est cohérente. En rouge, lorsque la source est incohérente. En noir, lorsque la source est cohérente ou incohérente.

réponse impulsionnelle. En 1896, Lord Rayleigh étendit sa définition à différents objets (points, lignes et réseaux) et à différentes formes d'ouverture (circulaire et bords droits) [14].

En 1881, E. Abbe introduisit le terme d'ouverture numérique (de l'anglais *numerical aperture* avec $ON = n \sin \alpha$). Elle fut exprimée comme le rapport entre le rayon de la pupille de l'objectif de microscope $D/2$ et sa distance focale $f'$. E. Abbe montra que la relation 1.1 peut également être améliorée d'un facteur 2 en focalisant le faisceau d'illumination monochromatique (illumination oblique) par une lentille condenseur [15].

$$d(x,y) = \frac{\lambda}{ON_{cond} + ON_{coll}} = 0.5\frac{\lambda}{ON} \tag{1.4}$$

Si les ouvertures numériques de la lentille condenseur d'Abbe et de la lentille de collection sont égales ($ON_{cond} = ON_{coll}$), alors le facteur $1/2$ s'applique . Finalement, A. Köhler améliora, en 1893, les conditions expérimentales de la microscopie optique en proposant un système d'illumination incohérente homogène en intensité [16].

D'autres critères de résolution apparurent ensuite, tels que le critère de Sparrow pour l'astrophysique [17], défini comme la distance entre l'image de deux points

sources ne présentant pas de baisse d'intensité au centre, et le critère de Houston pour la spectroscopie [18], défini comme la largeur à mi-hauteur de la tache de diffraction d'une source ponctuelle (réponse impulsionnelle si le microscope ne présente pas d'aberrations optiques). Ce dernier est souvent utilisé en pratique car il est simple à mesurer et il s'adapte parfaitement lorsque l'intensité de la tâche de diffraction n'atteint pas zéro (par exemple, Gaussienne ou Lorentzienne).

### Résolution axiale

En microscopie optique classique, la résolution axiale est définie comme la capacité du système d'imagerie à séparer spatialement deux objets proches suivant l'axe optique (axe $z$). Elle est généralement assimilée à la profondeur de champ du microscope [19] ou à la réponse impulsionnelle axiale du microscope [20]. Par analogie au critère de Houston pour la résolution latérale [18], la résolution axiale peut être déterminée comme :

$$d(z) = \frac{2\lambda}{ON^2} \tag{1.5}$$

La microscopie optique classique offre alors un pouvoir de résolution non-homogène suivant les trois directions de l'espace. Cette différence suivant les axes $x-y$ et l'axe $z$ s'accentue lorsque l'objectif de microscope a une faible ouverture numérique.

Afin d'augmenter la résolution axiale de la microscopie classique, la tomographie par cohérence optique (de l'anglais, *optical coherence tomography*) utilise l'interférométrie à faible cohérence pour n'enregistrer que les photons balistiques rétro-réfléchis portés par la fonction de cohérence (voir Section 1.2.3). En considérant une source incohérente temporellement (spectre Gaussien ayant une largeur à $1/e$ de $\Delta\lambda$ et une longueur d'onde centrale $\lambda_m$), celle-ci est définie par [21] :

$$d(z) = \frac{2}{n}\frac{\ln 2}{\pi}\frac{\lambda_m^2}{\Delta\lambda} \tag{1.6}$$

### Optique de Fourier

Les considérations sur les résolutions latérale et axiale, discutés précédement, permettent d'estimer le pouvoir de résolution spatial de systèmes considérés comme limité par la diffraction (c'est-à-dire ne présentant ni d'aberrations optiques, ni de distorsions), ce qui n'est généralement jamais le cas en pratique. De plus, la nature de la lumière ainsi que la sensibilité du capteur doivent être prises en compte lors des calculs ou des mesures [20, 22]. A la fin de la Seconde Guerre Mondiale, un

scientifique français P.M. Duffieux introduisit le concept d'optique de Fourier à travers son premier ouvrage [23]. Ce concept fût ensuite démocratisé par la version en anglais [24] et le fameux livre "Principles of optics" de *Born and Wolf* [25].

L'optique de Fourier est un outil mathématique puissant car il permet de quantifier la fonction de transfert d'un microscope optique quelque soit la nature de la lumière (et même de l'onde). En optique de Fourier, la distribution spatiale de l'objet est assimilé à une somme de fonctions sinusoïdales ayant des périodes (ou des fréquences) spatiales, suivant les axes $x$, $y$ et $z$, et des amplitudes différentes l'une de l'autre. La figure 1.4 schématise ce principe suivant l'axe $x$ lorsque l'illumination ponctuelle est incohérente et le système parfait a une ouverture circulaire. A travers le système optique, l'intensité de l'image collectée Image(x,y) est déterminée par le produit de convolution entre le module au carré de l'amplitude de la réponse impulsionnelle spatiale RIS$(\xi, \nu)$ et le module au carré de l'amplitude de l'objet

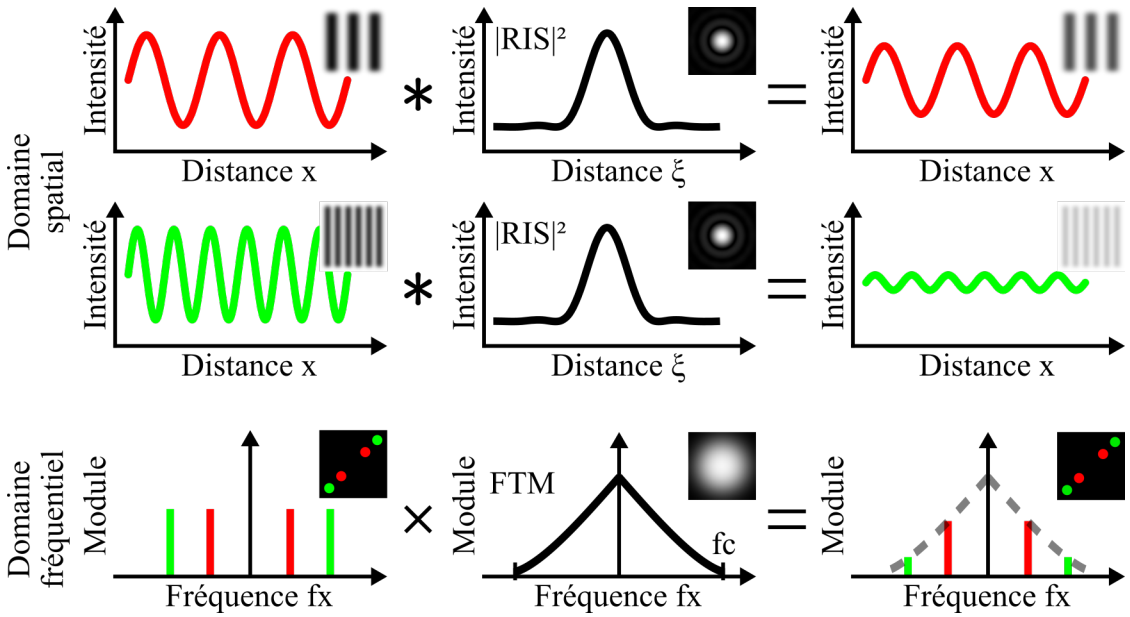



FIGURE 1.4 – Analyse des performance d'un microscope optique parfait via l'optique de Fourier lorsque l'illumination est incohérente. La pupille du système est circulaire. Figures reprises de la Réf. [26].

$\mathrm{a_{obj}(x,y)}$.

$$\begin{aligned} \text{Image (x,y)} &= |\mathrm{a_{im}(x,y)}|^2 \\ &= |\mathrm{RIS}(\xi,\nu)|^2 \circledast |\mathrm{a_{obj}(x,y)}|^2 \\ &= |\mathrm{RIS}(\xi,\nu)|^2 \circledast \text{Objet (x,y)} \end{aligned} \tag{1.7}$$

Avec $(\xi, \nu)$, les coordonnées spatiales de la réponse impulsionnelle définies comme $\xi = \lambda f'/D$ et $\nu = \lambda f'/D$. La réponse impulsionnelle $\mathrm{RIS}(\xi, \nu)$ est décrite comme la transformée de Fourier de la fonction pupille P(x,y) et équivaut à la figure d'Airy lorsque l'ouverture du système parfait est circulaire [13]. Rapporté dans le domaine fréquentielle, la relation 1.8 devient :

$$\begin{aligned} \mathcal{F}\{\text{Image (x,y)}\} &= \mathcal{F}\left\{|\mathrm{RIS}(\xi,\nu)|^2\right\} \times \mathcal{F}\left\{|\mathrm{a_{obj}(x,y)}|^2\right\} \\ Image(f_x, f_y) &= FTO(f_x, f_y) \times Objet(f_x, f_y) \end{aligned} \tag{1.8}$$

$FTO(f_x, f_y)$ est la fonction de transfert optique (de l'anglais, *optical transfer function*) du système d'imagerie et est calculée par une auto-corrélation de la fonction pupille P(x,y).

$$FTO(f_x, f_y) = \mathcal{F}\left\{|\mathrm{RIS}(\xi,\nu)|^2\right\} = \mathcal{F}\left\{[\mathcal{F}\{\mathrm{P(x,y)}\}]^2\right\} \tag{1.9}$$

$$= FTM(f_x, f_y) \exp\left[j\ FTP(f_x, f_y)\right] \tag{1.10}$$

Complexe, son module est la fonction de transfert de modulation $FTM(f_x, f_y)$ et son argument est la fonction de transfert de phase $FTP(f_x, f_y)$. La fonction de transfert de modulation détermine le contraste d'imagerie en fonction des fréquences spatiales $f_x$ et $f_y$ de l'objet. Dans cet exemple illustré, les deux réseaux sont transmis et résolus par le microscope. En revanche, le contraste d'imagerie du signal vert (ayant une plus grande fréquence que le signal rouge) est réduit. La fréquence de coupure $\mathrm{f_c}$ d'un système sans aberrations est de $2\ ON/\lambda$ (similaire au critère d'Abbe). Les aberrations optiques viennent déformer ou courber la fonction $FTM$, dégradant (ou améliorant) ainsi le contraste à certaines fréquences. L'influence des aberrations optiques faibles [27, 26, 28] et fortes [29], et des obstructions [30] a été étudiée. La fonction de transfert de phase $FTP(f_x, f_y)$ détermine un décalage latérale de l'image.

En imagerie incohérente, la fonction pupille est supposée homogène en intensité. En revanche, en imagerie cohérente, le terme de phase $\phi$ de la fonction pupille complexe ne peut pas être négligé ($\mathrm{P(x,y)} = \mathrm{T(x,y)}\ \exp[j\ \phi]$) [31], ce qui empêche la simplification de la relation 1.8.

$$\text{Image (x,y)} = |\mathrm{RIS}(\xi,\nu) \circledast \mathrm{a_{obj}(x,y)}|^2 \tag{1.11}$$

Dans l'espace de Fourier, cette relation s'écrit :

$$Image(f_x, f_y) = |FTC(f_x, f_y) \times \mathcal{F}\{\mathrm{a_{obj}(x,y)}\}|^2 \tag{1.12}$$

On parle alors de fonction de transfert cohérente (de l'anglais, *coherent transfer function*). Celle-ci est similaire à la fonction pupille P(x,y) à un facteur échelle près [32].

$$FTC(f_x, f_y) = \mathcal{F}\{\mathcal{F}\{\mathrm{P(x,y)}\}\} \sim P(x, y) \tag{1.13}$$

La fonction $FTC(f_x, f_y)$ ne doit pas être confondu avec la fonction de transfert de contraste (de l'anglais, *contrast transfer function*) qui est utilisée lorsque l'objet a une distribution d'intensité suivant une fonction carrée (et non pas sinusoïdale).

L'optique de Fourier a permis de déterminer les performances de microscopes optiques, comme la fonction de transfert d'un microscope optique en champ proche [33] ou d'un microscope interférométrique [34]. Mais, elle a également permis d'étudier la fonction de transfert d'un autre type de microscope direct, le microscope électronique [35, 36, 37].

### 1.1.2 Microscopie électronique

Inventée au début des années 1930, la microscopie électronique est une autre technique d'imagerie directe dont le fonctionnement initial est semblable à la microscopie optique. En effet, la microscopie électronique collecte une image grossit d'un objet illuminé par une source via une série de lentilles et un capteur [38]. En revanche, la microscopie électronique utilise des composants (lentilles électrostatiques et électromagnétiques) et des matériaux (capteur en sulfure de zinc ou phosphore) adéquates pour ce genre de particules. Considérant le principe de L. de Broglie (dualité onde-corpuscule de la matière) [39], les rayonnements d'électrons (énergies supérieures à 100 keV) ont alors des longueurs d'onde ayant des périodes très petites et offrant ainsi des résolutions spatiales nettement plus importantes qu'en microscopie optique.

En microscopie électronique en transmission (de l'anglais, *transmission electron microscopy*), le faisceau d'électrons est diffusé par l'objet fin ou transmis si l'objet est transparent aux électrons, puis un capteur collecte l'image plein champ agrandie. La résolution peut alors être sub-nanométrique et le facteur de grossissement peut quant-à-lui atteindre le million. Par la suite, des variantes ont été développées telle que la microscopie électronique à balayage en transmission [40] pour mesurer les pertes d'énergie des électrons point-par-point et ainsi remonter à la nature chimique de l'échantillon [41]. Aussi, la microscopie électronique à balayage confocal a permis d'améliorer la résolution latérale [42]. Lorsque l'échantillon est plus épais

(ou opaque aux rayonnements électroniques), la microscopie électronique à balayage (de l'anglais, *scanning electron microscopy*) s'avère nécessaire [4]. Cette dernière repose sur la mesure point-par-point de la perte d'énergie des électrons diffractés ou diffusés par l'échantillon. Cela se traduit par la réémission de particules tels que des électrons secondaires ou de rayonnements ionisants tel que des rayons X (photons). La résolution est alors plus faible qu'en configuration transmissive et peut atteindre quelques nanomètres. Des améliorations ont été proposées pour reconstruire l'information qualitative (mais pas quantitative) de hauteur de l'échantillon en combinant avec la stéréoscopie [43, 44, 45].

Récemment, J. Dubochet, J. Frank et R. Henderson ont obtenu le Prix Nobel de Chimie en 2017 [46] pour leur travaux, au début des années 1980, sur une technique particulière de préparation d'échantillons biologiques utilisée en microscopie électronique en transmission, la cryomicroscopie électronique [47]. En immobilisant les protéines à observer dans une eau vitreuse, les dommages d'irradiation causés par le faisceau d'électrons sont réduits. La morphologie et la structure des échantillons sont également préservées tout en atteignant une résolution spatiale d'environ un angstroem. Des améliorations ont ensuite été proposées en terme de précision des caméras, d'intensité du faisceau d'électrons, d'implémentation d'algorithmes de corrections d'aberration et de fabrication de super calculateurs.

Le fort pouvoir de résolution de la microscopie électronique rend possible l'observation de structures internes de cellules biologiques ou de protéines, malgré la limite de diffraction. Cependant, l'observation d'échantillons biologiques requière un temps de préparation des échantillons (déshydratés, fixés dans la résine, découpés et rendus conducteurs) considérable. Pendant la mesure, les échantillons sont soumis à des rayonnements très intenses et invasifs qui les rendent non-utilisables par la suite. De plus, afin d'éviter la dispersion des électrons par les molécules d'air, un vide est nécessaire. Ces contraintes, combinés au coût d'achat et d'utilisation du microscope, ont permis l'émergence de nouvelles techniques d'imagerie optique super résolues spatialement (en dessous de la limite de diffraction, voir Équation 1.4).

### 1.1.3 Microscopie optique super-résolue

En microscopie optique classique, malgré la réduction de la longueur d'onde de la lumière ou l'augmentation de l'ouverture numérique du système (voir Équation 1.4), la limite de résolution ne dépasse pas 200 nm ($\lambda_m/2$). Cependant, dès les années 1920, la notion d'ultramicroscopie (de l'anglais, *ultramicroscopy*) est mise en avant [48]. De nos jours, on retrouve la notion de nanoscopie optique [49, 50] pour regrouper les techniques d'imagerie en dessous de la limite de diffraction. Ces techniques sont

généralement divisées en deux catégories. La première comprend les techniques dites de super résolution qui augmente le pouvoir de résolution du système. La deuxième comprend les techniques dites de super localisation qui permettent de détecter des détails de l'objet avec une grande précision spatiale. Néanmoins, un système d'imagerie photonique limité par la diffraction de la lumière peut être capable d'atteindre des résolutions plus fines que $\lambda_m/2n$.

### Techniques d'amélioration de résolution limitée par la diffraction

La microscopie confocale repose sur le filtrage spatiale du faisceau d'illumination et du faisceau de collection. Une source ponctuelle focalisée vient alors exciter point-par-point la surface de l'objet et l'information d'intensité lumineuse du faisceau réfléchie est collectée par un capteur ponctuel. Breveté peu avant l'invention du Laser par M. Minsky [51], le principe de la microscopie confocale fût découvert en 1940 [52]. Cette technique d'imagerie permet d'augmenter d'un facteur $\sqrt{2}$ la résolution spatiale d'un microscope (voir Équation 1.3) mais requiert le déplacement latérale de la tête optique ou de l'objet afin de reconstruire une cartographie d'intensité de l'objet. Lorsque les diamètres d'ouverture des sténopés sont proche de zéro, la relation de la résolution peut s'écrire théoriquement comme :

$$d(x, y) > 0.37\frac{\lambda}{NA} \tag{1.14}$$

Malgré ce faible gain en résolution, la microscopie confocale augmente le contraste d'imagerie ce qui en fait un outil de diagnostique fiable en imagerie médicale [53]. La résolution axiale restant cependant faible, S.W. Hell *et al.*, de l'institut Max Planck (Allemagne), proposa d'illuminer l'échantillon avec un arrangement en tête-à-tête de deux objectifs de microscopes [54]. Cette configuration (appelé *double-pass configuration*, en anglais) réduit la fonction d'étalement axiale du système d'un facteur 5 par rapport à la microscopie confocale classique. Elle est connu sous le nom de microscopie 4Pi, en référence à l'angle solide en holographie 4Pi. Au début des années 2000, un phénomène électromagnétique fût découvert focalisant la lumière en dessous de la limite de diffraction, le jet photonique (de l'anglais, *photonic jet*) [55, 56]. La taille du faisceau peut atteindre $\lambda/3$ dans l'air, augmentant donc ainsi les performances de la microscopie confocale [57, 58].

A la fin des années 90, une nouvelle technique d'imagerie a permis d'améliorer la fonction de transfert de la microscopie optique, la microscopie par illumination structurée (de l'anglais, *structured illumination microscopy*) [59, 60, 61]. Le principe repose sur une détection hétérodyne des fréquences spatiales supérieures à la fréquence de coupure $f_c$ du microscope et sur une reconstruction indirecte.

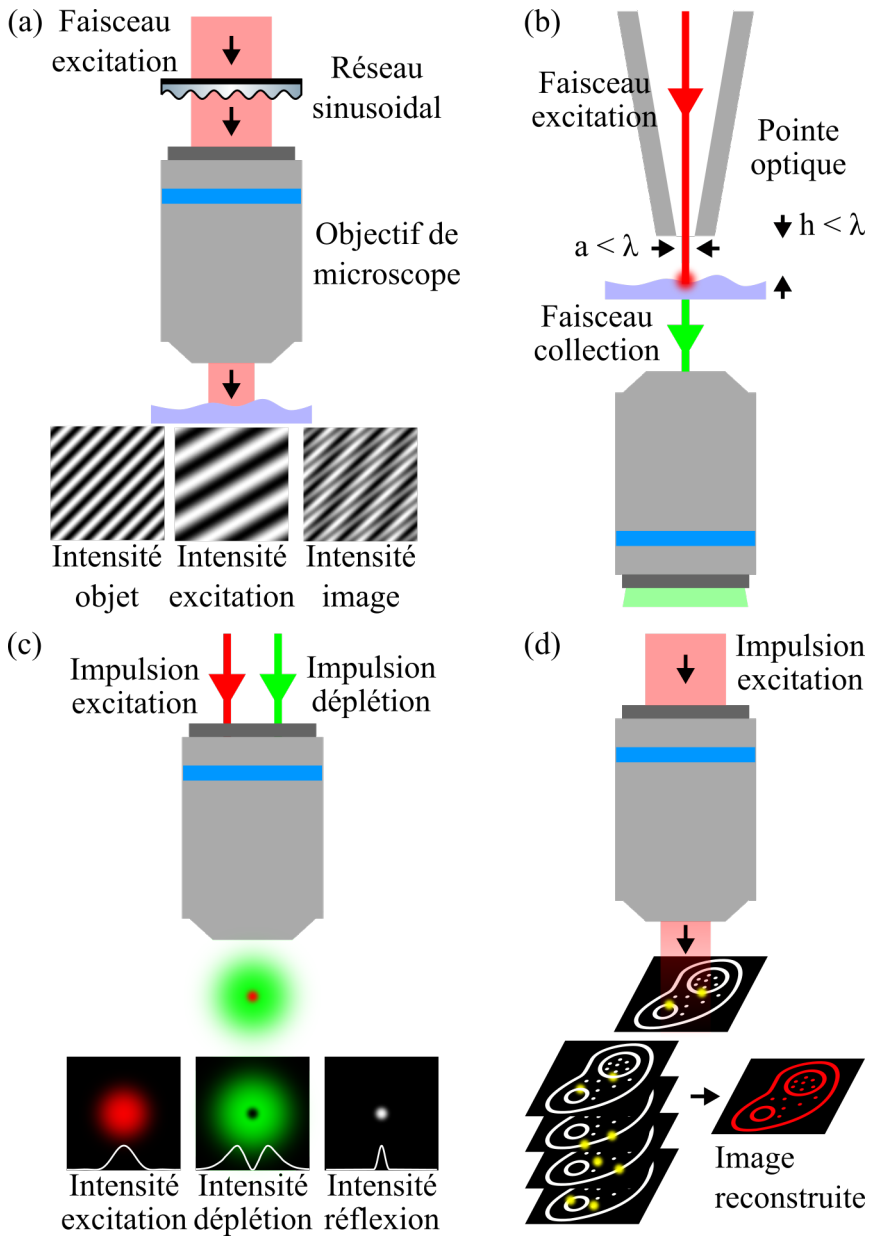



FIGURE 1.5 – Principes de techniques d'imagerie sub-diffractive. (a) La microscopie à illumination structurée en réflexion. (b) La microscopie optique en champ proche avec illumination par pointe en transmission. (c) La microscopie de déplétion par émission stimulée. (d) La microscopie par localisation photoactivée.

Pour cela, un masque ayant un motif connu (typiquement un réseau 1D d'amplitude sinusoïdale et de fréquence basse) est introduit dans l'illumination du microscope, comme schématisé dans la Figure 1.5(a). Les fréquences spatiales résolues ($f_x < f_c$) et non résolues classiquement ($f_x > f_c$) de l'objet se retrouvent donc illuminées par une illumination structurée. Résultant de la superposition entre les motifs du masque et les motifs de l'objet, une figure de Moirée est générée. Cette dernière porte alors les hautes informations spatiales de l'objet à la fréquence du masque qui est détectable par le microscope. Dans l'espace de Fourier, on dit que les fréquences de l'objet $f_x$ et $f_y$ sont translatées pour être comprises dans la fonction de transfert du système. Pour reconstruire une cartographie complète de l'objet suivant toutes les directions, une série d'un minimum de neuf images est nécessaire via une rotation du masque ou de l'objet [62]. Pour reconstruire en trois dimensions, quinze acquisitions sont nécessaires. La résolution latérale peut alors être augmentée.
La microscopie tomographique diffractive (de l'anglais, *tomographic diffractive microscope*) est une technique dérivée de la microscopie holographique numérique (de l'anglais, *digital holographic microscopy* [63]) permettant une amélioration de la résolution. Pour cela, des hologrammes sont acquis sous plusieurs angles d'illumination permettant d'augmenter l'ouverture numérique dans l'espace de Fourier [64] et d'atteindre des résolutions latérales de $\lambda/4$ [65] et des sensibilités axiales nanométriques. De plus, le bruit de cohérence est moyenné et le rapport signal à bruit augmenté [66].

### Techniques d'imagerie super résolue

En 1928, l'idée de venir collecter l'information lumineuse en champ proche via une ouverture plus petite que la longueur d'onde (environ 100 nm) est suggérée par E. Synge [48]. Le principe repose sur la collection point-par-point de l'intensité lumineuse diffusée ou diffractée par l'objet en se propageant de manière évanescente sur sa surface. Pour reconstruire une cartographie d'intensité, la pointe à ouverture sub-longueur-d'onde (ou l'échantillon) est déplacée latéralement par un système piézo-électrique [67]. Mais c'est seulement en 1972 que le premier microscope en champ proche est réalisé en utilisant une source à grandes longueurs d'onde, les micro-ondes [68]. La barrière de la limite de diffraction fût alors clairement franchie en atteignant une résolution de $\lambda/60$. Au milieu des années 1980, la microscopie optique en champ proche (de l'anglais, *near-field scanning optical microscopy*) apparut et permit d'atteindre des limites de résolution de $\lambda/20$ dans le visible [69, 70]. Cette technique d'imagerie fait partie des techniques de microscopie à sonde locale, comme la microscopie à force atomique (de l'anglais, *atomic force microscopy*) [3, 71]. De nombreuses conceptions (tels que l'illumination par pointe (voir Figure 1.5(b)) et

l'illumination/collection par pointe) et variantes ont ensuite été développées permettant d'améliorer les performances et les conditions expérimentales de la technique [72]. Les embouts des pointes optiques sont généralement façonnés et métallisés. Cependant, en 2007, l'équipe de M. Nakano remplaça la pointe optique traditionnelle par une sphère ayant un diamètre de 500 nm [73]. Une résolution latérale de 20 nm avec une source de lumière de 632.8 nm de longueur d'onde est alors démontrée.

Conjointement à ses travaux sur la microscopie 4Pi [54, 74], S.W. Hell mît au point une méthode pour réduire la fonction d'étalement latérale de la microscopie confocale de fluorescence, la microscopie à déplétion par émission stimulée (de l'anglais, *stimulated emission depletion microscopy*) [75, 76]. La méthode requiert la combinaison de deux faisceaux lasers, un faisceau d'excitation et un faisceau de déplétion (voir Figure 1.5(c)). Ce dernier, ayant une distribution d'intensité en forme de "donut" via un masque de phase, réduit l'efficacité de la fluorescence de l'excitation autour du point focale, restreignant la surface active. La taille de cette surface est la résolution latérale du système en champ lointain [49] et se définie comme :

$$\delta_{x,y} = \frac{\lambda}{2\ n\ \sin\alpha\sqrt{I_e/I_d}} \tag{1.15}$$

avec $I_e$ et $I_d$, les intensités du faisceau d'excitation et de déplétion. Afin d'obtenir une résolution de 30 nm ($\sim \lambda/20$), la densité surfacique de puissance du faisceau de saturation doit être très élevée ($\sim$ 1 kW/cm$^2$), endommageant généralement l'élément à observer. Afin de reconstruire une cartographie de fluorescence de l'objet, la tête optique ou l'objet lui-même doit être balayé latéralement et le système parfaitement aligné. Le prix Nobel de Chimie en 2014 attribué à Eric Betzig, Stefan Hell et William Moerner, fût partagé entre les travaux de recherche sur la microscopie super résolue ainsi que les travaux sur la microscopie stochastique fonctionnelle [5].

### Techniques d'imagerie stochastique fonctionnelle

Le concept de la microscopie stochastique fonctionnelle consiste à remplacer le critère de résolution classique (voir Equation 1.4) par un critère dit de localisation spatio-temporelle. Pour cela, la microscopie de localisation par photo-activation (de l'anglais, *photo-activated localization microscopy*, PALM) et la microscopie par reconstruction stochastique optique (de l'anglais, *stochastic optical reconstruction microscopy*, STORM) repose sur le principe de localisation de molécules ponctuelles (de l'anglais, *single molecule localization*) [77, 78], parfois appelé principe de pointillisme. Toutes deux ont été développées simultanément en 2006 dans deux laboratoires américains, Howard Hughes Medical Institute et Harvard University. Ces deux

techniques de microscopie stochastique requièrent cependant deux types de fluorophores différents [79]. La microscopie PALM utilise des protéines fluorescentes [80] alors que la microscopie STORM utilise des marqueurs organiques [81]. Les deux techniques nécessitent l'excitation des photo-particules par de courtes impulsions dans le temps afin de les activer séquentiellement. Lorsque l'intensité du faisceau d'excitation est élevée ($\sim$ kW/cm$^2$), seule une fraction des photo-particules injectées dans l'échantillon est alors placée dans un état d'excitation par la lumière. Si l'intensité du laser était plus faible, une image en fluorescence standard serait enregistrée. Ensuite, chaque molécule émettrice est précisément détectée et leur position (centre de masse) déduite par un traitement d'image basé sur une déconvolution de la fonction d'étalement du système. Le processus est répété plusieurs fois afin que les photo-particules individuelles se désactivent et d'autres s'activent (voir Figure 1.5(d)). L'image est finalement reconstruite en utilisant une multitude d'acquisitions temporelles (environ 1000 acquisitions). Le pouvoir de résolution peut atteindre 20 nm ($\sim \lambda/30$), soit un gain en résolution d'environ 15 fois. Cependant, ces techniques de super localisation restent lentes et nécessitent le traitement de beaucoup de données. De plus, elles fonctionnent uniquement grâce à des molécules photo-sensibles spécifiques, limitant la gamme d'échantillons à observer.

### 1.1.4 Microscopie assistée par microsphères

Récemment, en 2011, l'observation d'objets en dessous de la limite de diffraction à travers des microsphères de verre a été démontrée expérimentalement [6]. En effet, en introduisant des microsphères diélectriques dans le chemin optique d'un microscope optique classique ($\lambda_m$ = 600 nm), Z. Wang *et al.* ont résolu des trous de diamètre 50 nm périodiquement espacés de 50 nm dans l'air (voir Figure 1.6(b)). L'objet ayant une période spatiale de 100 nm, la limite de diffraction fût donc dépassée d'un facteur de 3 ($\lambda_m/6$) dans l'air. Pour cela, des microsphères de silice ($n_{ms}$ = 1,46, D = 9.0 µm) furent déposées sur l'objet à observer sous un microscope en réflexion à lumière blanche. Puis, une image grandie et porteuse de l'information super résolue fût générée par chaque microsphère transparente [84]. Cette dernière fût ensuite collectée par l'objectif de microscope et envoyée sur une caméra afin d'être enregistrée. En 2012, A. Darafsheh *et al.* ont montré que des microsphères ayant un plus fort indice de réfraction ($n_{ms} \sim$ 2,0) et immergées dans de l'alcool ($n_s$ = 1,37), offrent également la possibilité d'imager en dessous de la limite de diffraction [85].

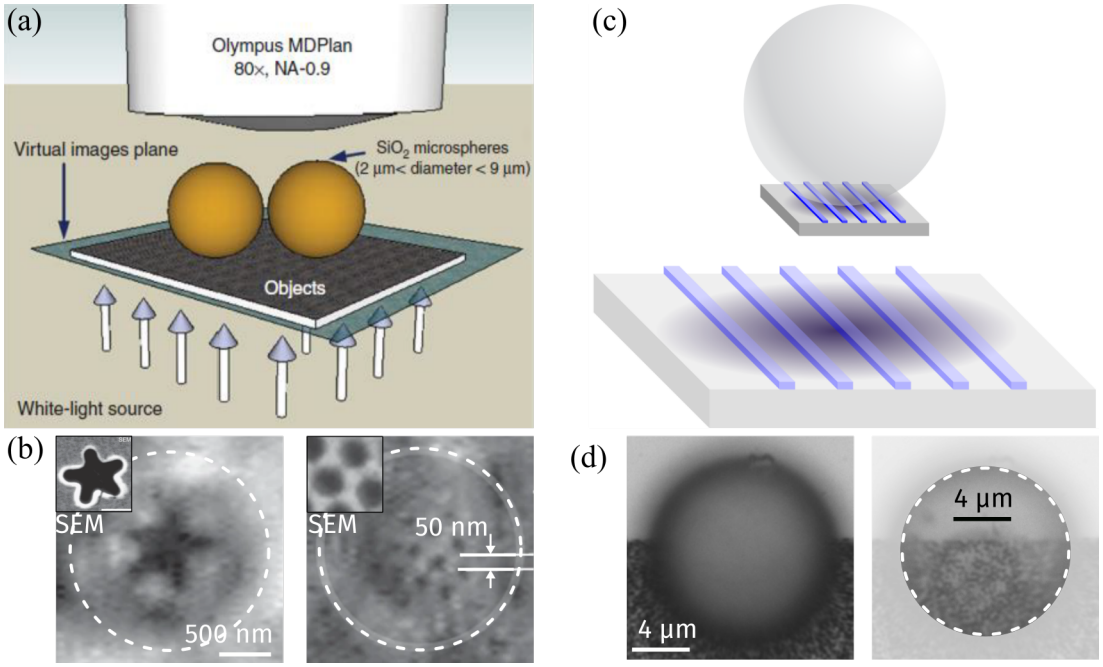



FIGURE 1.6 – Principe de la microscopie assistée par microsphère. (a) Schéma du montage de la démonstration expérimentale du phénomène d'imagerie sub-diffractive à travers une microsphère de verre. (b) Observations d'une étoile d'envergure 1.0 µm et de trous ayant des diamètres de 50 nm montrant le phénomène dans l'air. Figures extraites de la Réf. [6]. (c) Schéma de principe de la formation de l'image (ici virtuelle) à travers une microsphère. Figure extraite de la Réf. [82]. (d) Mesures d'un nano QR-code à travers un simple microscope puis une bille de 30 µm. Figures extraites de la Réf. [83].

### Formation de l'image

Dans ces deux cas, tout comme dans la figure 1.6(c), l'image générée par la microsphère apparaît en dessous du plan objet, indiquant que dans ce cas l'image est virtuelle. Cependant, le contraste des indices de réfraction entre la sphère et le milieu ambiant ($n_{ms}/n_s$) ainsi que le diamètre de la microsphère gouvernent la formation et la nature de l'image. Par exemple, une sphère avec un indice de réfraction supérieure à 1,8 dans l'air formera toujours une image réelle [86] (l'image sera alors localisée entre l'objectif de microscope et la microsphère). Lorsque le contraste d'indice est plus faible, le diamètre de la microsphère est à considérer par rapport à la nature de l'image. Cela s'explique par le fait que, à cette échelle micrométrique, la microsphère

ne répond pas aux lois classiques de l'optique. Son point focal peut être assimilé à ce d'un jet photonique [87]. Ce dernier est un phénomène électromagnétique produisant un faisceau propagatif focalisant lorsqu'une sphère micrométrique est illuminée par une onde plane. Comme on verra plus loin, le jet photonique ne peut néanmoins pas expliquer le phénomène de super résolution (pour plus de détails, voir Section 2.1.1) et ne peut donc pas être assimilé à la réponse impulsionnelle spatiale (de l'anglais, *point spread function*) de la microsphère [88].

### Performances

En introduisant de petites microsphères (D $\leq 50\,\mu m$), la résolution peut atteindre 100 nm dans l'air ($\lambda_m/5$). Avec des microsphères plus grandes, le pouvoir de résolution est amoindri ($\lambda_m/4$) [85]. En effet, plus petite sera la microsphère, meilleure sera son pouvoir de résolution (voir Figure 1.7). Le contraste des indices de réfraction joue également un rôle non seulement sur la résolution mais également sur le contraste des images ainsi formées [89]. Ce dernier sera plus élevé en immersion. A. Darafsheh *et al.* ont montré une résolution de $\lambda_m/7$ à travers des microbilles de verre dopées au titanate de baryum immergées dans un liquide.

Néanmoins, le phénomène physique derrière la super résolution en microscopie assistée par microsphères reste actuellement incomplet et non compris totalement. De plus, la quantification de la résolution ultime n'est pas définie théoriquement. Le chapitre 2 vise à découvrir ce phénomène en démontrant numériquement l'hypothèse de la collection d'ondes à grandes fréquences spatiales (par exemple, les ondes évanescentes se propageant en surface de l'objet) par la microsphère [91, 92]. Cependant, afin de déterminer les performances d'imagerie, l'optique de Fourier est souvent mis en avant [93, 94]. Cela permet d'estimer expérimentalement la fréquence spatiale de coupure dans une configuration donnée et de retrouver la génération d'aberrations optiques [95]. Il a été démontré que la limite de résolution en microscopie par microsphères est similaire à celle en microscopie par illumination structurée ou en microscopie par lentilles en méta-matériaux et est généralement plus élevée qu'en microscopie confocale ou en microscopie par lentilles à immersion solide [96]. Loin derrière les performances de la microscopie STED ou PALM/STORM, la microscopie par microsphères vise à combler un manque de techniques d'imagerie sub-diffractive ayant un pouvoir de résolution compris entre 600 nm et 100 nm. Au sein du Laboratoire ICube (Équipe IPP), nous préférons donc utiliser le terme d'imagerie sub-diffractive plutôt que d'imagerie super-résolue. De plus, elle reste relativement simple à utiliser [83], non invasive et peu coûteuse.

La figure 1.7 montre également que le champ de vue latérale évolue en fonction de la taille de microsphère, allant de 2.5 µm, pour une bille de diamètre 6 µm, à

11 µm, pour une bille de diamètre 125 µm. En considérant une collection des ondes évanescentes, le diamètre de la zone observable est alors définie par [97] :

$$FOV_{x,y} = 2\sqrt{\lambda\ D} \tag{1.16}$$

Au delà de cette zone, la capacité à la microsphère de collecter l'information en champ proche décroît drastiquement. Pour augmenter le champ de vue latérale ($\sim$ 5.0 µm pour une sphère de diamètre 25.0 µm dans le visible), plusieurs techniques ont été envisagées telles que le déplacement latérale de la sphère dans un liquide [98], l'insertion de la sphère dans une pointe d'AFM [93] et la fixation de sphères dans une tête optique [99]. De plus, il a été montré que des micro-fibres permettent d'imager en dessous de la limite de diffraction suivant son axe transverse [100, 101].

Le facteur de grandissement de l'image générée varie de façon non conventionnelle [84]. En effet, celui-ci varie linéairement suivant une grande profondeur d'imagerie (quelques dizaines de micromètres suivant les paramètres géométriques et optiques). Le long de l'axe optique, le contraste d'imagerie évolue également [95].

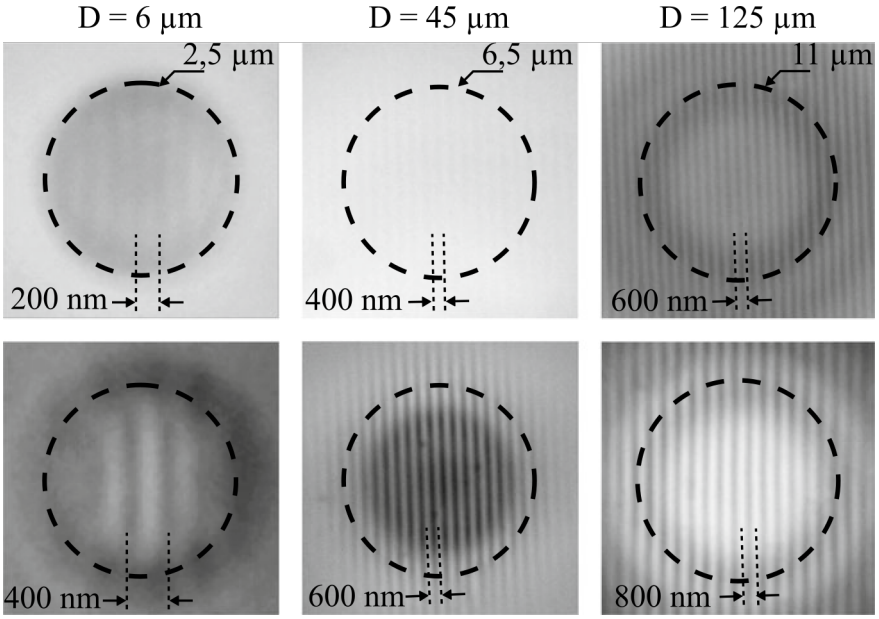



FIGURE 1.7 – Influence du diamètre de la microsphère sur la résolution latérale. Les microsphères de verre sodocalcique sont placées dans l'air ($n_{ms}/n_s \sim 1{,}52$). L'objet est une mire de calibration Ronchi. Figure extraite de la Réf. [90].

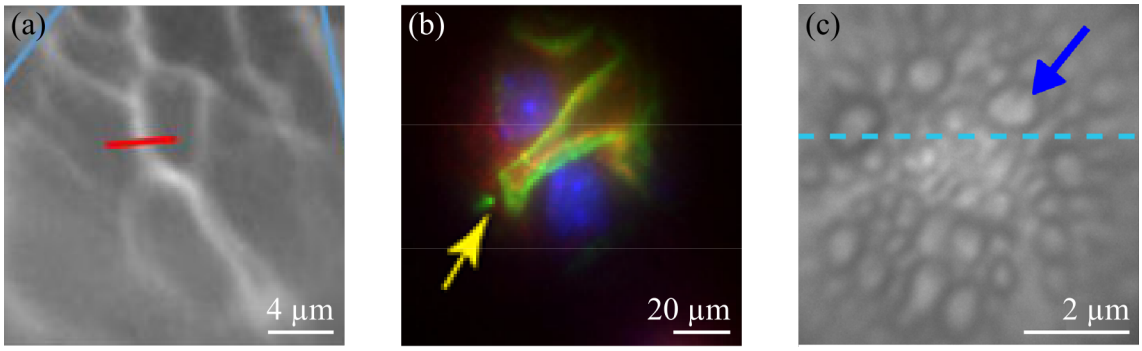



FIGURE 1.8 – Applications de la microscopie assistée par microsphères pour la biologie. (a) Filament d'actine. Figure extraite de la Réf. [94]. (b) Glomérule rénal. Figure extraite de la Réf. [107]. (c) Fibre nerveuse d'un cerveau de souris. Figure extraite de la Réf. [105].

### Applications

Malgré certaines réticences de la communauté à l'égard de la résolution ainsi que du coté pratique à utiliser [102], l'imagerie plein champ à travers des microsphères a abouti à de nombreuses approches d'imagerie sub-diffractive en transmission et en réflexion [103]. Par exemple, les combinaisons de la microscopie assistée par microsphère avec l'imagerie à polarisation [104] et avec l'imagerie en champ sombre [105] ont été développées dans l'air afin d'améliorer le contraste d'imagerie d'objetstransparents. En immersion, l'observation d'éléments biologiques [94] et de virus [106] est rendue possible en imagerie directe et en imagerie à deux photons sur des fibres de collagènes d'os [107]. Non requit pour obtenir une grande résolution en microscopie par microsphère, l'imagerie en fluorescence a aussi été considérée pour visualiser des structures sub-cellulaires [108, 109]. Enfin, les microsphères ont montré un fort intérêt en microscopie interférométrique en améliorant sa résolution latérale et en rendant donc plus homogène sa résolution spatiale de reconstruction [110].

## 1.2 Microscopie interférométrique

La microscopie optique interférométrique est une technique d'imagerie mature qui combine la microscopie directe classique à l'interférométrie optique. Le principe de l'interférométrie consiste en la superposition d'ondes électromagnétiques (ondes lumineuses dans le domaine du visible, infra-rouge ou ultra-violet). Un signal d'interférence, porteur d'un déphasage (ou d'un retard) induit entre un faisceau objet $E_{obj}$

et un faisceau de référence $E_{ref}$, est enregistré temporellement ou spectralement, afin d'être ensuite analysé et d'en déduire une information spatiale de la profondeur de l'objet. Mathématiquement, la distribution d'"intensité de l'interférogramme $I(x, y, \delta)$, à un instant donné, peut s'écrire :

$$\begin{aligned} I(x, y, \delta) &= |E_{ref} + E_{obj}|^2 \\ &= 2I_0(x, y) \left[1 + |\gamma(\delta(x, y))| \cos\left(2\pi\delta(x, y)/\lambda_0\right)\right] \end{aligned} \tag{1.17}$$

Le terme $I_0(x, y)$ est la somme des intensités de deux faisceaux de référence et objet ($|E_{ref}|^2 + |E_{obj}|^2$) . Il s'agit d'un offset lors de l'enregistrement par la caméra et ne comprend pas d'information relative à la hauteur de l'objet [111]. La distribution des hauteurs relatives (c'est-à-dire la différence de chemin optique $\delta(x, y)$) de l'objet est alors établie en considérant soit la fonction de cohérence temporelle $|\gamma(\delta)|$ (parfois appelé enveloppe des franges) lorsque la source de lumière est faiblement cohérente, soit le terme de phase $\cos(k\delta)$ lorsque la source de lumière est fortement cohérente. La méthode d'enregistrement ainsi que l'algorithme de reconstruction de hauteur repose donc sur la cohérence temporelle de la lumière [112].

Non inclus dans la relation précédente, la cohérence spatiale et la polarisation de la lumière jouent également un rôle en interférométrie. Deux ondes ayant la même polarisation offriront une figure d'interférence contrastée. En revanche, si les polarisations sont orientées différemment, le contraste de la figure d'interférence baisse jusqu'à atteindre une valeur nulle lorsque celles-ci sont perpendiculaires entre-elles.

### 1.2.1 Microscopie holographique numérique

La microscopie holographique numérique est une technique d'interférométrie cohérente ; elle requiert donc l'utilisation d'une source cohérente temporellement. Cette technique est issue des travaux de D. Gabor en microscopie électronique en transmission [113, 114]. L'hologramme (nom donné à l'interférogramme) est enregistrée par la caméra puis traiter informatiquement par des algorithmes basés sur la transformée de Fourier [115, 116] afin de retrouver une information quantitative de la phase de l'objet [117, 118]. La phase comprend le terme de différence de chemin optique et donc l'information de topographie de surface (en réflexion) ou l'information de volume (en transmission). En imagerie quantitative de phase, on a coutume de mentionner le terme de sensibilité axiale (ou de justesse) plutôt que résolution axiale. Cela quantifie l'erreur de mesure sur la phase. En microscopie holographique numérique, la sensibilité peut atteindre le nanomètre dans certains cas [119, 120], équivalant donc à un facteur 1000 sur la résolution latérale (voir Section 1.1.1). Une

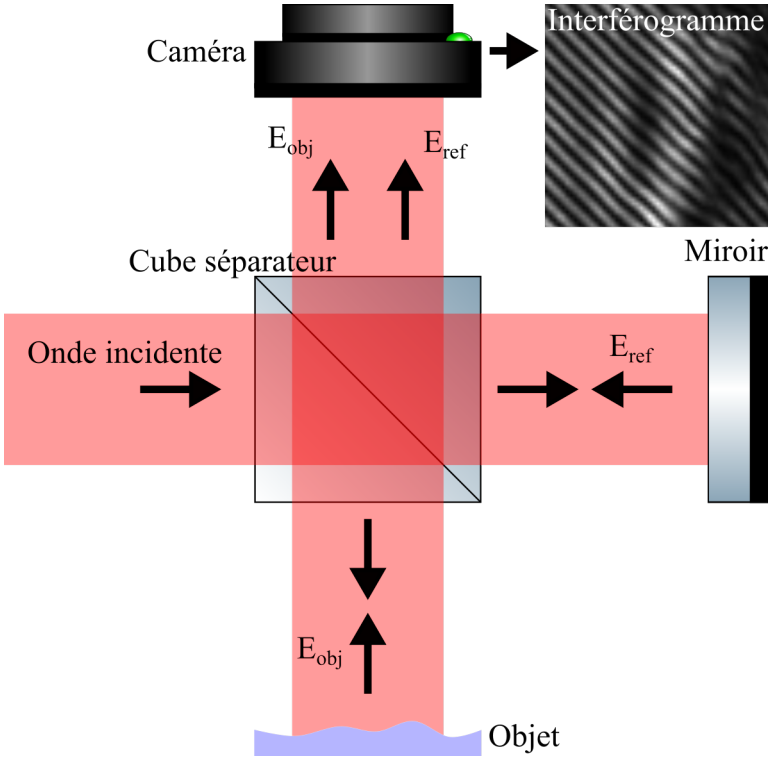



FIGURE 1.9 – Schéma de principe d'un interféromètre optique. La caméra enregistre un interférogramme dont l'intensité dépend des champs électriques $E_{ref}$ et $E_{obj}$ réfléchis respectivement par le miroir et l'objet. Les ondulations spatiales des franges représentent des variations de hauteur de l'objet.

ouverture numérique synthétique a permis de rendre plus homogène spatialement la reconstruction [66].

Les algorithmes de reconstruction de la distribution de phase nécessite l'utilisation de la fonction arctan qui opère dans l'intervalle $]-\pi, \pi[$. Cette contrainte mathématique limite le saut de phase mesurable $\phi$ à $2\pi$. De part la relation $\phi = 2\pi\delta/\lambda$, cela correspond à une différence de chemin optique ($\delta = 2\ h$) égale à $\lambda$. Si l'objet présente un motif localement abrupt plus haut que $\lambda/2$ alors la valeur de la hauteur $h$ sera erronée. Lorsque la surface à mesurer a une distribution de hauteur continue, un algorithme de déroulement de phase est nécessaire [121, 122]. Une autre méthode consiste à enregistrer deux hologrammes simultanément avec une longueur d'onde d'illumination différente pour chacun [123]. Cela a pour effet d'augmenter la longueur d'onde (ou de décaler la fréquence de battement) [124].

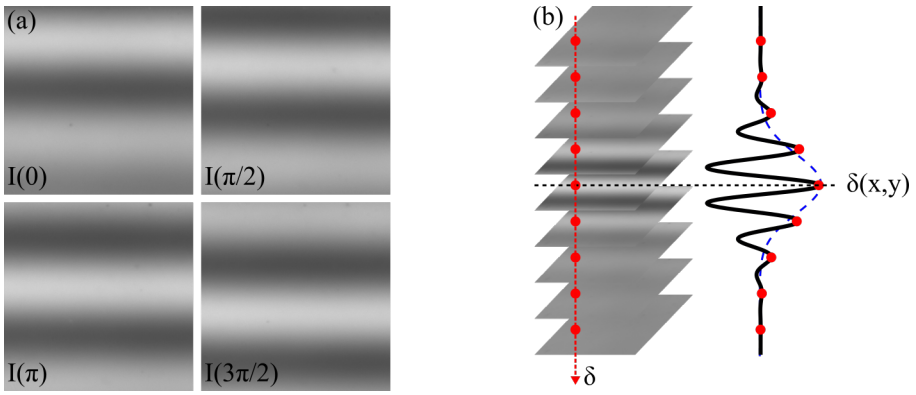



FIGURE 1.10 – Algorithmes (a) de microscopie interférométrique à décalages de phase (quatre sauts) et (b) de microscopie interférométrique en lumière blanche. Figure extraite de la Réf. [111].

### 1.2.2 Microscopie interférométrique à décalages de phase

On retrouve cette limite de mesure de hauteur brusque de $\lambda/2$ en microscopie interférométrique à décalages de phase (de l'anglais, *phase shifting microscopy*). Il s'agit d'une technique d'imagerie quantitative de phase qui, comme la microscopie holographique numérique, requiert l'implémentation de la fonction arctan. Elle repose sur l'introduction d'un déphasage temporelle connu $\psi$ (ou spectral) dans l'équation de l'interférence (voir Équation 1.17) [125].

$$I(x,y,\delta,\psi) = 2I_0(x,y)\left[1 + |\gamma(\delta(x,y))|\cos\left(2\pi\delta(x,y)/\lambda_0\right) + \psi\right] \tag{1.18}$$

Pour cela, le miroir de référence est déplacé axialement sur une courte distance par un système piézo-électrique (voir Figure 1.10(a)). Répétée au moins trois fois, la série d'interférogrammes permet de retrouver la distribution de phase $\phi$ entre l'objet et le miroir de référence. Les algorithmes les plus couramment utilisés reposent sur trois ou quatre décalages de phase.

$$\phi = \arctan\left\{\frac{I(5\pi/4) - I(3\pi/4)}{I(\pi/4) - I(3\pi/4)}\right\} \qquad \text{3 interférogrammes}$$

$$\phi = \arctan\left\{\frac{2I(\pi) - I(\pi/2)}{I(0) - I(\pi/2) - I(\pi) + I(3\pi/2)}\right\} \qquad \text{4 interférogrammes}$$

Ces algorithmes, proposés au milieu des années 80 [126], ont permis de populariser la mesure de la rugosité par interférométrie. D'autres algorithmes plus robustes, tel

que Carré [125], permettent d'augmenter le rapport signal à bruit de la mesure. Augmenter le nombre d'acquisitions réduit également la composante du bruit, mais augmente simultanément le temps d'acquisition et de reconstruction de la phase.

La microscopie interférométrique à décalages de phase est une technique d'interférométrie fortement cohérente mais une source élargie spectralement peut également convenir et suffire à la reconstruction [127]. De plus, en combinant l'interférométrie à décalages de phase avec une technique faiblement cohérente, la plage de mesure est augmentée ($> \lambda/2$) [128].

### 1.2.3 Microscopie interférométrique en lumière blanche

La microscopie interférométrique en lumière blanche repose, comme son nom l'indique, sur une source d'illumination faiblement cohérente temporellement. Le signal d'interférence est alors porté et restreint par son enveloppe. Autrement dit, le signal d'interférence apparaît seulement lorsque la différence de chemin optique $\delta(x, y)$ est inférieure à la longueur de cohérence temporelle de la source lumineuse (voir Section 1.1.1). La reconstruction de hauteur relative de l'objet est basée sur l'extraction de l'enveloppe des franges $|\gamma(\delta)|$ (voir Équation 1.17) via un balayage axiale par un système piézo-électrique (voir Figure 1.10). On appelle communément cette technique, l'interférométrie à balayage de cohérence (de l'anglais, *coherence scanning interferometry*), bien qu'une multitude de nominations lui soit attribuée [125].

Plusieurs algorithmes furent implémentés afin de cartographier la distribution des hauteurs relatives de l'objet [129, 130]. Le plus basique repose sur l'estimation de la position axiale de la frange centrale de l'interférogramme (lorsque le contraste d'interférence est à son maximum et la différence de chemin optique est nulle) par pixel [131, 132]. D'autres algorithmes plus performants furent développés, reposant sur différentes techniques de traitement de signal pour extraire l'enveloppe des franges, comme sur le centroid [133], la variance [134], la démodulation et filtrage [135, 136], la transformée de Fourier [137, 138], la méthode de la dérivé locale du signal d'interférence (ou FSA pour "Five Sample Adaptive") [139], la décomposition en ondelettes [140], l'approximation de Hilbert [141] ou l'opérateur d'énergie Teager Kaiser (TKEO) [142]. Les récentes avancées (par exemple, la précision des platines de déplacement, la puissance des algorithmes de traitement du signal et la stabilité des sources d'illumination) ont permis d'améliorer le rapport signal sur bruit de la microscopie interférométrique en lumière blanche [143], d'augmenter les cadences de mesures [144, 145] et de se passer du système de balayage axiale [146].

De nos jours, on retrouve des dispositifs basés sur la microscopie interférométrique

trique en lumière blanche dans de nombreuses applications [147] comme la caractérisation de MOEMS [148] ou la caractérisation ultra-précise de surface rugueuses [149]. On appelle ces instruments des profilomètres optiques et ont l'avantage d'être sans contact et de faire les mesures plein champ sur des profondeurs micrométriques avec une sensibilité d'environ 10 nanomètres. Une variante destinée cette fois-ci à l'imagerie biomédicale est apparue en 1988 [150] et a pris le nom de tomographie par cohérence optique (de l'anglais, *optical coherence tomography*) [151]. Il consiste à scruter en profondeur les couches d'un échantillon transparent avec une résolution axiale définie comme la largeur de l'enveloppe des franges [152].

### 1.2.4 Configurations interférométriques

L'interférométrie consiste en l'ajout d'un bras de référence à un système optique directe. En réflexion, le faisceau de référence connu est souvent issu d'une réflexion sur un miroir plan. En transmission, il s'agit d'une onde plane (non diffusée ou diffractée). L'architecture interférométrique dépend de la méthode de mesure (interférométrie à saut de phase, holographie digitale, interférométrie à lumière blanche), de la configuration (réflexion ou transmission), de la résolution et la sensibilité exigées, de l'encombrement, et de contraintes environnementales (bruits). En réflexion, les architectures les plus connues sont le Michelson (voir Figure 1.9), le Mirau et le Linnik. Une variante, l'interféromètre de Fizeau, est parfois utilisée par la société Zygo© pour ses systèmes d'observation à large champ de vue [153]. En transmission, l'architecture Mach-Zehnder est nécessaire. L'ajout d'objectifs de microscope dans les bras de l'interféromètre permet non seulement d'augmenter le pouvoir de résolution latérale de l'interférométrie [154], mais également de compactifier le système (voir Figure 1.11).

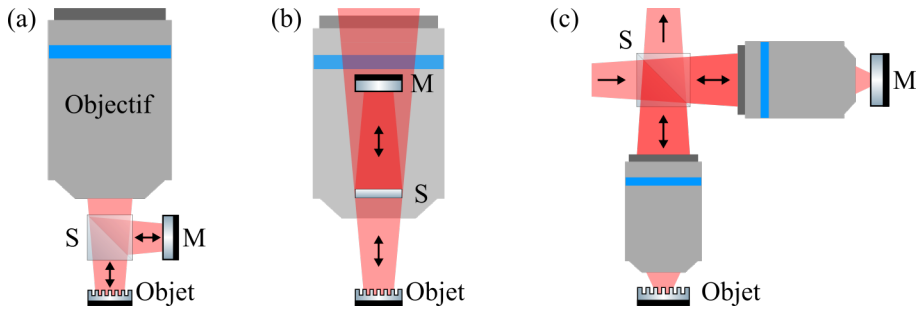



FIGURE 1.11 – Configurations de microscopes interférométriques communément employés pour des mesures en réflexion. (a) Michelson. (b) Mirau. (c) Linnik.

### Michelson

Les objectifs de Michelson se composent d'un objectif de microscope classique en dessous duquel une séparatrice (ou un cube séparateur) est introduit. Celui-ci génère les deux faisceaux de l'interféromètre. Le faisceau transmis est le faisceau objet et celui réfléchit est le faisceau de référence qui comprend le miroir de référence. La séparatrice combine également les deux faisceaux rétro-réfléchis qui sont ensuite collectés par l'objectif. Lorsque la différence de chemin optique est correctement ajustée entre les deux faisceaux, l'objectif transmet une figure d'interférence qui sera finalement analysée. Cette architecture est réalisable lorsque la distance de travail de l'objectif est suffisamment importante (au moins supérieur à la taille du cube séparateur). Cela restreint donc l'ouverture numérique et donc le pouvoir de résolution (voir Section 1.1.1). De plus, le facteur de grandissement de ce type d'objectif est limité ($< \times 10$). Ces contraintes restreignent son utilisation dans les systèmes commerciaux [155].

### Mirau

L'objectif de Mirau est une architecture dérivée du Michelson [132, 156] puisqu'on retrouve l'objectif de microscope, la séparatrice et le miroir de référence. Mais dans ce cas, les composants sont alignés avec l'axe optique (et non pas déportés comme dans le Michelson). Le principe reste le même car la séparatrice divise en deux le faisceau incident et combine les deux faisceaux objet et de référence. De part sa compacité [157], sa stabilité et ses performances (grandissement compris entre $\times 10$ et $\times 100$), cette architecture est de nos jours très répandue dans les systèmes commerciaux pour la caractérisation de micro-composants [158] ou la tomographie par cohérence optique [159].

### Linnik

Le microscope interférométrique de Linnik tire profit de l'architecture de Michelson. Dans ce cas, le faisceau incident, dans un premier temps, est divisé en deux par la séparatrice, puis passe au travers de deux objectifs de microscope identiques. L'un des objectifs collecte la lumière réfléchie par le miroir de référence, le second collecte la lumière diffractée par l'objet. La séparatrice combine finalement les deux faisceaux pour former la figure d'interférence. Ce cas présente un avantage d'offrir des ouvertures numériques très grandes (ON $> 0.7$ dans l'air et en immersion [160]) donc un pouvoir de résolution élevé. Cependant, de part sa complexité à réaliser et à aligner, cette architecture est utilisée plutôt en recherche [155].

#### Mach-Zehnder

Non illustrée dans la figure 1.11, l'architecture interférométrique de Mach-Zehnder est généralement utilisée en transmission, et principalement en microscopie holographique digitale [120] pour l'imagerie en immersion. Elle repose sur l'utilisation de deux séparatrices. L'une générant les faisceaux objet et de référence, l'autre recombinant les deux faisceaux. Dans le bras objet, l'échantillon transparent est illuminé et l'onde diffusée par l'échantillon est collectée. Le faisceau de référence ne subit aucune modification, si ce n'est une compensation de la dispersion. En sortie de la deuxième séparatrice, un détecteur collecte l'interférogramme.

### 1.2.5 Performances

En microscopie interférométrique, on utilise le terme de sensibilité axiale pour mettre en avant la performance axiale de reconstruction du système. On parle aussi de bruit axiale. Un instrument de mesure de phase offre une plus grande sensibilité ($\sigma \sim 1$ nm$/\sqrt{Hz}$) qu'un instrument à balayage de cohérence ($\sigma \sim 10$ nm$/\sqrt{Hz}$) [130]. Cependant, celle-ci peut être améliorée en moyennant les acquisitions ou en filtrant l'image (filtre médian 3×3) [127, 161]. Ces méthodes ne sont pas sans sacrifice du pouvoir de résolution latérale du système ou du temps d'acquisitions. Pour parfaire une mesure faiblement bruité en interférométrie à décalage de phase, une modulation sinusoïdale de la phase peut aussi être considéré [162]. L'enregistrement instantané des figures d'interférence en utilisant la polarisation de la lumière est une autre possibilité permettant de s'affranchir de tout mouvement mécanique [163].

La résolution latérale d'un microscope interférométrique est plus faible qu'un microscope directe (considérant les mêmes paramètres optiques et géométriques). Ceci s'explique par sa dépendance non seulement à la diffraction de la lumière, mais également à la capacité au système à reconstruire l'information de hauteur (intuitivement liée à la notion de sensibilité axiale) [164, 165]. Par définition, en microscopie topographique, un motif est résolue latéralement lorsque sa distribution de hauteur est reconstruite à au moins 50% [161]. D'autres critères de résolution ont été proposés comme la capacité au système à reconstruire un motif abrupte (par exemple, une marche). Une paroi abrupte dont l'angle est supérieur à l'ouverture numérique de collection du système ne peut être clairement résolue. Une forme arrondie de la paroi sera alors reconstruite résultant de la convolution du motif par la réponse impulsionnelle spatiale [154]. La société Zygo a utilisé l'optique de Fourier pour étudier les performances de la microscopie interférométrique [166].

Dans l'air, la résolution latérale peut donc atteindre le micromètre alors que la sensibilité axiale est de l'ordre de la dizaine de nanomètres. La résolution spatiale

apparaît alors inhomogène.

### 1.2.6 Microscopie interférométrique assistée par microsphères

Afin d'améliorer les performances latérales de la microscopie interférométrique, quatre équipes de recherche se sont penchées sur sa combinaison avec la microscopie par microsphères (voir Section 1.1.4) ; *MOSIS Laboratory* (Université du Connecticut, Prof. Bahram Javidi), *State Key Laboratory of Robotics* (Université de Hong Kong, Prof. Wen Jung Li), *CINSaT* (Université de Kassel, Prof. Peter Lehmann) et l'équipe IPP du Laboratoire ICube (Université de Strasbourg, Dr. Paul Mont-

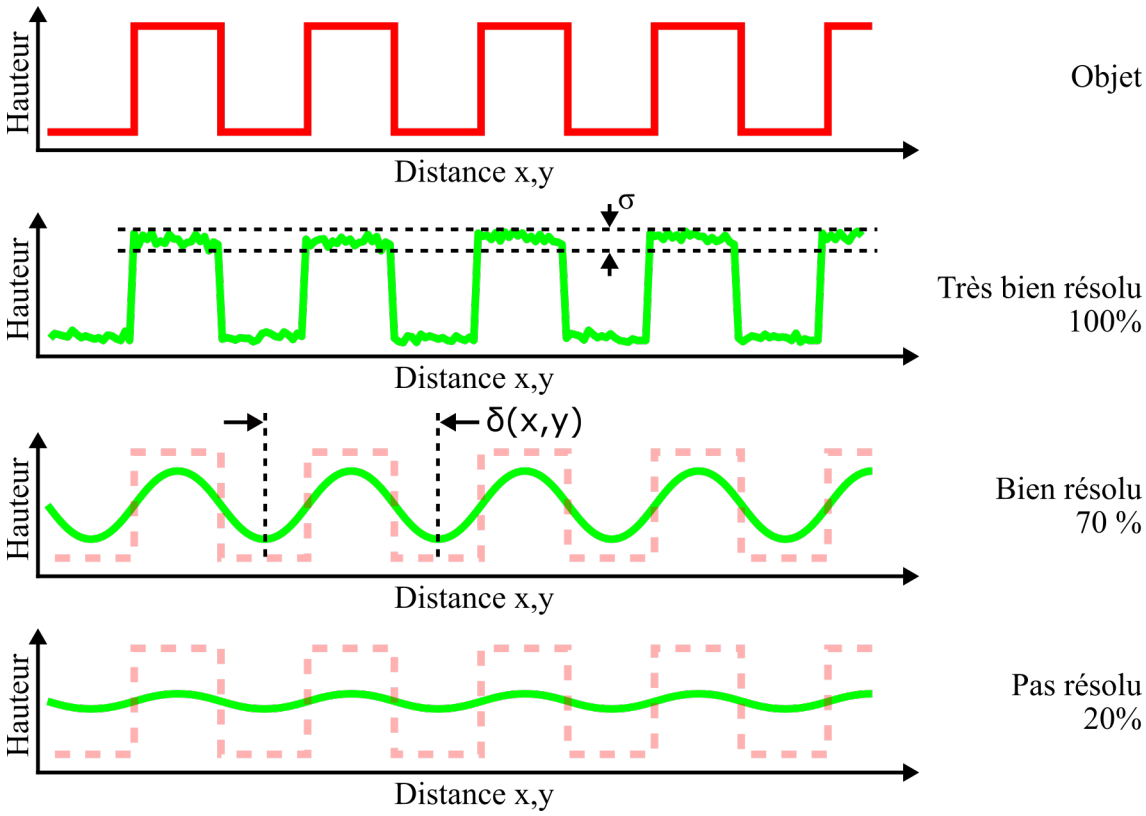



FIGURE 1.12 – Définitions du pouvoir de résolution en reconstruction topographique par le critère ISO 25178-600. L'objet est résolu si plus de la moitié de sa hauteur est retrouvée. La résolution latérale $\delta(x, y)$ est alors la période du motif. La sensibilité axiale $\sigma$ est l'écart type de la variation de hauteur lorsque l'objet est plan (souvent considérée comme une mesure de bruit).

gomery). Le principe consiste à introduire une microsphère de verre dans le bras objet et de superposer un interférogramme à l'image à travers la microsphère, pour ensuite reconstruire une topographie en dessous de la limite de diffraction [90].

L'holographie numérique fût la première technique d'interférométrie à être combinée à la microscopie par microsphères [167]. Avec une configuration interférométrique de Mach-Zehnder et des microsphères de 90 µm de diamètre, un réseau de période 1.2 µm fût reconstruit (sans microsphères, la résolution est de 1.38 µm). Une erreur sur la reconstruction de hauteur de 2% fût estimée. La grande ouverture numérique des microsphères en contact avec l'objet fût mise en avant pour définir le gain en résolution. Cependant, de part son illumination très cohérente (un laser) et sa collection de l'image réelle à travers des sphères de polystyrène, la résolution restait limitée et le contraste faible. Peu de temps après, l'idée d'illuminer l'objet avec une source faiblement cohérente spatialement fût réalisée [168]. Cela a permis de réduire le bruit de cohérence (avec génération de *speckle*) et d'en améliorer la résolution latérale. La résolution mesurée fût limitée à 730 nm à travers une objectif de Mirau et une microsphère de verre de silice. Mais l'erreur de reconstruction axiale fût supérieure à 50%. Ceci peut s'expliquer par l'oubli de considérer la grande ouverture numérique du système [169] et par les microsphères de grand diamètre qui offrent un plus faible pouvoir de résolution que les petites. De plus, le volume d'éléments biologiques a été reconstruit (voir Figure 1.13(a)). Une amélioration via une illumination oblique [170] et une version portable et compacte en configuration Mach-Zehnder [171] furent par la suite développées. Au sein du Laboratoire ICube (Équipe IPP), nous travaillons actuellement sur la combinaison de l'holographie numérique avec la microscopie par microsphères en immersion afin d'observer en temps réelle les comportements intra-cellulaires (projet SIBiC, SATT Conectus).

Depuis 2016, notre équipe travaille également sur l'augmentation du pouvoir de résolution de l'interférométrie à balayage de cohérence en utilisant les microsphères [112]. Une collaboration avec l'Université de Helsinki nous a permis de contribuer une simulation et une étude de la cohérence dans un interféromètre à lumière blanche en configuration de Mirau avec des microsphères en polymère (D = 11 µm) pour reconstruire les motifs de disques Blue-Ray (période des motifs de 320 nm) [172]. Parallèlement, l'équipe de Prof. W.J. Li travailla sur la même technique et publia ses travaux une année avant [173]. Des composants semi-conducteurs y sont reconstruits avec une grande exactitude (voir Figure 1.13(b)) et l'influence de l'illumination sur le contraste des franges est présentée. Cependant, la technique de balayage de cohérence demeure peu adaptée à travers les microsphères, la profondeur d'imagerie des microsphères étant inférieure au micromètre.

Nous nous sommes donc ensuite tournés vers l'interférométrie à décalage de

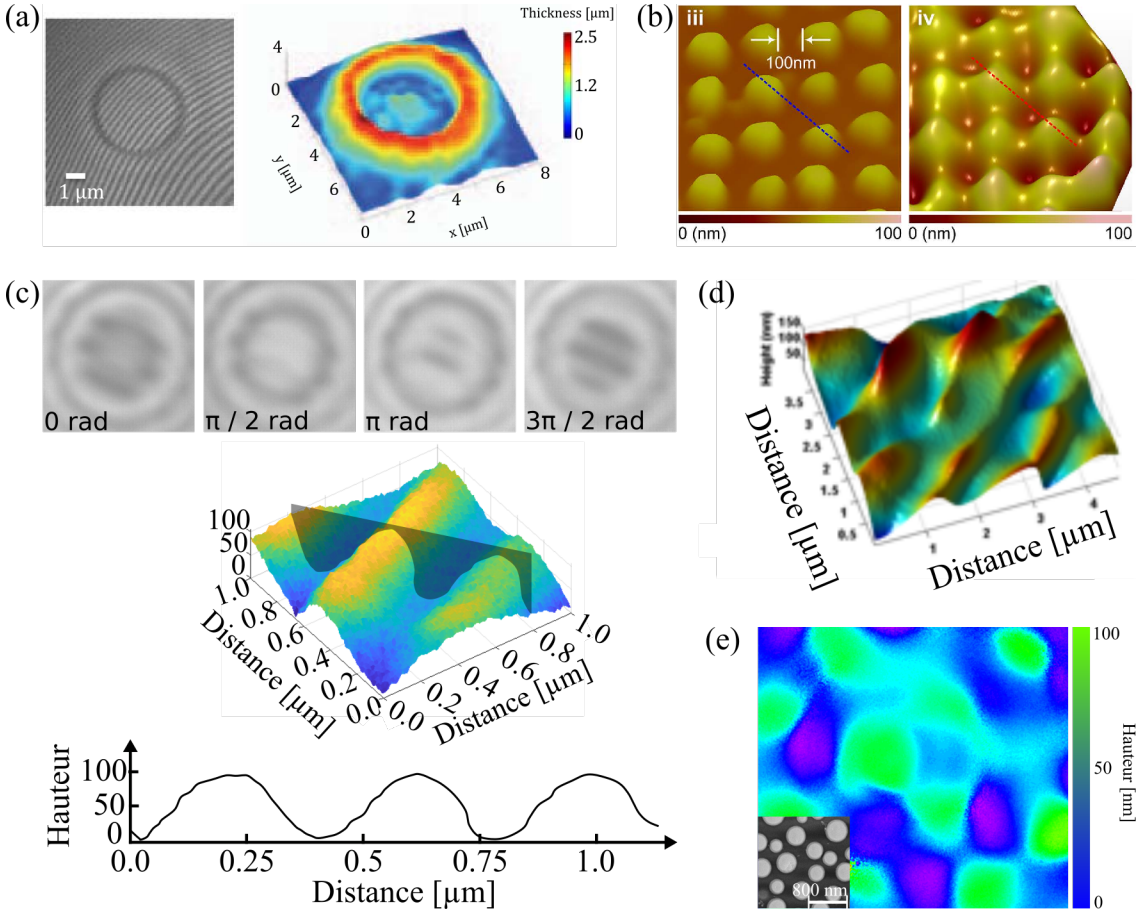



FIGURE 1.13 – Reconstructions tridimensionnelles d'objets par microscopie interférométrique assistée par microsphères. (a) Volume d'un globule rouge par holographie numérique. Figure extraite de la Réf. [168]. (b) Topographie de nano-plots par balayage de cohérence. Figure extraite de la Réf. [173]. (c) et (d) Reconstructions de topographies d'un réseau de période 400 nm et d'un surface texturée par laser par décalage de phase. Figures extraites des Réfs. [174] et [1]. (e) Reconstruction de topographie de nano-plots de 250 nm de diamètre en compensant les aberrations. Figure extraite de la Réf. [175].

phase. En effet, de part sa méthode de mesure (interférométrie dans l'axe) et sa possible utilisation de source large spectre, la mesure de phase peut opérer à travers les microsphères. L'association d'une configuration Linnik et de microsphères de verre sodocalcique ayant un diamètre de 25 µm a permis de reconstruire des topographies de surface de réseaux de 400 nm de période (voir Figure 1.13(c)) et de nano-plots de

200 nm de diamètre [176]. Dans ce cas, l'apport des microsphères permet non seulement d'augmenter la résolution, mais également d'éviter l'utilisation d'objectifs à fortes ouvertures numériques (ON $\sim$ 1,4) qui nécessitent des alignements complexes en configuration Linnik [177]. Dans la Réf. [176], l'effet des aberrations sphériques sur la distribution de hauteur retrouvée fût aussi démontré.

En effet, la forme fortement courbée des microsphères conduit à la génération d'aberrations sphériques. Les interférogrammes portent alors non seulement l'information de déphasage entre l'objet et la référence, mais également une composante circulaire (voir les interférogrammes de la Figure 1.13(c)). En pratique, cela nécessite donc le recourt à un traitement numérique du signal de phase retrouvé en appliquant un ajustement mathématique à deux dimensions (de l'anglais, *2D fitting*). Le but étant de retirer les basses fréquences correspondant aux aberrations sphériques. En 2020, l'équipe IPP a développé une technique de compensation des aberrations sphériques en ajoutant une microsphère similaire dans le bras de référence [175]. La reconstruction de phase ne requiert donc plus de traitements numériques coûteux en temps. de plus, les surfaces sont reconstruites avec une grande exactitude et une sensibilité d'environ 5 nm (voir Figure 1.13(e)).

Le chapitre 3 reporte une étude numérique du comportement de la phase lorsque les motifs ont des périodes sub-longueur d'onde. En effet, à cette échelle, la phase ne se comporte pas de manière linéaire, influençant donc les mesures retrouvées en microscopie interférométrique par microsphères.

## 1.3 Conclusion

La diffraction de la lumière gouverne le pouvoir de résolution en microscopie optique. Les motifs d'un objet ayant une fréquence spatiale plus grande que environ 300 nm dans l'air sont donc non observables. Les performances de la microscopie interférométrique se retrouve non seulement également confronter à cette limite physique, mais également à sa capacité à retrouver une information de phase. Les résolutions spatiales sont alors très inhomogènes et peuvent avoir un rapport d'aspect de 1 µm (transverse) pour 10 nm (axiale). Ces dernières années, des techniques d'imagerie ont été développées avec succès afin de briser la limite de diffraction. Elles ont permis d'atteindre des résolutions allant de la centaine de nanomètres (par exemple, en illumination structurée) à la dizaine de nanomètres (par exemple, en imagerie fonctionnelle). D'autres techniques ont été mises en oeuvre afin de collecter les ondes évanescentes (contrairement à la microscopie optique classique qui considère des ondes propagatives), comme la microscopie optique en champ proche et les lentilles à indice de réfraction négatif. Mais ces techniques d'imagerie sub-diffractive

restent difficiles à combiner avec la microscopie interférométrique. En 2011, Wang *et al.* ont révélé expérimentalement la capacité des microsphères à dépasser la limite de diffraction ($\sim$ 100 nm dans l'air) tout en étant en plein champ et ne nécessitant pas de marqueurs. Cependant, le phénomène physique qui se cache derrière la résolution sub-diffractive en microscopie assistée par microsphères ne fût pas clairement explicitée. Par la suite, notre équipe a combiné avec succès la microscopie assistée par microsphères avec l'interférométrie à décalage de phase et des motifs sub-longueur d'onde ont été reconstruits.

La première partie de mon travail de doctorat reposait donc sur la démonstration de ce phénomène. Pour cela, l'hypothèse de la collection et la conversion des ondes évanescentes par les microsphères fût faite de part leur mode de travail, en contact ou proche de l'objet à observer. Le chapitre 2 reporte des simulations rigoureuses qui ont permis de démontrer le rôle des ondes évanescentes dans le pouvoir de résolution à travers les microsphères.

La deuxième partie de mon travail de doctorat, décrite dans le chapitre 3, consistait à étudier numériquement le comportement de la phase en imagerie sub-longueur d'onde. En effet, en microscopie interférométrique assistée par microsphères, l'information de hauteur de l'objet retrouvée via la relation linéaire entre la phase et la différence de chemin optique s'avère obsolète à cette échelle.

*Pour atteindre la vérité, il faut une fois dans la vie se défaire de toutes les opinions qu'on a reçues, et reconstruire de nouveau tout le système de ses connaissances, René Descartes*

# Chapitre 2

# Rôle des ondes évanescentes en microscopie optique assistée par microsphères

Un microscope optique classique collecte des ondes dites propagatives, c'est-à-dire se propagent sans atténuation dans un milieu homogène et linéaire. La résolution est alors limitée par la diffraction de la lumière. Des ondes ayant de grandes fréquences spatiales (période spatiale inférieure à $\lambda/2$) restent cependant localisées proches de la surface. On dit qu'elles sont évanescentes car leur intensité décroît exponentiellement quand on s'éloigne de l'objet. Elles ne transportent pas d'énergie dans la direction perpendiculaire à l'échantillon. Pour les observer et les collecter, il est alors nécessaire de venir les perturber au plus proche de la surface de l'objet à une distance inférieure à la longueur d'onde de la source d'illumination (comme en microscopie optique à champ proche).

## 2.1 Résolution en microscopie assistée par microsphères - Hypothèses

En 2011, Wang *et al.* ont révélé expérimentalement la capacité des microsphères à résoudre des motifs sous la limite de diffraction [6]. Malgré de nombreuses tentatives, le phénomène physique à l'origine de la résolution sub-diffractive n'est jusque-là pas clairement compris et explicité [178]. Comme nous allons le détailler dans ce chapitre, dans un premier temps, bon nombre de communications scientifiques ont relaté la réciprocité entre le jet photonique et la réponse impulsionnelle des microsphères. Mais, cette analogie fût mise de côté car la résolution expérimentalement constatée

à travers une micrsophère est près de deux fois inférieures à la largeur du jet photonique correspondant. La collection des ondes évanescentes par la microsphère fût ensuite suggérée en observant une diminution de la résolution lorsque la distance entre la microsphère et l'échantillon augmente. En effet, il est préconisé de placer la microsphère en contact ou à moins d'une longueur d'onde de la surface de l'objet pour que le gain en résolution opère. En parallèle, la cohérence de la lumière (comme en microscopie classique, voir Sec. 1.1.1) et la génération de modes résonnants dans les microsphères furent étudiées pour définir leurs contributions dans le processus de la résolution.

Ce chapitre relate les différentes hypothèses envisagées de la résolution subdiffractive en microscopie assistée par microsphères ces dernières années, ainsi que les investigations réalisées pendant ma thèse sur cette question. Les phénomènes physiques à travers les microsphères sont décrits puis comparés.

### 2.1.1 Jet photonique

La théorie de Lorentz-Mie permet de définir l'interaction entre une onde électromagnétique et une particule sphérique (ayant une taille $D$ comparable ou plus grande que la longueur d'onde $\lambda$) et de calculer rigoureusement le phénomène de diffraction [179]. En champ lointain ces particules sont connues pour diffuser la lumière. Au début des années 2000, Chen *et al.* ont mis en avant par FDTD un phénomène de concentration de la lumière en champ proche d'un cylindre diélectrique [55], le jet photonique (en anglais, *photonic jet* ou *nanojet*). Peu de temps après, Lecler *et al.* ont mis en évidence ce phénomène dans le cadre d'une microsphère diélectrique via une approche numérique rigoureuse en volume basées sur la théorie de Mie [56].

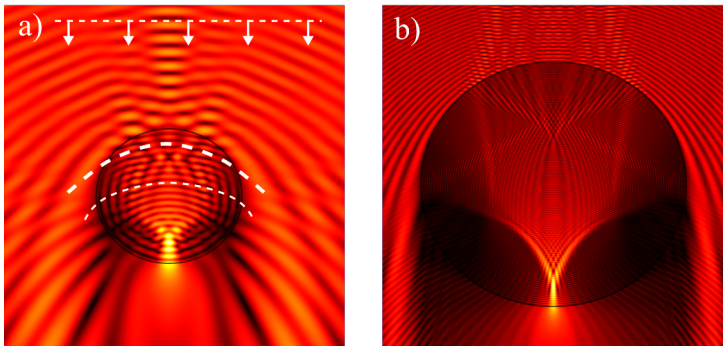



FIGURE 2.1 – Génération de jets photoniques par des microsphères. (a) D = 3.0 µm et $n_m$ = 1,5. (b) D = 20.0 µm et $n_m$ = 1,5.

Le jet photonique est un phénomène optique issu de la combinaison entre la diffraction de l'onde électromagnétique incidente (généralement une onde plane) par la particule et la réfraction au sein de la particule diélectrique. Ce phénomène particulier courbe le front de l'onde électromagnétique sur une dimension plus large que la particule elle-même et génère un faisceau focalisé propagatif ayant une largeur à mi-hauteur (en anglais, la *FWHM*) entre $\lambda/2$ et $\lambda/4$ dans l'air et $\lambda/5$ en immersion [180], c'est-à-dire sous la limite de diffraction classique (voir formule 1.1). Il correspond à une interférence constructive entre champ diffusé et champ incident. L'intensité de l'onde incidente peut être multipliée par un facteur supérieur à $\times 200$ à son maximum d'intensité dans le cas où la particule est sphérique [181]. Il existe d'autres formes de particules à travers lesquelles un jet photonique peut être généré[182], telles par exemple un cube [183] ou un embout façonné de fibre optique [184]. Cependant, le pouvoir focalisant pour ce type de forme est moindre. Plusieurs facteurs influencent les performances et la position du jet photonique comme la taille de la particule, la longueur d'onde incidente et les indices de réfaction de la particule et du milieu environnant (voir Figure 2.1). Ce phénomène de focalisation a été exploité dans de nombreuses applications [185] telles que la gravure laser sub-longueur d'onde [186, 187], l'ablation chirurgicale [188] et l'amélioration de la résolution en microscopie confocale [58]. Cependant, le jet photonique n'est pas à l'origine de l'imagerie sub-diffractive en microscopie assistée par microsphère [88, 87]. En effet, sa petite taille de l'ordre de $(\lambda/3)$ n'explique pas le pouvoir de résolution à travers une microsphère jusqu'à $(\lambda/6$ dans l'air).

### 2.1.2 Cohérence de la lumière

La cohérence de la lumière décrit la capacité de deux ondes à générer un signal d'interférence à une position axiale donnée (ou un instant donné) et une position transverse donnée. Si celles-ci sont en phase, à un facteur $2\pi$ prêt, une interférence constructive est alors générée. En revanche, si elles sont en opposition de phase, l'interférence sera destructive. On distingue donc deux notions de cohérence : la cohérence temporelle et la cohérence spatiale. Deux ondes monochromatiques oscillant à la même fréquence (ou même longueur d'onde) sont dites cohérentes temporellement. Un signal d'interférence est donc généré même avec une grande différence de marche entre les deux ondes. Cette distance est appelée longueur de cohérence (voir Équation 1.6). Un laser a généralement une longueur de cohérence de quelques mètres. Lorsque la largeur spectrale de l'illumination $\Delta\lambda$ est plus grande (par exemple, une LED), la longueur de cohérence est réduite et la figure d'interférence contrainte. La cohérence spatiale considère la distribution latérale du front d'onde comme un

ensemble de sources ponctuelles. Une source ponctuelle est fortement cohérente spatialement contrairement à une source étendue.

En imagerie directe, la cohérence de la lumière a une influence non-négligeable sur la qualité de l'image. En effet, une source fortement cohérente donnera lieu à des effets de diffraction élevés et à la génération de motifs d'interférences parasites, appelés tavelures (en anglais, *speckle*). Ces interférences sont dues aux réflections multiples sur les dioptres des composants optiques du système. Lorsque l'illumination est faiblement cohérente, l'observation est plus nette car le bruit de cohérence est réduit. De plus, la résolution est améliorée (voir section 1.1.1). On retrouve ces similitudes en microscopie assistée par microsphères.

Des études expérimentales ont permis de montrer les effets de la cohérence temporelle sur le contraste d'imagerie à travers des microsphères [95] et de faire de la microscopie holographique avec une source monochromatique et faiblement cohérente spatialement [168]. En simulation électromagnétique rigoureuse, cette tâche s'avère plus complexe et plus coûteuse en temps de calcul [189]. Les modèles de simulations sont donc généralement réalisés en 2D. Il a ainsi été montré par simulation que si deux sources ponctuelles séparées d'une distance sub-diffractive ne sont pas résolues à travers une microsphère quand elles sont en phase, en revanche, elles sont résolues lorsqu'elles sont en opposition de phase [87, 190]. Dans ce cas, c'est l'interférence destructive entre les deux points images qui contribue à les séparer. Ce déphasage peut provenir d'une différence de hauteur en surface de l'objet ou bien d'une différence de matériau, mais n'est pas toujours facilement justifiable.
La polarisation est parfois considérée comme la troisième cohérence de la lumière. Celle-ci influence également le contraste en imagerie directe et en imagerie par microsphères [85]. Elle repose sur l'interaction de la lumière avec l'objet comme le montre la figure 2.2.

Une étude plus approfondie portant sur les effets de la cohérence sur le contraste et sur le pouvoir de résolution serait souhaitable.

### 2.1.3 Ondes évanescentes

Dans un plan x-z, le champ électrique d'une onde monochromatique peut se décrire mathématiquement par son amplitude $A$ et sa phase $\phi$ dans lequel on retrouve son vecteur d'onde $\mathbf{k}$ et sa fréquence angulaire $\omega$. Le terme $\mathbf{r}$ est le vecteur position.

$$\mathbf{E}(\mathbf{r},t) = A\exp\left[i\phi\right] = A\exp\left[i(\mathbf{k}.\mathbf{r}-\omega t)\right] \tag{2.1}$$

L'unité imaginaire $i$ satisfait à la relation $i^2$ = -1. Lorsque l'onde est propagative, la norme du vecteur d'onde dans l'espace libre, c'est-à-dire le nombre d'onde, est réel

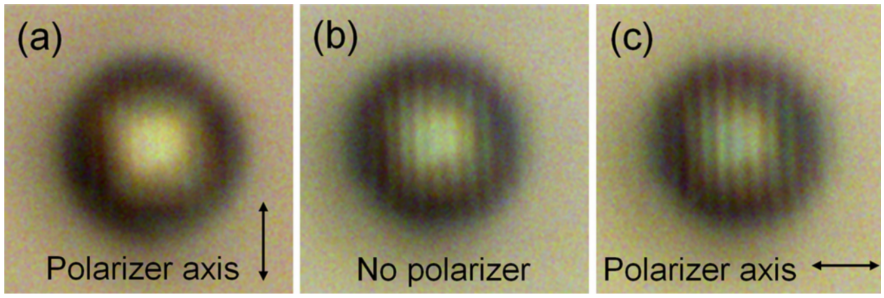



FIGURE 2.2 – Influence de la polarisation de la lumière en microscopie par microsphères. (a) Lorsque la polarisation est linéaire et parallèle aux motifs de l'objet. (b) Sans illumination polarisée. (c) Lorsque la polarisation est linéaire et perpendiculaire aux motifs de l'objet. La microsphère a un indice de réfraction de 1,9 et est immergée dans un liquide. Figure publiée Réf. [85].

($|\vec{\mathbf{k}}| = 2\pi/\lambda$). Supposons une onde électromagnétique se propageant dans un milieu homogène. Une autre famille de solutions possibles des équations de Maxwell est celle des ondes évanescentes. Ces ondes ont la caractéristique d'avoir une intensité localisée proche de la source lumineuse. En effet, contrairement aux ondes propagatives classiques, leurs champs électrique et magnétique ne se propagent pas suivant l'axe optique. Cela s'explique par le fait que leur nombre d'onde est complexe. Le terme de propagation de l'équation 2.1 peut s'écrire par la relation suivante dans le plan x-z.

$$|\mathbf{k}.\mathbf{r}| = |k_x.\mathbf{x} + k_z.\mathbf{z}| \quad \text{où} \quad |\mathbf{k}| \mapsto \mathbb{C} \tag{2.2}$$

Ces ondes évanescentes ont une autre particularité qui est de porter de grandes fréquences spatiales (c'est-à-dire de petites périodes). Plusieurs techniques utilisant les ondes évanescentes pour dépasser la limite de résolution classique ont été développées. Elles sont généralement appelées techniques de microscopie en champ proche. La section 1.1.3 résume le principe de quelques techniques dont le SNOM. D'autres techniques, basées par exemple sur les métamatériaux [191, 192], ont été proposées.

Depuis sa démonstration expérimentale en 2011 [6], de nombreuses questions subsistent autour de la microscopie assistée par microsphères :

- Quels phénomènes se cachent derrière la résolution sub-diffractive ?
- Les ondes évanescentes contribuent-elles à l'image ?
- Y-a-t'il collection de ces ondes par les microsphères ?

La section suivante étudie en détail le rôle des ondes évanescentes dans cette tech-

nique d'imagerie. En effet, mon travail de doctorat a consisté en partie à analyser le rôle d'un type d'onde électromagnétique, les ondes évanescentes et d'en déterminer son lien possible avec l'imagerie sub-diffractive à travers les microsphères. L'étude porte dans un premier temps sur la collection d'une onde évanescente par une microsphère puis sa conversion en onde propagative. Cette onde propagative peut alors ensuite être collectée par un microscope classique en champ lointain. Dans un deuxième temps, j'ai étudié l'aspect imageant à travers une microsphère en simulant des sources ponctuelles dans lesquels ne sont considérées que les composantes évanescentes (grandes fréquences spatiales). Ce travail a été valorisé dans un article de la revue *Photonics* [193].

## 2.2 Conversion et couplage des ondes évanescentes par microsphère

### 2.2.1 Modèle analytique

Rappelons une méthode classique pour générer une onde évanescente. Considérant la loi de réfraction de Snell-Descartes, une onde (plane dans notre cas) incidente à une interface (O, x, y) qui passe d'un milieu d'indice $n_{sub}$ et à un milieu ambiant $n_{amb}$ subit une réfraction et une réflexion. Le phaseur du champ électrique réfracté par cette interface s'écrit comme suit :

$$E(x,z) = A\exp\left[i(-k\sin\theta_T \times x + k\cos\theta_T \times z)\right] \tag{2.3}$$

où $A$ est l'amplitude (supposée ici constante) de l'onde. $k$ est la norme du vecteur d'onde $\mathbf{k}$ et $x$ et $z$ les coordonnées dans un repère cartésien. $\theta_T$ est l'angle de l'onde réfractée par rapport à la normale. Lorsque l'angle $\theta_i$ de l'onde incidente est supérieur à l'angle critique $\theta_c$ ($\theta_c = \arcsin(n_{amb}/n_{sub})$), l'onde est totalement réfléchie par l'interface et une onde évanescente est générée. On parle alors de réflexion totale interne [194, 195]. J'ai donc implémenté un modèle numérique reposant sur la réflexion totale afin de générer une onde évanescente à une interface diélectrique/air, comme le montre la figure 2.3. En considérant la formule d'Euler et la relation de Snell-Descartes, le terme $\cos\theta_T$ de la relation 2.3 s'écrit :

$$\begin{aligned} \cos\theta_T &= \sqrt{1-\sin^2\theta_T} \\ \cos\theta_T &= \sqrt{1-\left(\frac{n_{sub}}{n_{amb}}\right)^2\sin^2\theta_i} \end{aligned} \tag{2.4}$$

Lorsque l'angle de l'onde incidente $\theta_i$ est supérieur à $\theta_c$, ce terme devient complexe :

$$\cos\theta_T = -i\sqrt{\left(\frac{n_{sub}}{n_{amb}}\right)^2 \sin^2\theta_i - 1} \tag{2.5}$$

La relation 2.3 par conséquent peut se réécrire [194] :

$$E(x,z) = A\exp\left[-ik\sin\theta_T \times x\right]\exp\left[-k\sqrt{1-\left(\frac{n_{sub}}{n_{amb}}\right)^2 \sin^2\theta_i} \times n_{amb} \times z\right] \tag{2.6}$$

$$E(x,z) = A\ \exp\left[-ik\left(\frac{n_{sub}}{n_{amb}}\right)\sin\theta_i \times x\right]\exp\left(-\alpha z\right)$$

Avec

$$\alpha = k\sqrt{1-\left(\frac{n_{sub}}{n_{amb}}\right)^2 \sin^2\theta_i} \times n_{amb} \tag{2.7}$$

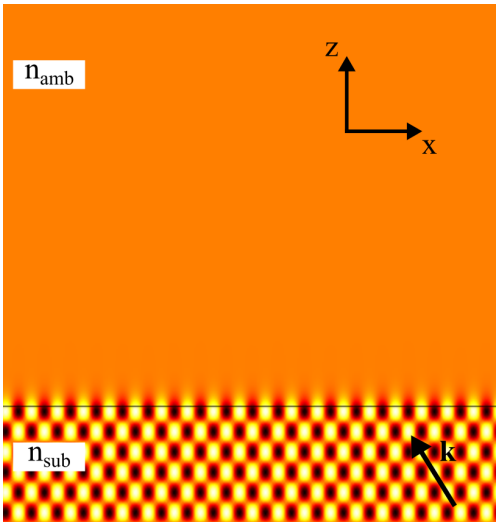



FIGURE 2.3 – Génération d'une onde évanescente à une interface diélectrique / air par réflexion totale interne. Le motif en damier dans le substrat diélectrique est la résultante des interférences entre l'onde incidente et l'onde réfléchie par l'interface.

Le premier terme exponentiel de la relation 2.7 complexe, représente la propagation de l'onde évanescente suivant l'axe x. L'onde évanescente est localisée sur le long de l'interface avec une grande fréquence spatiale ($k_x$) qui porte les détails les plus fins de dimensions inférieures à la demi-longueur d'onde $\lambda/2$. Le deuxième terme exponentiel, réel, montre que, en s'éloignant de l'interface, l'amplitude de l'onde évanescente diminue avec un facteur d'atténuation $\alpha$ pour tendre vers zéro quand z tend vers l'infini.

$$\alpha = \frac{2\pi}{\lambda_0}\sqrt{1-\left(\frac{n_{sub}}{n_{amb}}\right)^2 \sin^2\theta_i} \times n_{amb} \tag{2.8}$$

avec $\lambda_0$ la longueur d'onde de l'onde incidente en espace libre.
L'équation 2.7 décrit un champ évanescent qui se propage le long de l'axe des x mais décroît de façon exponentielle le long de l'axe des z dans le milieu moins réfringent. Un objectif de microscope seul (sans microsphère) ne pourrait donc rien collecter.

Pour comprendre le mécanisme d'interaction de la microsphère avec l'onde évanescente, un modèle numérique électromagnétique 2D est créé par la méthode des éléments finis sous le logiciel COMSOL [1]. Le modèle consiste en une interface entre un substrat diélectrique (par exemple, en verre) avec un indice de réfraction $n_{sub} = 1{,}5$ et l'air ($n_{amb} = 1{,}0$), le milieu ambiant de la microsphère (voir Figure 2.3). Une onde incidente plane oblique de polarisation TE et de longueur d'onde de $\lambda_0/n_{sub}$ ($\lambda_0 = 600$ nm), illumine l'interface et permet de générer l'onde évanescente par réflexion totale interne. Les conditions aux limites numériques des bords gauche et droite sont des conditions périodiques. En haut et en bas du modèle, des conditions aux limites de diffusion sont utilisées. L'angle d'incidence de l'onde d'excitation $\theta_i$ est de 1 rad = 57,29°, ce qui est supérieur à l'angle critique ($\theta_c = 0.73$ rad = 41,83°, dans notre cas). Quand le milieu ambiant est de l'air ($n_{amb} = 1{,}0$), les composantes du vecteur d'onde de l'onde évanescente deviennent :

$$\mathbf{k} = \begin{cases} k_0\ n_{sub}\ \sin\theta_i & \text{axe x} \\ i.k_0\ \sqrt{n_{sub}^2 \sin^2\theta_i - 1} & \text{axe z} \end{cases} \tag{2.9}$$

Ensuite, la microsphère de verre, avec un indice de réfraction $n_{sph}$ de 1,5 et un diamètre D, est placée en contact avec l'interface.

Pour étudier la collection des ondes évanescentes en microscopie assistée par microsphère, des microsphères de différents diamètres ont été utilisées. La figure 2.4 montre la collection naturelle d'une onde évanescente par des microsphères de 3 µm

1. COMSOL Multiphysics v5.3, module Wave Optics, COMSOL Inc

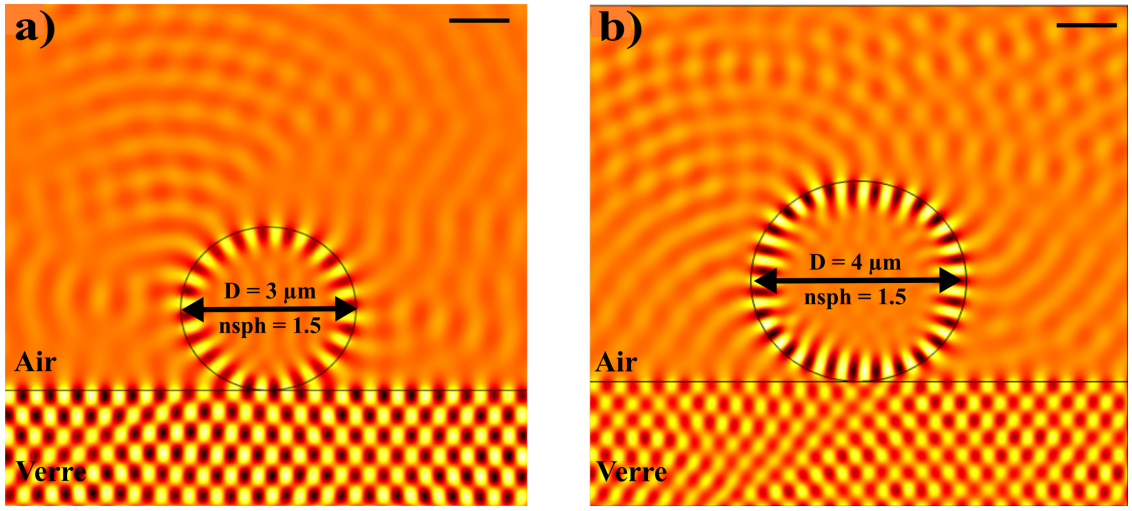



FIGURE 2.4 – Couplage d'une onde évanescente de surface avec une microsphère de diamètre D (a) 3 µm et (b) 4 µm. Des modes de galerie sont observables en périphérie des microsphères. $\lambda_0 = 600$ nm, $n_{sub} = 1{,}5$ et $n_{sph} = 1{,}5$. Figures publiées Réfs. [174, 193].

de diamètre et de 4 µm de diamètre. En absence de microsphère, l'onde évanescente se propagerait le long de l'interface diélectrique - air sur l'axe x. Cependant, en introduisant la microsphère de verre, l'onde évanescente est non seulement couplée dans la sphère, mais également propagée en champ lointain. Dans les figures 2.4(a) et 2.4(b), on remarque aussi la génération de modes de galerie (de l'anglais, *whispering gallery modes*, WGM) à l'intérieur des microsphères. De plus, on remarque que les ondes propagatives émergeant de la microsphère ne sont pas transmises de manière symétrique, mais de points spécifiques sur son périmètre. Cela est dû au fait que l'interaction de la sphère avec la surface brise la symétrie de révolution du WGM [196]. Ces simulations illustrent le processus de collection d'ondes évanescentes converties en puissance rayonnée (comme dans le SNOM).

### 2.2.2 Influence de la phase de l'onde d'incidence

Nous avons montré le couplage des ondes évanescentes de surface avec les WGM de la sphère. En appliquant un offset de $\pi$ à la phase initiale, comme le montre la figure 2.5(b), les profiles radiaux du champ électrique des WGM sont alors déphasés de $\pi$. Le long du bord de la microsphère, la période du champ électrique du WGM est égale à 475 nm, correspondant à la période de l'onde évanescente de surface

suivant l'axe $x$ ($\lambda_0/[n_{sub}\sin\theta_i]$). À la position radiale de 1.4 µm, la période du WGM est plus petite (environ 445 nm) et l'amplitude crête du WGM est maximale, de 3,7 V/m quelque soit la phase initiale et elle n'est pas affectée par le retard de phase.

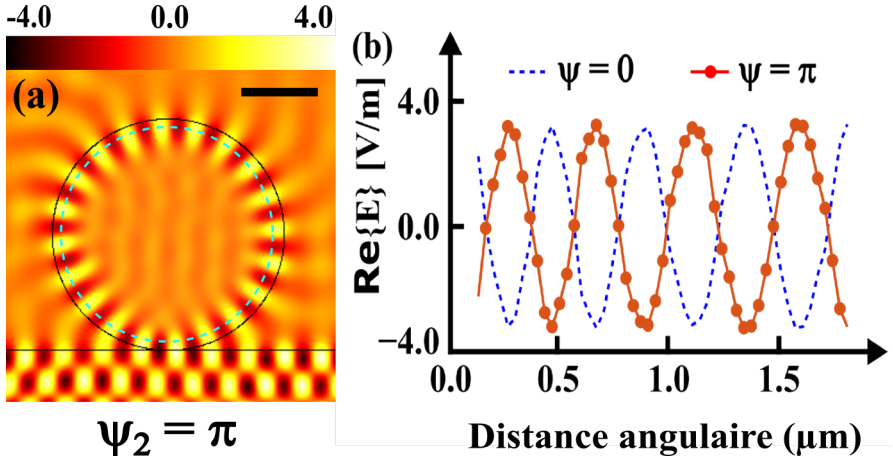



FIGURE 2.5 – Influence de la phase de l'onde incidente sur les WGM. (a) Partie réelle du champ électrique lorsque l'onde incidente est déphasée de $\pi$ par rapport à la phase initiale 0 rad. La barre d'échelle noire représente 1 µm. (b) Deux profils radiaux de la partie réelle du champ électrique tracés à l'intérieur de la microsphère à une position radiale de 1.4 µm (cercle pointillé dans la figure (a)) en fonction de la position angulaire dans la microsphère. D = 3 µm. $\lambda_0$ = 600 nm et $n_{sub}$ = 1,5. Figures publiées Réf. [193].

Dans la suite de l'étude, plusieurs paramètres géométriques ont été examinés comme la distance entre l'interface et la microsphère et le diamètre de la microsphère. Des paramètres optiques ont également été étudiés, comme l'indice de réfraction de la microsphère, l'angle d'incidence, la longueur d'onde et la phase de l'onde incidente.

### 2.2.3 Influence de la distance entre la microsphère et l'interface

Cette section présente l'étude effectuée par notre modèle, concernant l'influence de la distance entre l'interface et la microsphère. La figure 2.6 illustre l'efficacité d'une microsphère de 3 µm de diamètre à collecter des ondes évanescentes en fonction de sa position au-dessus de l'interface. La variation de l'écart entre la microsphère et l'interface diélectrique-air permet non seulement de démontrer le couplage des ondes évanescentes par la microsphère, mais aussi de prévoir la plus grande distance

possible permettant le couplage, ce qui permet d'effectuer des mesures sans contact en microscopie assistée par microsphère. En effet, l'amplitude maximale du champ électrique dans la microsphère qui est représentée, diminue de manière exponentielle en fonction de la distance. Dans ce cas, le couplage de l'onde évanescente par la microsphère apparait faible au-delà d'une distance z = 400 nm. Dans la figure 2.6(b), la puissance rayonnée relative en champ lointain a été estimée en considérant la puissance incidente $P_0$ à travers le rayon de la zone d'interaction estimée [97], c'est-

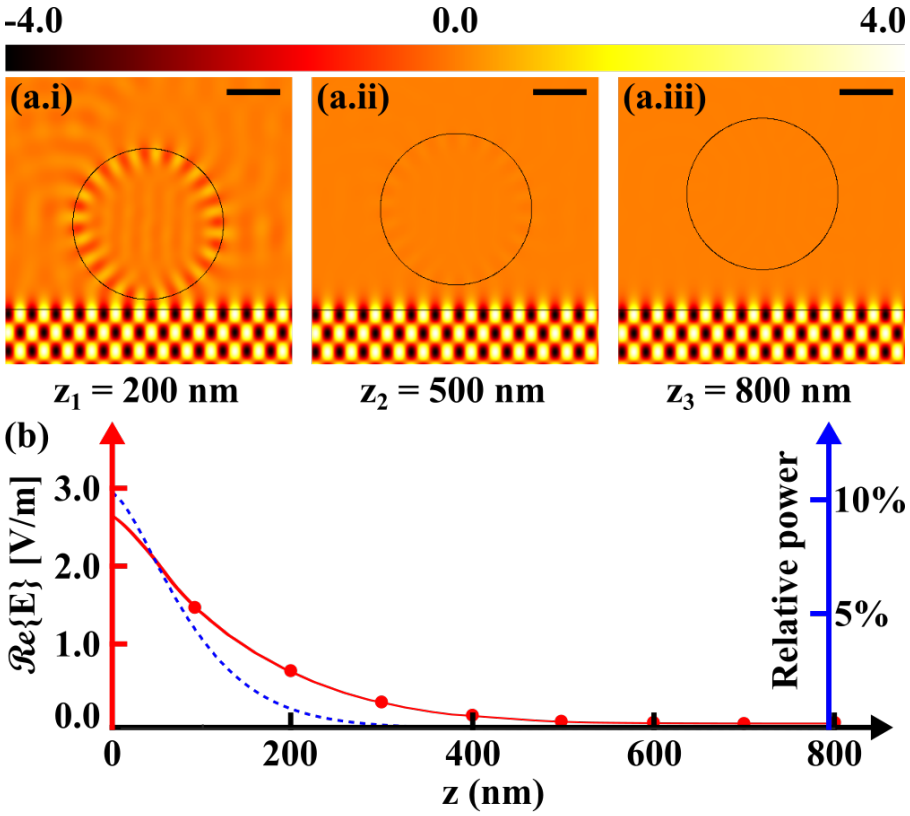



FIGURE 2.6 – Efficacité de la collection d'une onde évanescente par une microsphère de verre en fonction de la distance $z$ avec la surface. (a.i), (a.ii) et (a.iii) parties réelles du champ électrique lorsque la microsphère est respectivement positionnée à une distance de 200 nm, 500 nm et 800 nm de l'interface. Les barres d'échelle représentent 1 µm. (b) Amplitude du champ électrique du WGM le long du bord de la microsphère et puissance relative transmise par la microsphère dans le champ lointain en fonction de la distance $z$. D = 3 µm. $\lambda_0$ = 600 nm et $n_{sub}$ = 1,5. Figures publiées Réf. [193].

à-dire $\sqrt{2\lambda_0 h}$ avec h, la profondeur de pénétration mesurant environ 125 nm, dans notre configuration. La puissance optique émanant de la microsphère n'est pas nulle. Elle diminue quand la distance sphère-surface augmente (par exemple, 0,9% $P_0$ à z = 200 nm et 0,1% $P_0$ à z = 400 nm).

### 2.2.4 Influence du diamètre de la microsphère

Une légère variation du diamètre de la microsphère modifie évidement la distribution des modes de galerie "WGM" à l'intérieur de la microsphère. La figure 2.7 montre les variations du maximum de l'amplitude des WGM dans la microsphère lorsque le diamètre varie de 3 µm à 3.3 µm par un pas de 0.01 µm. Elle fait apparaître des résonances périodiques comme lorsque le diamètre de la microsphère mesure 3.03 µm et 3.17 µm.

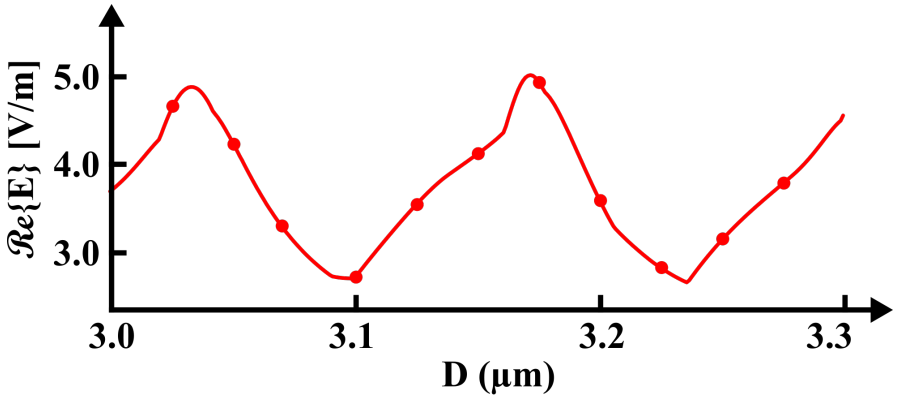



FIGURE 2.7 – Amplitude crête du champ électrique de la WGM le long du bord de la microsphère en fonction du diamètre de la microsphère. $\lambda_0 = 600$ nm et $n_{sub} = 1{,}5$. Figure publiée Réf. [193].

### 2.2.5 Influence de la période de l'onde évanescente

La figure 2.8 met en avant la facilité des microsphères à transformer l'onde évanescente en onde propagative lorsque la période de l'onde évanescente passe de 475 nm à 240 nm en passant par 355 nm. Pour ça, l'indice de réfraction du substrat diélectrique $n_{sub}$ est modifié avec des valeurs ne pouvant pas nécessairement être atteintes en réalité. Lorsqu'on augmente l'indice de réfraction du substrat $n_{sub}$, les périodes des WGM deviennent plus petites. La figure 2.8 montre que, dans ces trois

cas, lorsque la période est réduite, la capacité de conversion s'affaiblie.

Les microsphères de petit diamètre (D $<$ 10 µm) sont difficiles à manipuler, à cause des forces de surfaces (principalement électrostatiques) nettement plus importantes que la force de gravité. En microscopie assistée par microsphères, les microsphères de plus gros diamètre (D $>$ 20 µm) sont donc souvent plus adaptées pour l'expérimental malgré le fait qu'elles aient un moins bon pouvoir de résolution car elles offrent un plus grand champ de vue et sont plus faciles à manipuler. Un compromis entre champ de vue, manipulation et résolution est donc à considérer. La simulation de sphère de 20 $\mu m$ est considérée dans la partie suivante.

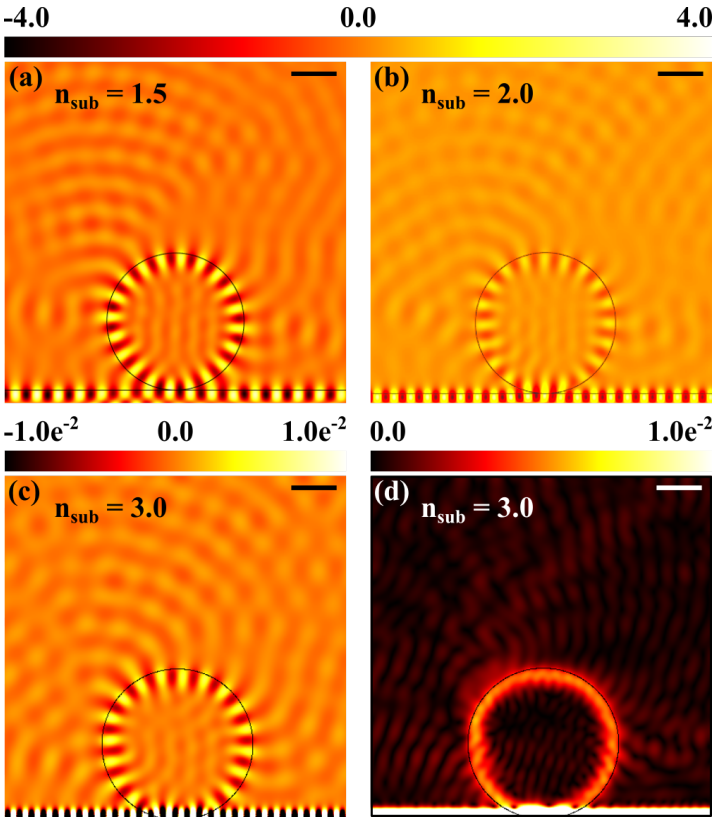



FIGURE 2.8 – Conversion d'une onde évanescente en une onde propagative par une microsphère de verre. Parties réelles du champ électrique lorsque (a) $n_{sub}$ = 1,5, (b) $n_{sub}$ = 2,0 et (c) $n_{sub}$ = 3,0. (d) Valeur absolue du champ électrique lorsque $n_{sub}$ = 3,0. Les barres d'échelle représentent 1 µm. D = 3 µm. $\lambda_0$ = 600 nm. Figures publiées Réf. [193].

### 2.2.6 Conversion et couplage des ondes évanescentes par microsphère de 20 µm

Les études numériques de différents paramètres ont également été réalisés avec des microsphères plus grandes (D = 20 µm). Malgré une efficacité de conversion plus faible, on remarque le même phénomène de collection et conversion qu'avec des microsphères de 3 µm (voir Figure 2.9(a)). La figure 2.9(b) montre l'efficacité du couplage de l'onde évanescente de la microsphère en fonction de son espacement par rapport à l'interface. Une onde d'incidence symétrique ($\theta_i$ = -1 rad) a en plus été ajoutée afin de générer un état stationnaire et aider à comparer les différents effets. La courbe bleue montre la variation de l'efficacité du couplage de l'onde évanescente dans le cas d'un seul côté d'illumination (comme dans les précédentes simulations). La courbe rouge montre la variation de l'efficacité du couplage de l'onde évanescente dans le cas d'une excitation symétrique.

La courbe bleue représente le maximum du champ électrique dans la microsphère pour une bille de 20 µm en fonction de sa distance avec l'interface. Ce n'est plus une simple exponentielle décroissance. Elle a une forme en cloche à laquelle s'ajoutent des pics très étroits. La courbe en cloche augmente jusqu'à une valeur maximale quand la sphère est à environ 177 nm de l'interface, similaire au maxima de la courbe en rouge. Le champ dans la sphère pour ce cas est illustré dans les figures 2.10 (e) et (f). Puis la conversion de l'onde évanescente en champ lointain décroît vers zéro quand cette distance augmente. Concernant le maximum de couplage, il est vraisemblable-

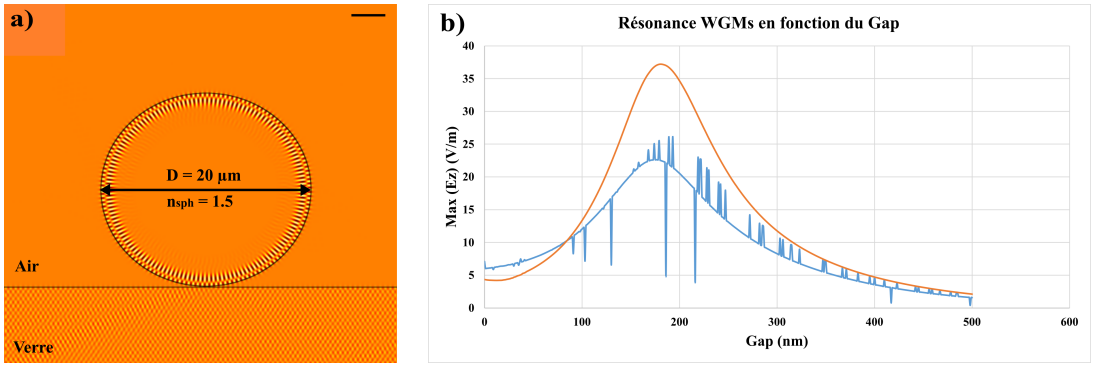



FIGURE 2.9 – Efficacité de conversion d'une grande microsphère. (a) Partie réelle du champ électrique et (b) Maximum du champ électrique dans la microsphère en fonction de la distance entre la microsphère et l'interface (courbe bleu : excitation dans un seul sens, courbe rouge : deux excitations symétriques). D = 20 µm. $\lambda_0$ = 600 nm et $n_{sub}$ = 1,5.

ment dû à un effet de Fabry-Pérot (aller-retour d'ondes) entre le premier dioptre de la microsphère et l'interface). Lorsque l'espace entre l'interface et la microsphère augmente, le phénomène est vite atténué par la décroissance de l'onde évanescente. On observe une résonance large (courbe en cloche) due à un faible taux de réflexion, correspondant à un Fabry-Pérot avec un faible facteur de qualité.

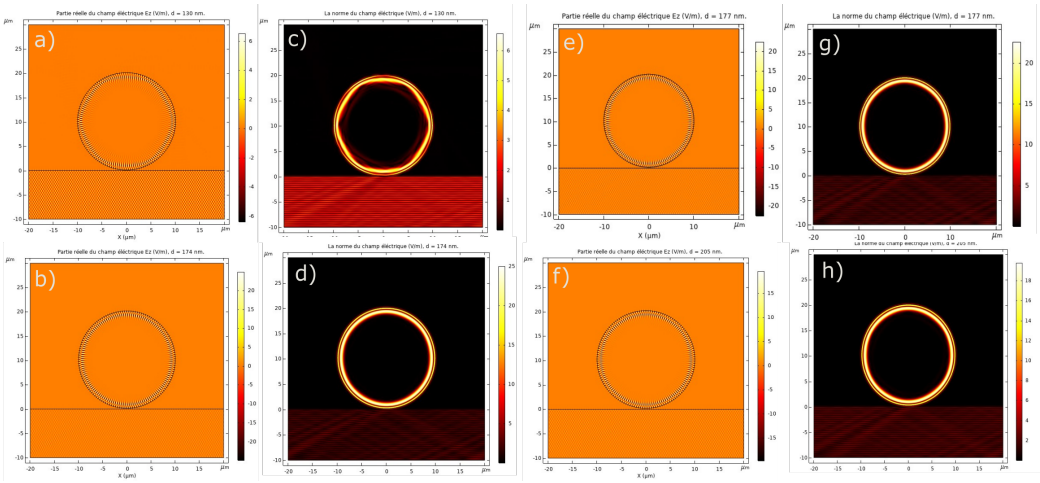



FIGURE 2.10 – Influence de la distance interface-microsphère de 20 µm sur le champ électrique dans le cas d'une seule excitation. Parties réelles du champ électrique lorsque la microsphère est respectivement à une distance de (a) 130 nm (anti-résonance), (b) 174 nm (résonance), (e) 177 nm (max courbe en cloche) et (f) 205 nm (point quelconque). (c), (d), (g) et (h) sont les normes du champ électrique. $\lambda_0 = 600$ nm et $n_{sub} = 1{,}5$.

Dans le cas d'une seule excitation, les petits pics étroits qui viennent s'ajouter à la courbe en cloche, correspondent vraisemblablement à des résonances de WGM, par exemple, à une distance de 174 nm. Les résonances de WGM sont connues pour être très étroites. Le champ électrique et sa norme dans la sphère pour ce cas sont illustrés dans les figures 2.10 (b) et (d). Les résonances de WGM dans les microsphères sont concevables car elles sont dues à des accords de phase entre l'onde ayant fait un tour dans la sphère et l'onde évanescente incidente dans la microsphère. En d'autres termes, les pics étroits sont la conséquence d'un déphasage de $p.2\pi$ (p est un entier) entre ces ondes couplés (c'est-à-dire des interférences constructives). Il y a aussi des pics vers le bas, que l'on serait tenté de qualifier d'anti-résonances, par exemple, à 130 nm. Le champ électrique dans la sphère et sa norme pour ce cas sont illustrés dans les figures 2.10 (a) et (c). Un battement est visible montrant qu'il pourrait y avoir dans ce cas une superposition de deux WGM. Dans le cas de deux

excitations symétriques, les résonances et les anti-résonances n'apparaissent plus. Leurs disparition pose question.

### 2.2.7 Démonstration expérimentale du phénomène

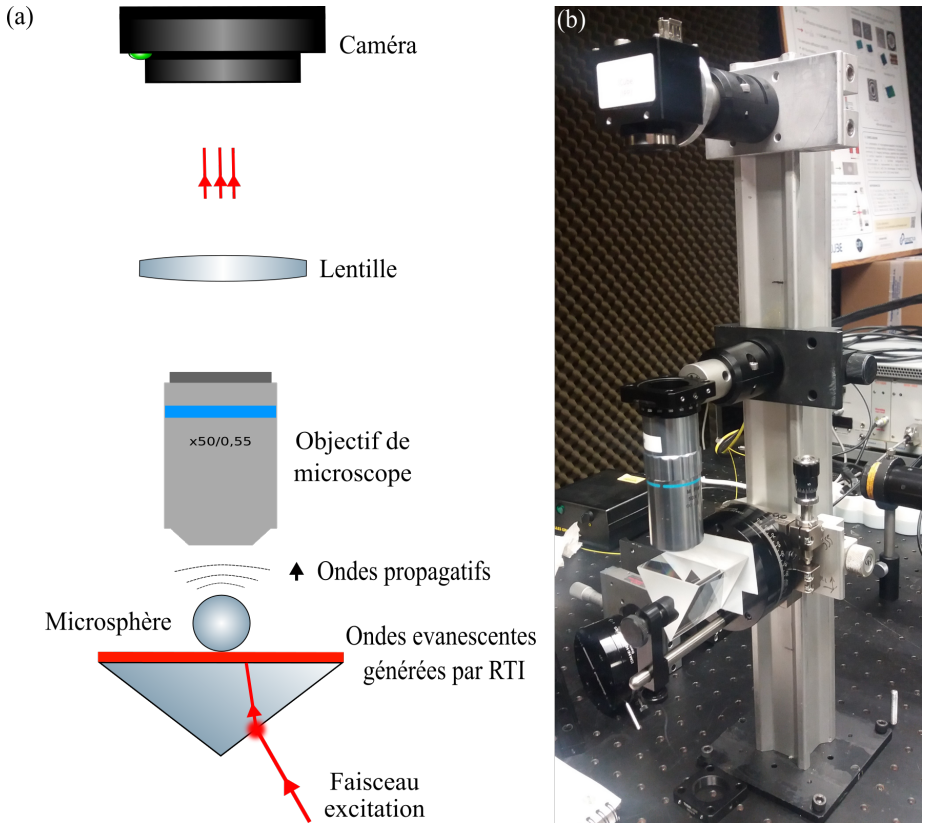



FIGURE 2.11 – Montage expérimental de démonstration du phénomène de conversion des ondes évanescentes en ondes propagatives. (a) Schéma ; (b) Photographie du montage expérimental.

Afin de confirmer les études numériques sur le couplage par des microsphères des ondes évanescentes et leur conversion en champ lointain, nous avons réalisé avec l'aide de Stéphane Perrin un montage expérimental. Ce montage est destiné à la validation des résultats numériques obtenus. Le schéma ainsi qu'une photo du montage sont présentés dans la figure 2.11. Il comprend une partie illumination et génération d'onde évanescente par réflection totale interne et une partie imagerie en champ lointain. Deux sources de lumière collimatées ont été utilisées : un laser He-Ne

à $\lambda = 633$ nm et une diode super luminescente à $\lambda_m = 450$ nm. La réflexion totale interne est réalisée à l'aide d'un prisme d'indice de réfraction 1,5 pour qu'une onde évanescente soit générée sur la surface haute du prisme. Des microsphères de verre sont ensuite déposées sur cette surface haute du prisme. Un objectif de microscope (Mitutoyo, $\times 50$, NA = 0,55) collecte ensuite les ondes transmises par la microsphère et les image sur une caméra (Prosilica GC1380, Pixels (H x V) :1360 x 1024) via une lentille tube. Trois gammes de microsphères ont été testées : 3.9 µm (en verre de silice), 6.1 µm (en verre sodocalcique) et 30 µm (en verre sodocalcique).

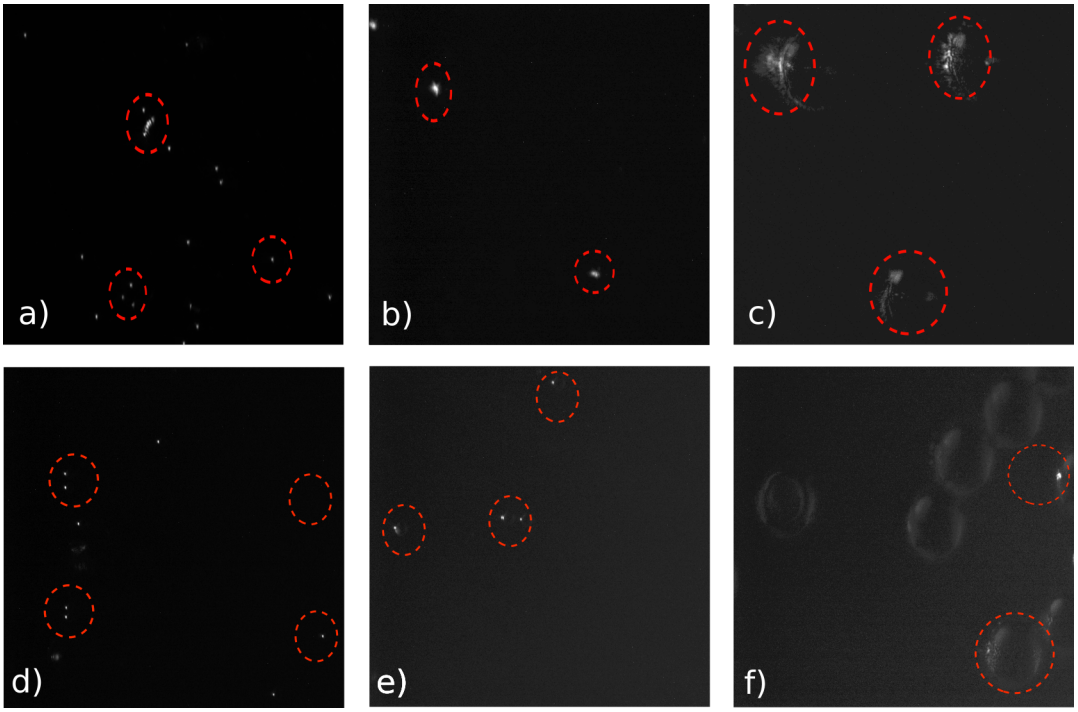



FIGURE 2.12 – Visualisation à travers un objectif du couplage et de la conversion d'une onde évanescente par des microsphères : avec (a), (b) et (c) une diode super luminescente à $\lambda_m = 450$ nm ; (d), (e), (f) avec un laser He-Ne à $\lambda = 633$ nm. (a) et (d) D = 3.9 µm ; (b) et (e) D = 6.1 µm ; (c) et (f) D = 30 µm.

La figure 2.12 montre les résultats obtenus à travers ces trois tailles de microsphère et à chaque fois avec les deux sources. On remarque au niveau des microsphère l'enregistrement de signaux optiques (intensités lumineuses) par la caméra, preuve que l'onde évanescente a été transmise en champ lointain par les microsphères.

Comme prédit numériquement, les microsphères ont donc collectés et convertis l'onde évanescente à grande fréquence spatiale se propageant à la surface du prisme.

Les billes de 30 µm semble contenir plus d'irrégularités car les tâches sont plus diffusent. Sans les microsphères, la caméra n'enregistre pas d'intensité lumineuse. Toutefois, ces résultats ne sont que des résultats préliminaires. D'autres mesures, comme la quantification de la puissance rayonnée par les billes, seront à envisager dans l'avenir.

## 2.3 Formation d'images de sources ponctuelles évanescentes par microsphère

Notre objectif dans cette section, après avoir montré le couplage d'une onde évanescente dans la microsphère et sa conversion en ondes propagatives en champ lointain [193], est de s'intéresser au procédé imageant lui-même. Le but est de pouvoir distinguer le procédé concernant les ondes propagatives (classique), de celui concernant les ondes évanescentes seules. L'inconvénient d'une source ponctuelle usuelle (un dipôle oscillant) est que les ondes évanescentes et propagatives sont entremêlées en champ proche. Les dissocier devrait contribuer à mieux expliquer le mécanisme physique de cette technique d'imagerie super-résolue. Un nouveau modèle numérique a donc été implémenté pour générer deux sources ponctuelles dans lesquels seules les composantes évanescentes sont présentes. En d'autres termes, des sources ponctuelles comprenant seulement les hautes fréquences spatiales, celles qui

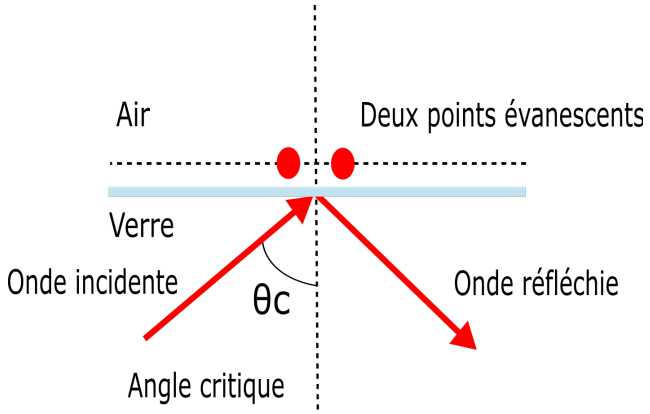



FIGURE 2.13 – Schéma de principe de la génération de sources ponctuelles évanescentes, obtenues uniquement par la superposition d'ondes évanescentes obtenues par réflexions totales internes à des angles d'incidence différents.

ne se propagent pas. Nous les appellerons « sources ponctuelles évanescentes » (« evanescent point sources » en anglais). Ce concept, à notre connaissance, est nouveau.

La génération de deux sources ponctuelles est réalisée à l'interface $(0, x)$ diélectrique-air par une sommation d'ondes avec des fréquences spatiales différentes. Chaque fréquence spatiale est associée avec un angle d'incidence et une amplitude différente (Figure 2.13). Ce principe de génération d'ondes évanescentes sera expliqué dans la section suivante. Ensuite, une microsphère de verre ayant un diamètre de 3 µm est déposée sur l'interface afin de retrouver l'image de ces deux sources ponctuelles à travers la microsphère par la méthode du renversement temporelle en espace libre du champ électrique issu de la bille, celui qui apparaît après la conversion des ondes évanescentes [172].

### 2.3.1 Modèle analytique

#### Mathématique - Décomposition dans l'espace fréquentiel

La première étape consiste à créer analytiquement deux sources ponctuelles dont seules les hautes fréquences spatiales sont présentes. On appellera ces points « sources ponctuelles évanescentes ». Pour cela nous décomposons le signal de deux sources ponctuelles classiques dans l'espace de Fourier en neuf fois $N = 9$ avec de discrétisation fréquentielle $\Delta k = 0,15/N\ nm^{-1}$ et nous ne gardons que les fréquences qui pourraient être obtenues à l'interface substrat-air par réflexion totale interne, c-à-d ; les fréquences spatiales correspondent à des angles d'incidences supérieures à l'angle critique $\theta_c$. A chaque fréquence spatiale $k_x$ correspondra un angle d'incidence $\theta_i$ d'une onde plane en réflexion totale interne, l'indice de réfraction du substrat est égale à 10. Afin de pouvoir atteindre des fréquences $k_x$ élevés qui permettront d'avoir des sources ponctuelles évanescentes assez rapprochées à travers la réflexion totale interne, il faudrait des indices de réfraction du substrat élevés. Pour l'interface substrat-air avec $n_{sub} = 10$, l'angle critique $\theta_c = 0,1002$ rad. La distribution d'amplitude du champ électrique de deux sources ponctuelles classiques en phase (voir Figure 2.14(a)) peut se décrire par la relation suivante :

$$E(x) = E_0 \left[ \exp\left(-\frac{(x - d/2)^2}{w^2}\right) + \exp\left(-\frac{(x + d/2)^2}{w^2}\right) \right] \tag{2.10}$$

où $d$ est la distance entre les deux sources ponctuelles évanescentes et $w$ leur largeur à 1/e. Le profil du champ de ces points est gaussien, ils sont espacés d'une distance $d = 200\ nm$ qui est inférieur à la limite de diffraction ($\lambda_0 = 600$ nm). L'amplitude

de l'onde est unitaire ($E_0$=1) et leur largeur à mi-hauteur "l" est égale à 50 nm. La relation entre la largeur à mi-hauteur et la largeur à 1/e $w$ est $l = 2\sqrt{ln2}w$, donc $w = l/(2\sqrt{ln2})$. La relation ci-dessus peut se réécrire sous la forme :

$$E(x) = E_0 \exp\left(\frac{-x^2}{w^2}\right)(\delta(x - d/2) + \delta(x + d/2)) \tag{2.11}$$

La transformée de Fourier de cette expression (voir Figure 2.14(b)) est :

1. Deux sources ponctuelles évanescentes en phase

$$\begin{aligned}\mathcal{F}[E(x)] &= E_0[\sqrt{\pi}w \exp(-w^2k_x^2/4)][\exp(ik_xd/2) + \exp(-ik_xd/2)] \\ &= 2\sqrt{\pi}wE_0 \exp(-w^2k_x^2/4)\cos(k_xd/2)\end{aligned} \tag{2.12}$$

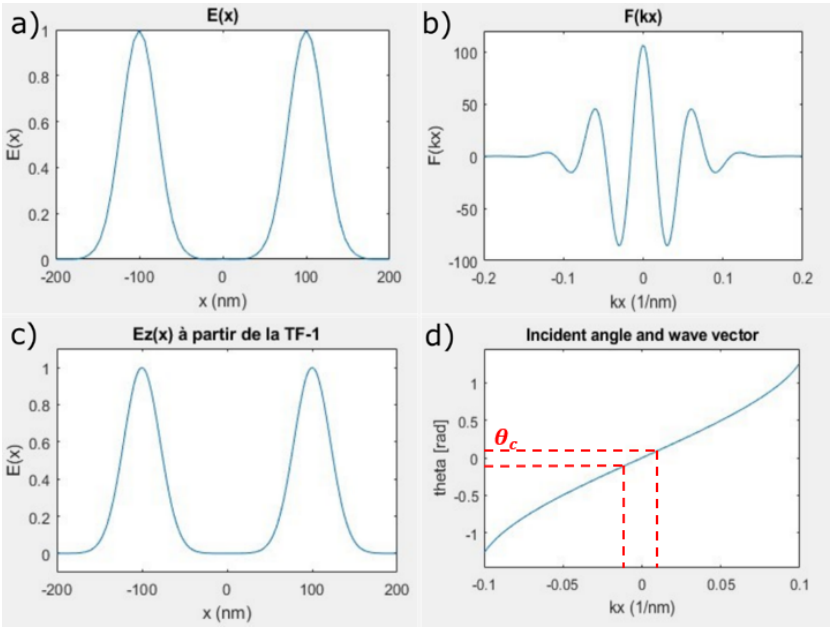



FIGURE 2.14 – Génération numérique de sources ponctuelles évanescentes en phase. (a) Profile d'amplitude des deux sources ponctuelles classiques dans le domaine spatial ; (b) Transformée de Fourier des sources ponctuelles pour avoir la décomposition dans le domaine fréquentiel. (c) Profile spatial de l'amplitude des sources ponctuelles évanescentes obtenu par une transformée de Fourier inverse de la somme discrète des composantes évanescentes. $\Delta k = 0,15/N\ nm^{-1}$ et $N = 9$. (d) Relation entre la fréquence spatiale de l'onde à l'interface substrat-air en fonction de l'angle d'incidence $\theta_i$ en réflexion totale interne, l'indice du substrat est égale à 10, l'angle critique $\theta_c$ est indiqué par une ligne en pointillés.

2. Cas de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase
   De même si les deux sources ponctuelles sont en opposition de phase (voir figure 2.15) :

$$E(x) = E_0 \exp\left(\frac{-x^2}{w^2}\right)(\delta(x - d/2) - \delta(x + d/2)) \tag{2.13}$$

$$\begin{aligned}\mathcal{F}[E(x)] &= E_0[\sqrt{\pi} w \exp(-w^2 k_x^2/4)][\exp(ik_x d/2) - \exp(-ik_x d/2)] \\ &= 2i\sqrt{\pi} w E_0 \exp(-w^2 k_x^2/4) \sin(k_x d/2)\end{aligned} \tag{2.14}$$

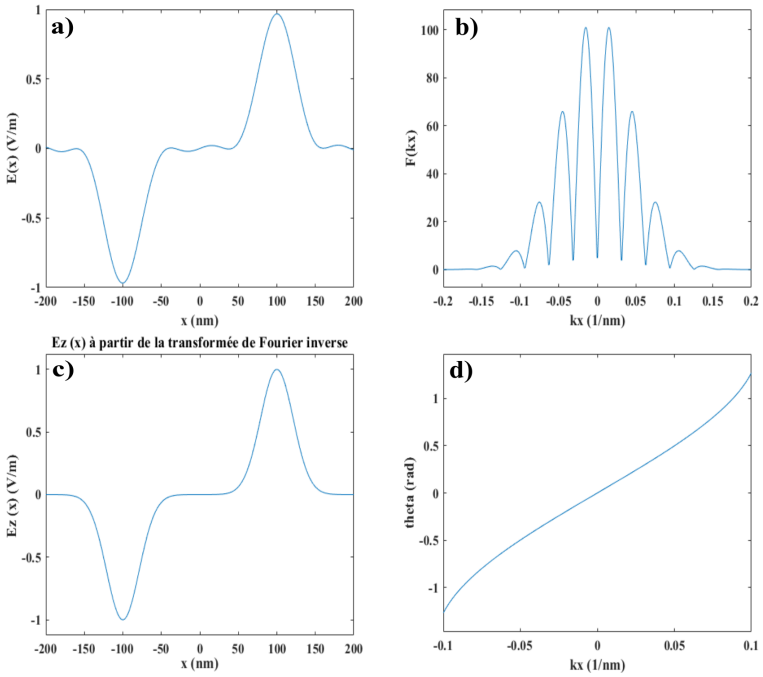



FIGURE 2.15 – Génération numérique de sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase. (a) Profile d'amplitude de deux sources ponctuelles classiques dans le domaine spatial ; (b) Transformée de Fourier des sources ponctuelles pour avoir la décomposition dans le domaine fréquentiel. (c) Profile spatial de l'amplitude des sources ponctuelles évanescentes obtenu par une transformée de Fourier inverse de la somme discrète des composantes évanescentes. $\Delta k = 0,15/N\ nm^{-1}$ et N = 200. (d) Relation entre la fréquence spatiale de l'onde à l'interface substrat-air en fonction de l'angle d'incidence $\theta_i$ en réflexion totale interne, l'indice du substrat est égale à 10.

La composante tangentielle du vecteur d'onde est $k_x$. Figure 2.14(b), les hautes composantes fréquentielles sont conservées dans l'espace de Fourier puis sommées figure 2.14(c) pour générer des sources ponctuelles. La figure 2.14(d) montre la relation entre l'angle d'incidence $\theta_i$ et le vecteur d'onde $k_x$ pour une interface verre-air.

Un code MATLAB a été développé pour décrire les sources ponctuelles évanescentes avec une polarisation TE et ensuite combiné à notre algorithme par la méthode des éléments finis (FEM) COMSOL Multiphysics version 5.5. La figure 2.16a) montre les sources ponctuelles en phase reconstruits. Le fait que l'espace des fréquences ait été discrétisé explique la périodisation des deux sources ponctuelles évanescentes. Les maxima d'amplitude sont bien visibles en surface du verre sans qu'aucune onde ne se propage en champ lointain dans l'air (partie haute du domaine). La somme des multiples ondes incidentes planes en réflexion totale dans le verre (partie basse du domaine) est également visible dans le verre.

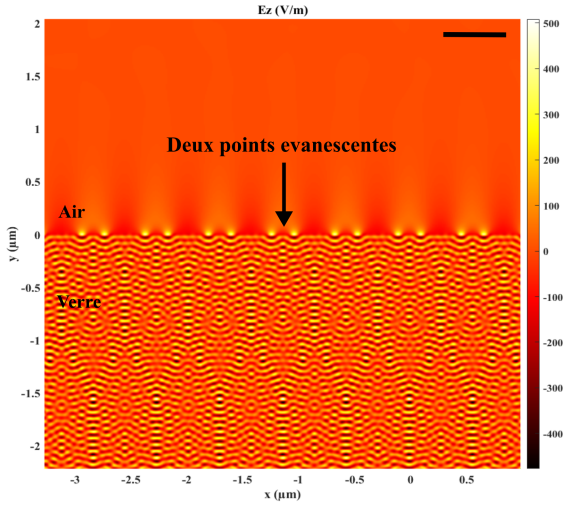



FIGURE 2.16 – Génération de deux sources ponctuelles évanescentes en phase, périodiquement sur le long de l'interface diélectrique-air. d = 200 nm, $n_{sub}$ = 1.5, w = 50 nm, $\lambda_0$ = 600 nm.

### 2.3.2 Formation d'images par une microsphère

L'objectif de cette section est de démontrer théoriquement le rôle des ondes évanescentes et de leur cohérence sur la capacité des microsphères à résoudre l'image des objets dont la taille est sub-longueur d'onde. Pour cela nous avons étudié la

formation d'images de deux sources ponctuelles évanescentes dans deux cas. Premièrement, les deux sources ponctuelles évanescentes sont en phase et deuxièmement, les deux sources ponctuelles évanescentes sont en opposition de phase. En conséquence, cette étude sert à comprendre le mécanisme physique de la super-résolution en imagerie en microscopie optique assistée par microsphère.

Dans ce modèle, une microsphère de 3 µm de diamètre est maintenant ajoutée sur l'interface verre-air, centrée au-dessus de deux sources ponctuelles. La figure 2.17 montre l'excitation des microsphères en verre par des sources ponctuelles en phase à hautes fréquences spatiales (sources ponctuelles évanescentes). Ces résultats montrent clairement l'efficacité du couplage et la conversion en ondes propagatives en champ lointain et les WGMs excités à l'intérieur des microsphères. Deux maxima du champ électrique apparaissent dans la microsphère à sa périphérie. La figure 2.17(b) laisse bien percevoir les fronts d'ondes cylindriques émanant de chacun de ces points. On peut s'étonner que ces images soient réelles. Expérimentalement des images réelles ont été observées pour des billes d'indice proche de 2 (en $BaTiO_2$). Cependant pour ce type de billes en silice, l'image observée expérimentalement est virtuelle. Le deuxième point d'étonnement, est l'importance du grandissement. Les sources ponctuelles espacés de 200 nm donnent des points images espacés de près de 2 µm. Un grandissement de x10 semble bien supérieur au grandissement d'environ 4 observé expérimentalement. Nous allons donc mettre à l'épreuve cette interprétation de la simulation.

(a) **Couplage et conversion par une microsphère de deux sources ponctuelles évanescentes en phase**

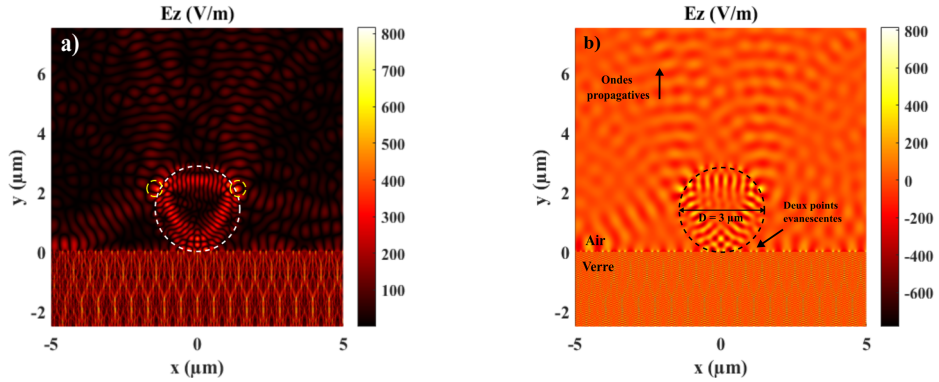



FIGURE 2.17 – Collection de la lumière de deux sources ponctuelles évanescentes en phase par une microsphère de 3 µm de diamètre. a) Distribution d'intensité. b) Partie réelle du champ électrique. $\lambda_0 = 600$ nm.

(b) **Couplage et conversion par une microsphère de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase**

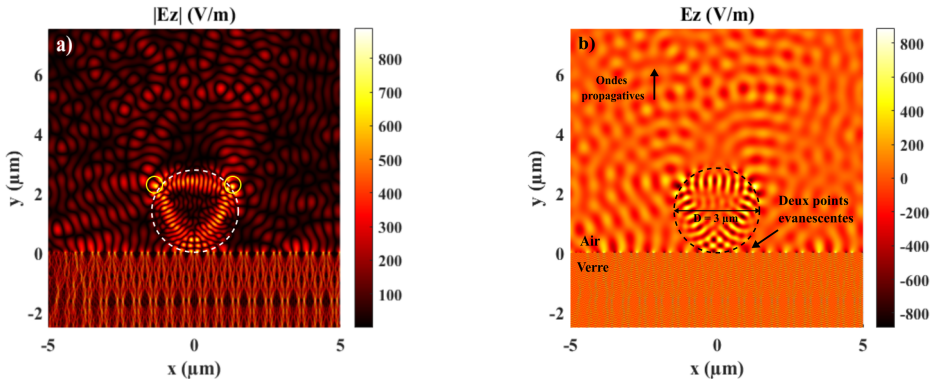



FIGURE 2.18 – Collection de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase par une microsphère de 3 µm de diamètre. a) Distribution d'intensité. b) Partie réelle du champ électrique. $\lambda_0 = 600$ nm.

### Effet du déplacement latérale de la microsphère

Afin de vérifier que les deux maxima du champ électrique situés sur la périphérie de la microsphère montrés par un cercle pointillé en haut da la figure 2.17.(b) sont vraiment les images réelles des deux sources ponctuelles évanescentes qui excitent cette dernière, nous allons vérifier s'ils évoluent de façon conformale à la modification des sources ponctuelles objets. Pour cela la microsphère est légèrement translatée horizontalement. Cela est équivalent à une translation de l'objet par rapport à la microsphère. Si les deux maxima sont des images, ils doivent subir une translation proportionnelle dans l'autre sens (tenant compte du grandissement). On observe dans les figures 2.19 et 2.20 pour respectivement des sources ponctuelles évanescentes en phase et en opposition de phase que les maxima dans la sphère ne bougent quasiment pas. On constate donc que le déplacement des maxima n'est pas conformal à celui des sources ponctuelles. Ces deux maxima ne sont donc pas des images des deux sources ponctuelles évanescentes. Si l'image n'est pas réelle, elle est peut-être virtuelle.

**(a) Conformalité : cas de l'image réelle des deux sources ponctuelles évanescentes en phase**

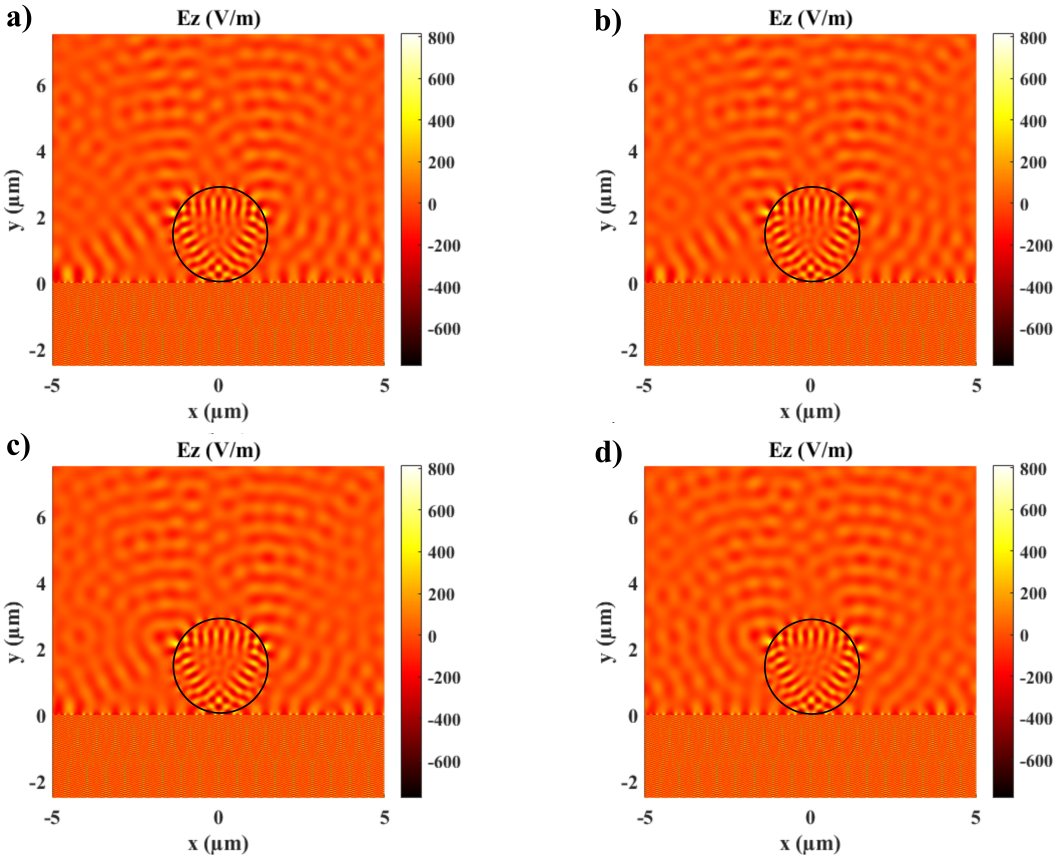



FIGURE 2.19 – Distribution de la partie réelle du champ électrique issu des deux sources ponctuelles évanescentes en phase et collecté par la microsphère décentrée horizontalement de : a) x = 0 nm, b) x = 20 nm, c) x = 50 nm et d) x = 100 nm.

### (b) Conformalité : cas de l'image réelle des deux sources ponctuelles évanescentes en opposition phase

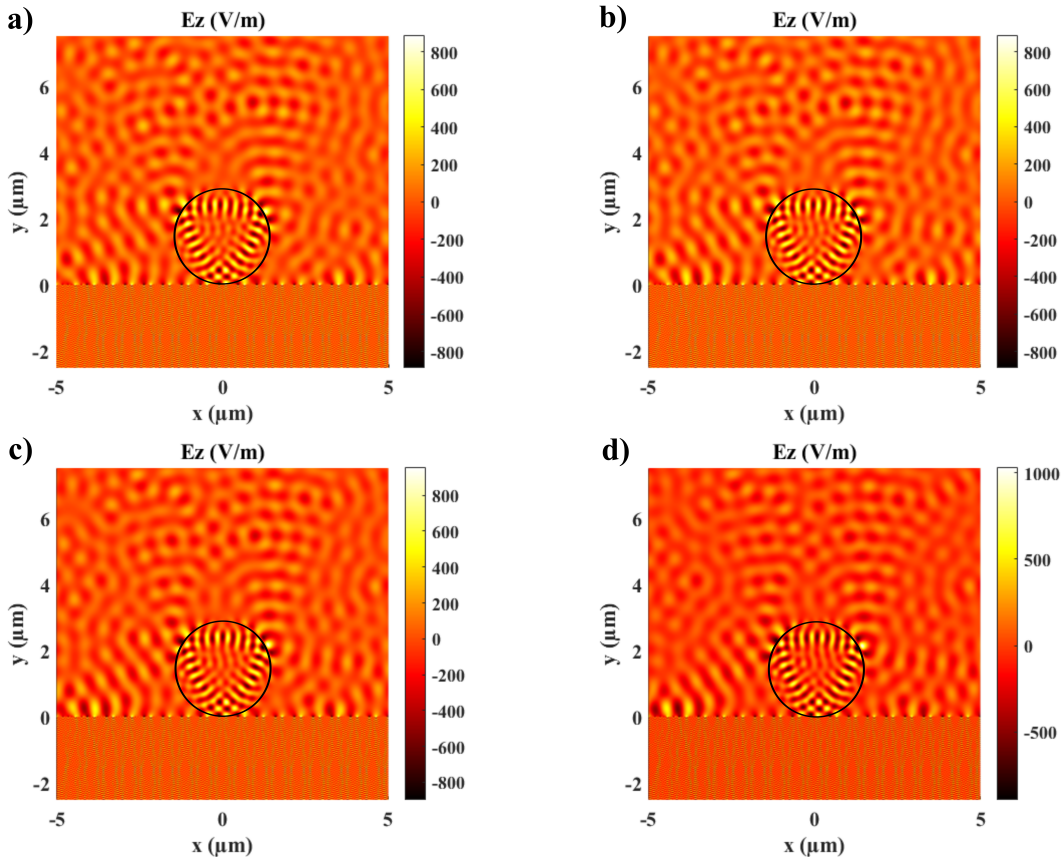



FIGURE 2.20 – Distribution de la partie réelle du champ électrique issu des deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase et collecté par la microsphère centrée latéralement de : a) x = 0 nm, b) x = 20 nm, c) x = 50 nm et d) x = 100 nm.

#### Image virtuelle de deux sources ponctuelles à travers une microsphère

Notre objectif est de déterminer si l'image par notre sphère est ici virtuelle. Nous allons le faire d'abord avec deux sources ponctuelles classiques, puis avec deux sources ponctuelles évanescentes.

Comme pour nos travaux précédents sur l'imagerie par les microsphères, la méthode théorique utilisée pour trouver l'image formée par une microsphère quand cette image est virtuelle est la rétropropagation, ou autrement dit le renversement

temporel de la propagation (en anglais Reversal Time Propagation). La simulation se fait en deux étapes. D'abord, la microsphère est excitée par deux sources ponctuelles, ici des dipôles oscillants orthogonaux au plan de simulation. La distance entre ces deux sources ponctuelles est la même que celle entre les deux sources ponctuelles évanescentes étudiées précédemment : 200 nm. Puis, le champ électrique capturé sur une ligne au-dessus de la sphère est rétropropagé en espace libre (renversement temporel de la propagation) afin de trouver l'image potentiellement virtuelle des sources ponctuelles.

### Excitation par des sources ponctuelles classiques

#### (a) Excitation de la microsphère par deux sources ponctuelles classique en phase

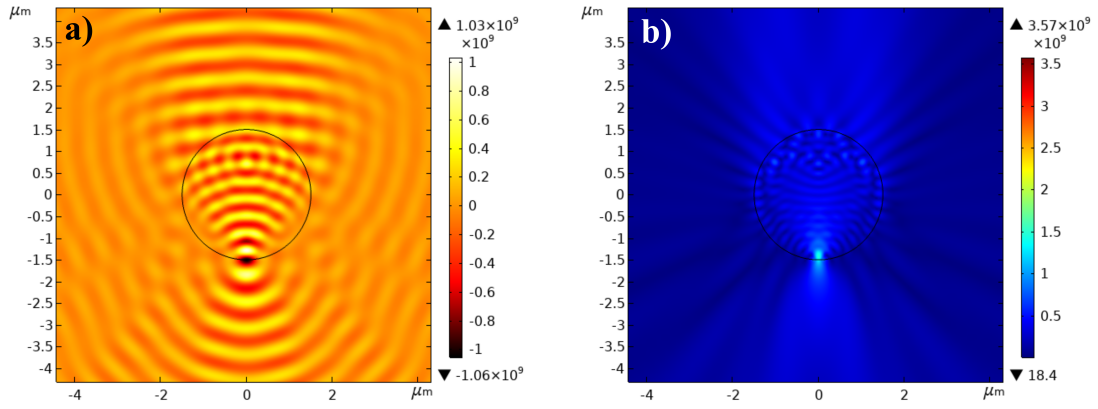



FIGURE 2.21 – Excitation d'une microsphère de 3 µm de diamètre par deux sources ponctuelles en phase. Indice de la sphère 1,5, $\lambda_0 = 600\ nm$. Distante entre sources d = 200 nm. a) Partie réelle du champ électrique $E_z$. b) Intensité.

### (b) Excitation de la microsphère par deux sources ponctuelles classiques en opposition phase

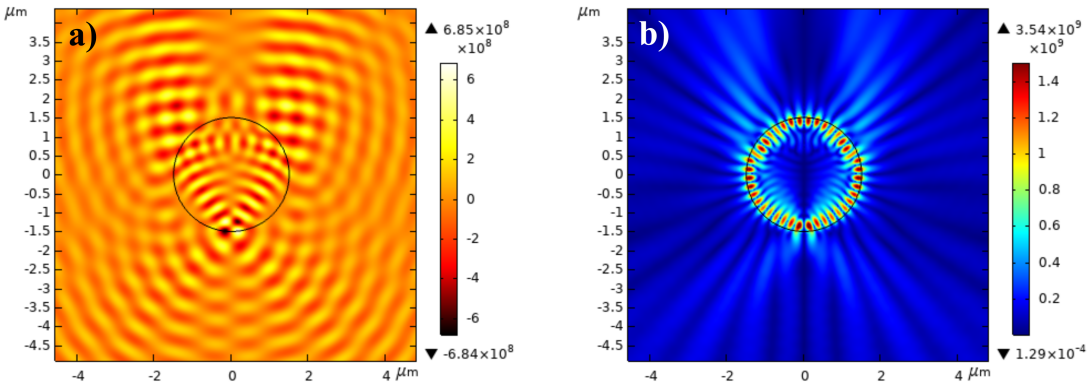



FIGURE 2.22 – Excitation d'une microsphère de 3 µm de diamètre par deux sources ponctuelles en opposition de phase. Indice de la sphère 1,5, $\lambda_0 = 600\ nm$. Distante entre sources ponctuelles d = 200 nm. a) Partie réelle du champ électrique $E_z$. b) Intensité.

## Renversement temporelle de la propagation

### (1) Cas de deux sources ponctuelles classiques en phase

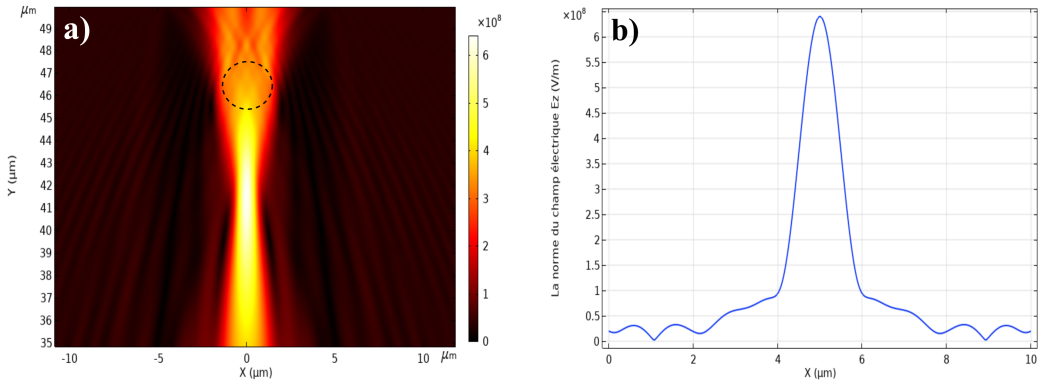



FIGURE 2.23 – Image virtuelle des deux sources ponctuelles classiques en phase par inversement temporelle de la propagation. Microsphère D = 3 µm, n = 1,5. $\lambda_0 = 600\ nm$. Distante entre sources ponctuelles d = 200 nm. a) Intensité, b) Coupe transversale dans le plan du max.

Quand les deux sources ponctuelles classiques sont en phase, figure2.23, leurs images virtuelles 4 µm sous la sphère, ne sont pas résolues. On ne distingue qu'un maximum au centre.

**(2) Cas de deux sources ponctuelles classiques en opposition de phase**

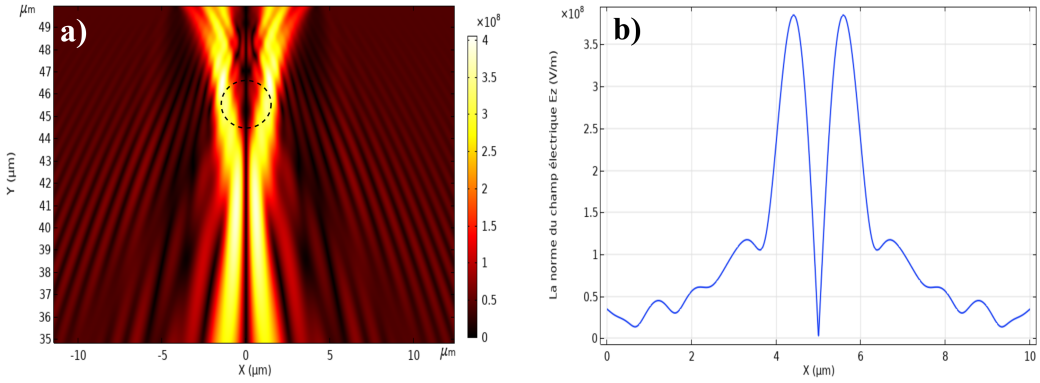



FIGURE 2.24 – Image virtuelle des deux sources ponctuelles classiques en opposition de phase par inversement temporelle de la propagation. Microsphère D = 3 µm, n = 1,5. $\lambda_0 = 600\ nm$. Distante entre sources ponctuelles d = 200 nm. a) Intensité, b) Coupe transversale dans le plan du max.

Quand les deux sources ponctuelles classiques sont en opposition de phase, figure2.24, leurs images virtuelles, 4 µm sous la sphère, sont désormais résolues. Les interférences destructives, au centre, permettent de séparer les deux images.

### (3) Cas de deux sources ponctuelles évanescentes en phase

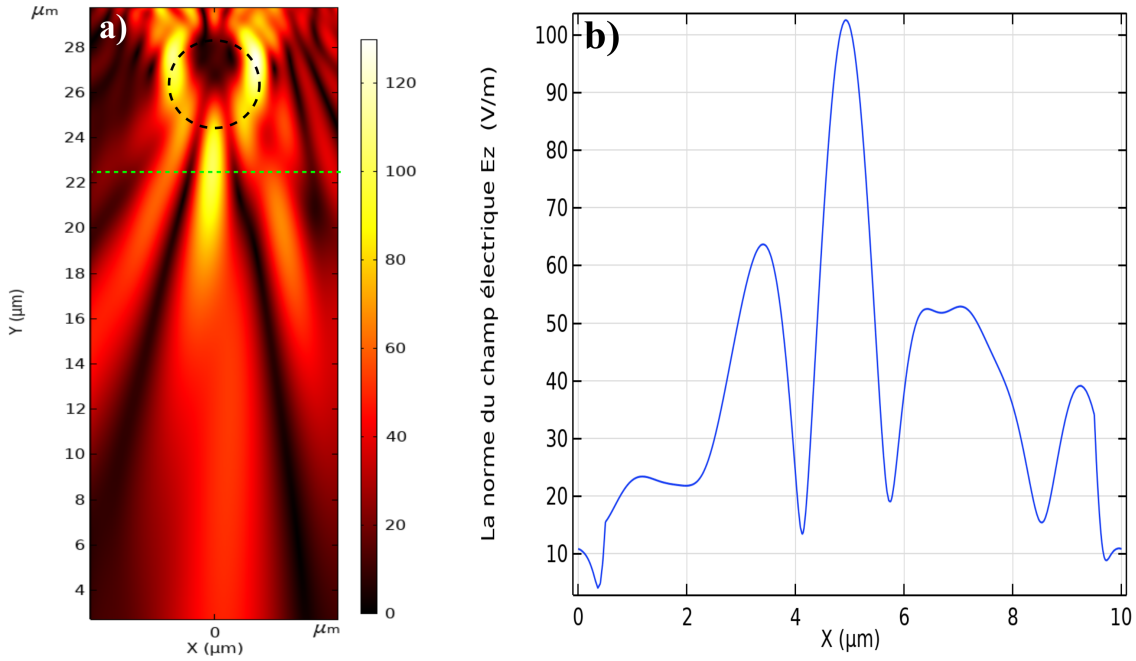



FIGURE 2.25 – Image virtuelle de deux sources ponctuelles évanescentes en phase par inversement temporelle de la propagation. Microsphère D = 3 µm, n = 1,5. $\lambda_0 = 600\ nm$. Distante entre sources ponctuelles d = 200 nm. a) Intensité, b) Coupe transversale dans le plan du max.

Quand les deux sources ponctuelles évanescentes sont en phase, figure2.25, leurs images virtuelles 4 µm sous la sphère, ne sont pas résolues. On ne distingue qu'un maximum au centre.

Par contre, quand les deux sources ponctuelles évanescentes sont en opposition de phase, figure2.26, leurs images virtuelles sont désormais résolues. Les interférences destructives, au centre, permettent de séparer les deux images.

**(4) Cas de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase**

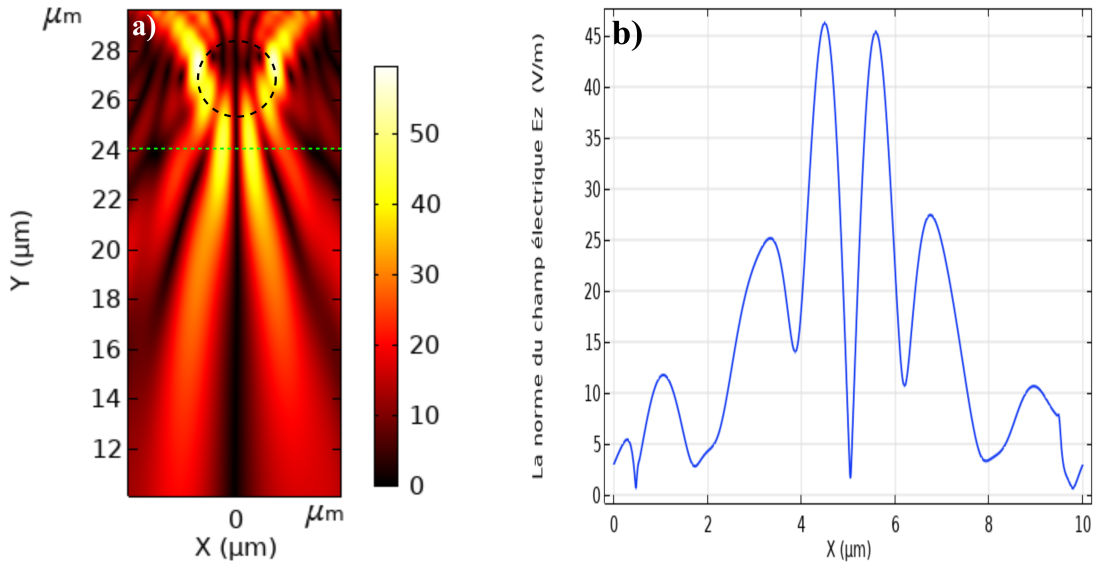



FIGURE 2.26 – Image virtuelle de deux sources ponctuelles évanescentes en opposition de phase par inversement temporelle de la propagation. Microsphère D = 3 µm, n = 1,5. $\lambda_0 = 600\ nm$. Distante entre sources ponctuelles d = 200 nm. a) Intensité, b) Coupe transversale dans le plan du max.

## 2.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons cherché à mieux comprendre l'origine de la super-résolution en microscopie assistée par microsphère. Il a été montré numériquement et expérimentalement qu'il y a couplage des ondes évanescentes générés sur une interface verre/air aux WGM d'une microsphère en contact et conversion en champ lointain.

Les simulations électromagnétiques rigoureuses dans le domaine du visible ont montrées, non seulement, la collection naturelle des ondes évanescentes par des microsphères diélectriques, mais aussi leur conversion en ondes propagatives. Les hautes fréquences spatiales en champ proche sont naturellement couplées aux modes de galerie (Whispering gallery modes "WGM") à l'intérieur des microsphères, et convertis en champ lointain. L'influence des paramètres optiques a été étudié, comme l'indice de réfraction des microsphères, la longueur d'onde et la phase de l'onde incidente et des paramètres géométriques, comme l'angle d'incidence de l'onde excitatrice et le

diamètre de la microsphère. Une analogie avec le principe de la microscopie optique à balayage en champ proche peut ainsi être faite, excepté que la mesure n'est pas faite point par point mais directement en plein champ.

Afin de valider ces résultats numériques, un montage expérimental a été mis en place. Il a permis de valider qu'avait bien lieu la conversion des ondes évanescentes en ondes propagatives détectables en champ lointain. Ces résultats expérimentaux ne sont cependant que des résultats préliminaires. La quantification par exemple des puissances rayonnées et l'évaluation de facteurs métrologiques comme l'incertitude seront à mener dans l'avenir. Ils permettront de renforcer l'étude expérimental du mécanisme de couplage et de conversion des ondes évanescentes par des microsphères.

Pour une description plus complète du processus théorique d'imagerie nous avons ensuite introduit le concept de sources ponctuelles évanescentes. Ce type de maxima locaux du champ électrique n'est dû qu'à des ondes évanescentes. Nous nous sommes d'abord assurés que les maxima locaux qui apparaissaient dans la sphère n'étaient pas des images réelles des sources ponctuelles. En effet, ils ne respectaient pas la conformalité des positions des points objets : la position relative des points images n'est pas en accord avec la position relative des points objets. Nous avons ensuite comparé leur image virtuelle calculé par inversement temporelle de la propagation en espace libre avec celle de sources ponctuelles classiques (dipôles oscillants). Or résonance particulière, deux sources ponctuelles évanescentes séparés d'une distance sub-diffractive ne sont résolus que s'ils sont en opposition de phase. Le phénomène est le même que pour des sources classiques. Nous pouvons en conclure que oui, les ondes évanescentes sont converties en champ lointain par la microsphère et que oui, elles contribuent au processus imageant, mais pas de façon évidente à la résolution. L'augmentation de la résolution semble donc soit due à des interférences destructives liées à la réponse en phase de l'objet et aux faibles différences de chemins optiques qui interviennent à travers une microsphère, soit à une résonance des WGM excités comme suggéré par Zhou [197]. L'étude de sources ponctuelles évanescentes excitant une résonance de WGM dans la sphère serait un cas intéressant à identifier et étudier. Dans ce chapitre, les résultats des simulations rigoureuses du processus d'imagerie à travers des microsphères ont été montrés. La mesure de phase nécessaire à la reconstruction d'un profil n'a pas été abordée. Elle est pourtant délicate en particulier quand le profil en question a des dimensions latérales inférieures à la longueur d'onde. Cette étude fait l'objet du chapitre suivant.

*Si l'idée n'est pas à priori absurde, elle est sans espoir, Albert Einstein*

# Chapitre 3

# Interprétation de la réponse en phase mesurée en imagerie sub-diffractive

## 3.1 Problématique

La microscopie interférométrique, comme il est indiqué dans le chapitre 1, est basée sur la mesure de phase pour déterminer une profondeur ou pour retrouver le profil ou la forme d'une surface. Dans le cas classique (dimension du motif $\gg \lambda$), on utilise la formule suivante pour retrouver la hauteur H point par point (pixel par pixel) de la surface d'un objet :

$$\Delta\Phi = \frac{2\pi}{\lambda}\delta \tag{3.1}$$

avec $\delta$=2H la différence de marche (on suppose ici la mesure faite en espace libre, n=1).

Si cette formule est évidente quand la dimension des motifs est grande par rapport à la longueur d'onde, il en va autrement dans le cas où les motifs sont comparables ou plus petits que la longueur d'onde. C'est le cas qui nous intéresse dans ce travail de thèse. Notre objectif est donc d'étudier le lien entre la phase mesurée et la hauteur d'un motif sub-longueur d'onde. Etant donné le manque de travail théorique sur la modélisation de la microscopie à saut de phase "PSM" (Phase shifting Microscopy) en faible cohérence dans la littérature et commençant de zéro, nous avons choisi des motifs simples dans un premier temps, consistant d'abord en une marche rectangulaire d'une part et puis d'un réseau carré, tous les deux en silicium. Pour l'étude en deux dimensions, il est nécessaire ce tenir compte, aussi rigoureusement que possible, des différents paramètres de la marche et de la source d'illumina-

tion. Sont étudiés l'influence de la largeur et la hauteur des motifs ainsi que l'effet de l'étendue spectrale de la source. A ce stade la sphère est considérée comme une super-lentille apportant une meilleure résolution latérale.

## 3.2 Calcul de la réponse en phase d'une marche de largeur sub-longueur d'onde

### 3.2.1 Description de l'étude

Le premier profil considéré est celui d'une marche en silicium.

#### Les paramètres de l'étude

Les paramètres pris en compte dans cette étude sont les suivants :

— L'étude a été faite pour une longueur d'onde centrale de 600 nm.

— La marche étudiée et le substrat sont supposés être en silicium, pour pouvoir faire une comparaison des résultats avec des mesures expérimentales de l'étalon Symetrics qui est aussi en silicium. Par contre pour simplifier l'interprétation et la compréhension physique, ni l'absorption, ni la dispersion du silicium ne sont pris en compte. L'indice de réfraction du matériau de la marche et du substrat est supposée être de 3,9485 (partie réelle de l'indice du silicium à 600 nm) [198].

— La marche rectangulaire a une largeur $L$. Les valeurs de la largeur utilisée dans cette étude sont de 100 nm, 200 nm, 300 nm, 400 nm, 600 nm, 800 nm, 1200 nm et 1500 nm.

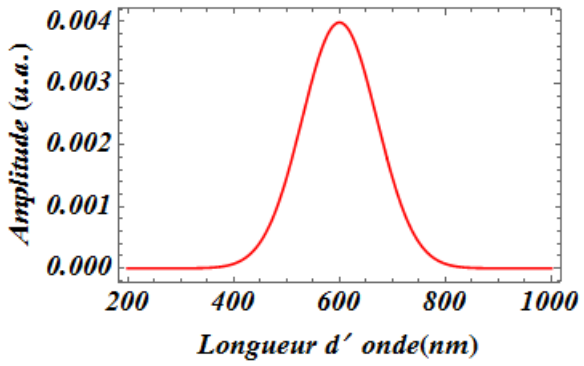



FIGURE 3.1 – Spectre gaussien de l'onde incidente avec 2.$\sigma$=200 nm.

— La marche rectangulaire a une hauteur $H$. Les valeurs de la hauteur utilisée dans cette étude sont 50 nm, 100 nm, 150 nm, 200 nm et 250 nm. Ce choix permet d'avoir un déphasage restant en dessous de $2\pi$ pour éviter d'avoir des sauts de phase lors de la reconstruction.

— La largeur spectrale de la source d'illumination prend en compte tout ou une partie du spectre visible (400nm-800nm). L'étude étant numérique et dans le domaine fréquentiel, chaque simulation individuelle est monochromatique et le spectre a été échantillonné avec un pas de 20 nm. Des tests ont été effectués pour vérifier qu'un pas inférieur ne modifiait pas les résultats.
Le spectre de l'onde incidente est supposé être de forme gaussienne (voir figure 3.1) :

$$f(\lambda) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2}\pi} \exp(-\frac{(\lambda - \lambda_0)^2}{2\sigma^2}) \tag{3.2}$$

$\lambda_0$ est la longueur d'onde centrale (longueur d'onde effective) et $2.\sigma$ est la largeur spectrale (à $1/e^2$). Nous avons considéré trois cas : $2.\sigma = 100$ nm, 200 nm et 400 nm. Ce spectre est pris en compte sous forme d'une pondération lors de la somme des intensités obtenues pour chaque longueur d'onde.

— La valeur du maillage de l'espace (simulation par éléments finis avec le logiciel Comsol) a été choisi inférieur à 25 nm avec un raffinement appliqué autour de la marche.

### 3.2.2 Description du modèle

Le modèle a été créé sous COMSOL [1] pour une étude résolvant la propagation électromagnétique via la méthode des éléments finis. L'objectif est de mesurer la phase du champ réfléchi par la marche en silicium en fonction de sa largeur et de son hauteur. La marche est éclairée par une onde plane, en mode TE (champ électrique orthogonal au plan de simulation), insérée en haut via une condition aux limites de diffusion (scattering boundary conditions) avec une longueur d'onde qui varie d'une simulation à l'autre, de 400 nm à 800 nm avec un pas de 20 nm. Pour simuler une onde plane incidente émise sur un bord de dimension finie de la zone de calcul, sans que le front d'onde soit déformée par diffraction, des PMLs (Perfectly matched Layer) suivi par des conditions périodiques ont été utilisés latéralement. Les PMLs sont des couches artificielles absorbantes qui assure une « adaptation d'impédance » avec le milieu d'étude pour éviter les réflexions parasites de nature numérique tout en absorbant les ondes se propageant horizontalement. Ainsi l'onde plane incidente, se

1. COMSOL Multiphysics v5.5

propageant verticalement n'est pas absorbée et se comporte comme si elle était émise sur une ligne infinie grâce aux conditions aux limites périodiques. Les ondes diffusées latéralement, après interaction avec la marche, vont disparaître sur le côté, comme si elles poursuivaient leur chemin dans un espace libre. Ces conditions périodiques (ligne rouges pointillées figure 3.2) sont mises en place, juste après les PMLs (Zones bleues), sur les côtés gauche et droit du modèle. Elles ne sont vues que par l'onde incidente. La marche en silicium se trouve sur un substrat décrit par la frontière du bas par des conditions d'impédance (ligne vertes pointillées) paramétrées avec les propriétés du silicium décrite plus haut (n = 3,9485), ce qui permet de simuler un substrat en silicium (ligne verte).

### L'onde incidente plane

Avant de simuler l'interaction de l'onde avec la marche en silicium, la première chose à faire a été de vérifier si la distribution de l'onde plane était correcte. La figure 3.3 montre la distribution du champ électrique total $Ez$ de l'onde incidente plane lorsqu'on met l'indice de réfraction de l'air à la place de l'indice du silicium pour la marche, comme s'il y avait de l'air partout dans la zone d'étude. Un état stationnaire s'est créé par superposition de l'onde incidente qui vient du haut et l'onde réfléchit par le substrat de silicium en bas (conditions d'impédances mises en bas de la zone d'étude).

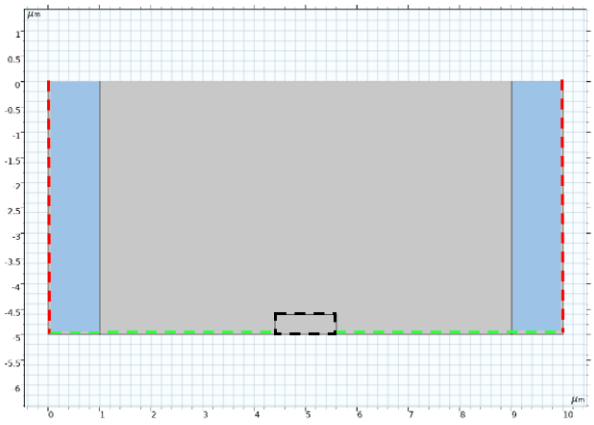


FIGURE 3.2 – Géométrie et conditions aux limites de la marche étudiée. Ligne verte en bas : substrat en silicium. Rectangle noir : la marche en silicium (n = 3,9485). Zone bleue : PML. Lignes rouges : conditions aux limites périodiques. L'onde incidente plane vient du haut (conditions aux limites de diffusion).

**Séparation du champ électrique réfléchie $Er$ du champ total**

La figure 3.4 montre le champ électrique $Ez$ total en présence de la marche en silicium. Il peut être vu comme la somme de l'onde incidente et de l'onde réfléchie par la marche (ici 1.2 µm de largeur et 100 nm de hauteur). La marche en silicium est éclairée par une onde plane de longueur d'onde 600 nm en incidence normale. Dans la figure 3.5, l'onde incidente a été soustraite numériquement, ce qui permet de ne visualiser que l'onde réfléchie par la marche. C'est sur le champ électrique réfléchit que la phase est relevée. La coupe sur laquelle la phase est prise est sur le plan passant exactement sur le haut de la marche (ligne en pointillés verts).

### 3.2.3 Le cas monochromatique plus compliqué qu'attendu

La figure 3.6 présente la phase simulée par notre modèle du champ réfléchi par la marche en silicium (courbe bleue) pour une larguer $L$ de 1.2 µm et une hauteur $H$ égale à 100 nm. La marche est éclairée par une onde plane monochromatique de longueur d'onde de 600 nm. La courbe orange présente la hauteur correspondante à chaque point de phase calculée à partir de la formule classique (3.1), et qui sert

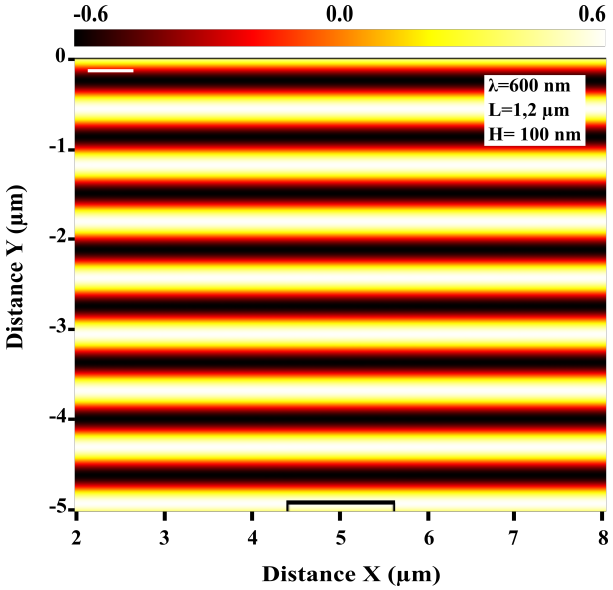



FIGURE 3.3 – Distribution du champ Ez de l'onde incidente plane dans la zone de calcul (l'air) et de sa réflexion sur le substrat de silicium en bas en absence de marche (Ici n = 1 dans la marche, rectangle noir en bas). $\lambda = 600$ nm.

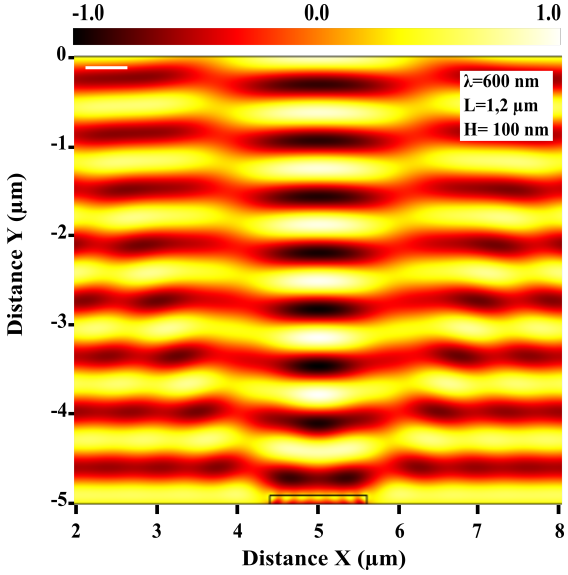



FIGURE 3.4 – Champ électrique totale $Ez$ (champ incident et champ réfléchi) en présence d'une marche en silicium. $\lambda = 600$ nm. $H = 100$ nm, $L = 1.2\,\mu$m.

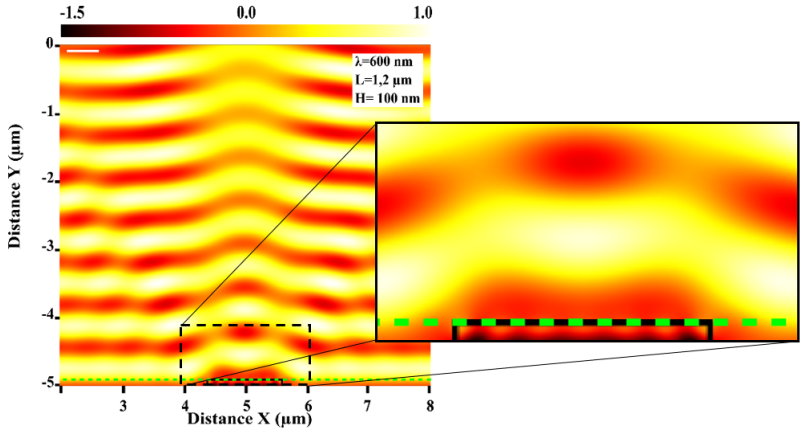



FIGURE 3.5 – Champ électrique réfléchie $Er$ par la marche. $\lambda = 600$ nm. $H = 100$ nm, $L = 1.2\,\mu$m. En pointillés verts, plan sur lequel la phase est prélevée.

à valider notre simulation. L'ordre de grandeur du déphasage de $\Delta\Phi \approx 2,08\ rad$ présenté dans la figure3.6 est en bon accord avec la hauteur de la marche $H \approx 100\ nm$. Cela veut dire, que les résultats de la simulation sont conformes avec ceux de la formule classique. En revanche la distribution de phase est très perturbée

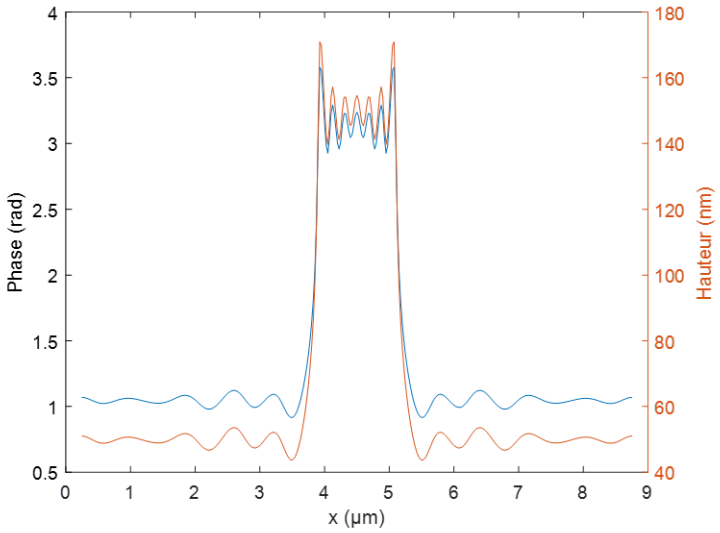



FIGURE 3.6 – Phase de l'onde réfléchie prise sur le plan passant par le haut de la marche et hauteur correspondante. $\lambda = 600$ nm. Marche : $H = 100$ nm, $L = 1.2\,\mu$m.

(oscillations). Cela met en évidence une difficulté de modélisation même dans le cas ou la marche est plus large que la longueur d'onde, c'est à dire dans le cas classique où la difficulté d'une largeur sub-diffractive de la marche ne se pose pas.

**Problème :**

La phase simulée du champ électrique réfléchi par la marche dans le cas monochromatique a de fortes variations dans l'espace, a priori dues à la diffraction par les bords de la marche. Notons en outre que ces résultats de simulation sont différents de ce qui est mesuré expérimentalement où le profil de phase est plus lisse sur le haut d'une marche.

**Hypothèse :**

Nous pensons que ce phénomène est atténué expérimentalement pour deux raisons : d'abord parce que la source lumineuse est polychromatique et puis à cause de l'utilisation d'un éclairage Köhler, qui est bien connu pour atténuer les effets de la diffraction sur les bords des structures. Nous avons donc voulu simuler le cas polychromatique.

**Difficultés :**

La question se pose alors : comment calculer « la phase » d'une onde polychromatique ? Une simulation électromagnétique monochromatique donne naturellement la phase de l'onde. Mais s'agissant de la somme des champs de N ondes monochromatiques avec des longueurs d'ondes différentes, elle n'a de sens qu'à un instant $t$ donné. Ce qui se somme alors naturellement ce ne sont plus les champs, mais les intensités. La question même d'une notion de phase de cette onde est discutable.

Notre approche a consisté à faire numériquement ce qui est déjà fait communément expérimentalement : déduire la phase à partir des mesures d'intensités de plusieurs interférogrammes. Pour nos calculs, nous nous sommes basés sur la méthode de la PSM (Phase shifting Microscopy) ou microscopie à saut de phase, avec 3 différences de phase connues introduites entre le bras référence et le bras objet (voir chapitre 1).

### 3.2.4 Notre proposition pour simuler la phase d'une onde à large spectre

Comme indiqué précédemment, en proposant d'utiliser la PSM, Si la technique est classique expérimentalement, cela ne semble jamais avoir été fait en modélisation. C'est l'occasion de mettre à plat la technique.

### 3.2.5 Pourquoi la PSM ?

— L'algorithme de la PSM est rigoureux pour la lumière monochromatique expérimentalement et numériquement. Quand expérimentalement la source de la lumière utilisée n'est pas monochromatique, on utilise pourtant également la PSM. La même approximation sera faite en simulation. Pour la première fois, à notre connaissance, cette approximation pourra être étudiée théoriquement.

— Nos simulations calculent les champs électriques, qui ne peuvent pas être sommés que dans les cas monochromatiques. Comme notre source est polychromatique, les champs électriques ne pourront pas être sommés. Par contre, en sommant les intensités la notion de phase est perdue, ce qui est le cas expérimentalement. Il est nécessaire de mesurer des distributions spatiales d'intensités pour retrouver la phase. Il est proposé donc de sommer les intensités pour trouver les interférogrammes et d'utiliser la PSM pour retrouver la phase indirectement (relation citée dans le chapitre 1, section 1.2.2).

Dans ce qui suit, dans le calcul les différents $\lambda$ du spectre et la longueur d'onde centrale du spectre $\lambda_0$ seront distingués. La PSM ne serait rigoureuse que si $\lambda = \lambda_0$.

**Référence de phase :**

La phase est une notion relative. Pour la PSM utilisée dans ce modèle, la référence de phase (déphase nulle entre l'onde incidente et l'onde de référence utilisée pour les interférences) a été choisie dans le plan passant exactement sur le haut de la marche (comme si on mettait la frange blanche en haut de la marche). La valeur de la phase de l'onde réfléchie par la marche à cet endroit est de $\pi$ et non pas zéro en raison du déphasage introduit par la réflexion sur la marche en silicium.

**Interférogrammes de la PSM à 3 pas dans le cas polychromatique :**

La figure 3.7 montre les 3 interférogrammes résultant de l'interférence de l'onde réfléchie par une marche de largeur 1.2 µm, hauteur 100 nm et de l'onde référence pour trois déphasages différents. La source est constituée par plusieurs longueurs d'onde de 400 nm jusqu'à 800 nm avec un pas de 20 nm autour d'une longueur d'onde centrale $\lambda_0$ égale à 600 nm.

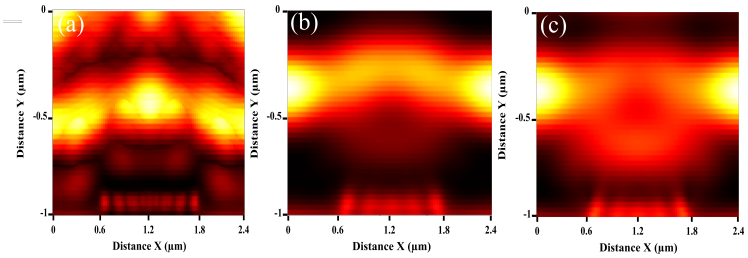



FIGURE 3.7 – Interférogrammes de la PSM à 3 pas. a) à $\pi/4$, b) à $3\pi/4$ et c) à $5\pi/4$. Marche $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm, $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm.

(a) **Effet de la longueur d'onde : Cas monochromatique**
Pour étudier l'influence de la longueur d'onde sur les oscillations de phase observées, dans cette partie nous calculons la phase du champ réfléchi par une marche de 1.2 µm de largeur et de 100 nm de hauteur pour des longueurs d'ondes de 400 nm, 600 nm et 800 nm. A chaque fois, la phase et la hauteur associées via la formule 3.1 sont représentées. Les figures 3.6, 3.8 a et 3.8 b représentent les courbes de phase du champ réfléchie à $\lambda = 600$ nm, $\lambda = 400$ nm et $\lambda = 800$ nm respectivement et les hauteurs associées. On peut remarquer que lorsque la longueur d'onde augmente, les oscillations au milieu de la marche

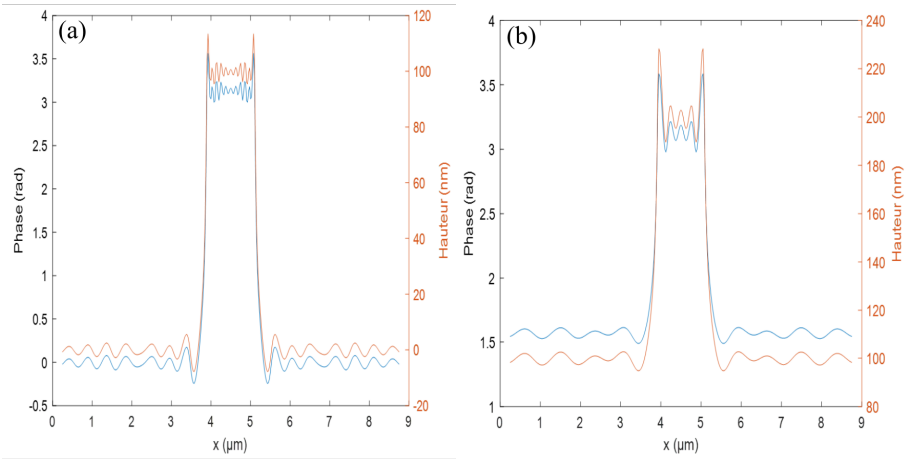



FIGURE 3.8 – Phase simulée. Marche : $L = 1.2\,\mu m$, $H = 100$ nm : a) $\lambda = 400$ nm ; b) $\lambda = 800$ nm. En bleu : la phase, en rouge : la hauteur correspondante.

ont une amplitude qui augmentent et une période qui décroît. L'oscillation a toujours une amplitude maximale au niveau du bord de la marche. En effet, on peut constater ce qui est connu expérimentalement comme l'effet de « batwings » sur les bords de la marche et qui est dû à la cohérence de la source [199].

### Comparaison entre le déphasage théorique et le déphasage moyen simulé

| *Longueur d'onde $\lambda$ (nm)* | *Déphasage théorique (rad)* | *Déphasage simulé (rad)* |
|---|---|---|
| 400 | 3,14 | Moyenne"marche" 3,1280-Moyenne"bas" -0,0016 ($\sim$ 3,13) |
| 600 | 2,094 | Moyenne"marche" 3,1208-Moyenne"bas" 1,0450 ($\sim$ 2,08) |
| 800 | 1,57 | Moyenne"marche" 3,1202-Moyenne"bas" 1,5695 ($\sim$ 1,55) |

TABLE 3.1 – Déphasage en fonction de la longueur d'onde pour une marche $H = 100$ nm et $L = 1.2\,\mu m$.

Le tableau 3.1 représente le déphasage de l'onde réfléchie par une marche de largeur $1.2\,\mu m$ et de hauteur 100 nm. Le déphasage est calculé entre le haut et le bas de la marche, le déphasage théorique est calculé à travers l'équation 3.1 et la phase est mesurée à partir des figures 3.6, 3.8 a et 3.8 b. La différence de phase est calculée entre la moyenne de variation de phase sur le haut de la marche et la moyenne de variations de phase du bas de la marche. Le résultat est une réduction dans l'amplitude des oscillations prêt du bord, les deux

grands pics étant réduits, ce qui montre une meilleure correspondance avec les résultats expérimentaux généralement obtenus par notre équipe [112].

(b) **Effet de la largeur spectrale de la source :**

Dans cette étude on éclaire notre marche de 1.2 µm de largeur et de 100 nm de hauteur par une source ayant des longueurs d'onde qui varie entre 400 nm et 800 nm avec un pas de 20 nm.

La figure 3.9 montre la réponse en phase simulée par PSM pour chaque longueur d'onde de 400 nm à 800 nm avec un pas de 20 nm pour la même marche. On remarque comme attendu que le déphasage de l'onde réfléchie par cette marche diminue quand la longueur d'onde augmente.

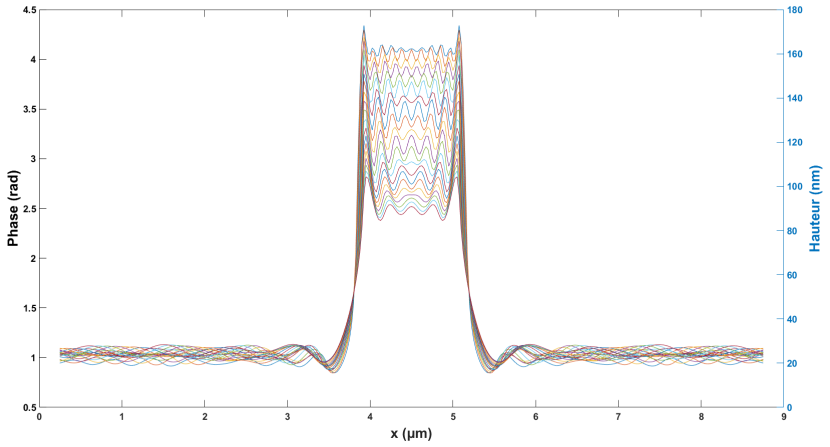



FIGURE 3.9 – Phase calculée par PSM (avec une longueur d'onde centrale $\lambda_0 = 600$ nm) pour chaque longueur d'onde $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm par pas de 20 nm. Marche $L = 1.2\,\mu$m, $H = 100$ nm. Au centre, courbe 800 nm en bas, courbe 400 nm en haut.

**Cas d'une source polychromatique de largeur spectrale $2.\sigma = 100$ nm**

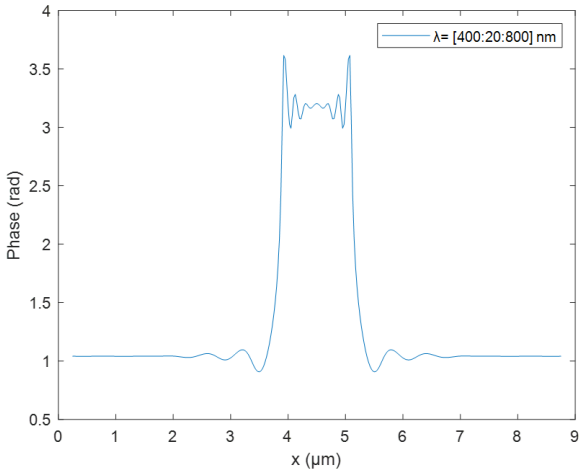



FIGURE 3.10 – Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm et $2.\sigma = 100$ nm. Marche $L = 1.2\,\mu$m, $H = 100$ nm.

**Cas d'une source polychromatique de largeur spectrale $2.\sigma = 200$ nm**

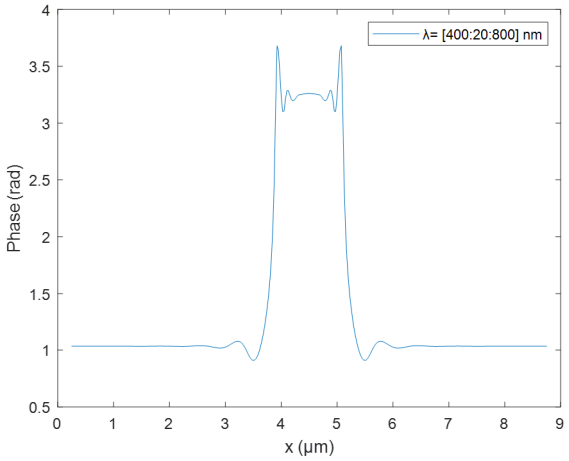



FIGURE 3.11 – Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma = 200$ nm. Marche $L = 1.2\,\mu$m, $H = 100$ nm.

**Cas d'une source polychromatique de largeur spectrale $2.\sigma = 400$ nm**

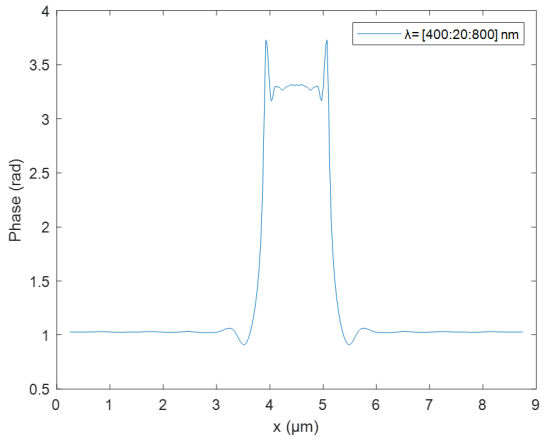



FIGURE 3.12 – Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma = 400$ nm. Marche $L = 1.2\,\mu$m, $H = 100$ nm.

Les figures 3.10, 3.11 et 3.12 avec une largeur spectrale $2.\sigma$ de respectivement 100 nm, 200 nm et 400 nm autour de $\lambda_0 = 600$ nm, montrent que la courbe de phase calculée par PSM de l'onde réfléchie par la marche dans le cas polychromatique se lissent d'autant plus qu'on augmente la largeur spectrale. Seule la phase exactement sur le bord de la marche n'obéit pas à cette loi. Il faut noter que la résolution spatiale du système imageur n'est pas prise en compte ici, cette dernière va être traitée en détail dans la section 3.3.3(d). C'est ce que nous attendions, mais qui, à notre connaissance, n'avait jamais été démontré. Nous pouvons également constater que le déphasage obtenu est correcte bien que obtenu par PSM avec une onde à large spectre. Ce que les expérimentateurs savent empiriquement est ici démontré théoriquement. Dans les études suivantes, nous avons choisi une largeur spectrale $2.\sigma = 200$ nm. La méthode de calcul de la phase avec une source à large spectre est désormais expliquée et validée. Nous l'avons fait sur une marche relativement large ($1.2\,\mu\text{m} = 2.\lambda_0$). Les résultats suivants représentent l'effet de la variation des paramètres géométriques de la marche tels que sa hauteur et sa largeur. Ce qui est l'objectif de ce chapitre, en particulier quand la largeur devient comparable ou inférieure à la longueur d'onde.

### 3.2.6 Étude théorique de l'influence des paramètres géométriques de la marche sur la phase mesurée

Dans cette étude nous avons changé la hauteur et la largeur de la marche. La phase est calculée par PSM avec $\lambda_0 = 600$ nm. La source à un spectre gaussien de 400 à 800 nm, centré sur $\lambda_0 = 600$ nm avec $2.\sigma = 200$ nm (calcul avec un pas spectrale de 20 nm). Pour chaque largeur de marche $L$ (1500 nm, 1200 nm, 800 nm, 600 nm, 400 nm, 300 nm, 200 nm, 100 nm), la courbe de phase simulée est représentée sur une même figure pour différentes hauteurs de la marche $H$ (50 nm, 100 nm, 150 nm, 200 nm et 250 nm). Pour des largeurs de marche simulée de 400 nm et plus (figure 3.14 et 3.13), nous pouvons constater qu'il y a une bonne proportionnalité entre le déphasage calculée entre le centre de la marche et le bord de la zone de calcul (niveau du substrat).

Cette différence de phase est proportionnelle à la hauteur comme cela est prédit par la relation 3.1. Il y a des oscillations de la phase au niveau du haut de la marche due à la diffraction mais il y en a aussi latéralement au niveau du bas de la marche. Ces oscillations de la phase, de part et d'autre de la marche, concernent une zone d'autant plus large que la marche est haute. Figure 3.13 (e), la phase simulée sur la marche de hauteur 50 nm a des oscillations sur moins de 1 µm de part et d'autre alors que les oscillations s'étendent sur près de 2 µm de part et d'autre de la marche de 250 nm de haut. Cet ordre de grandeur reste le même en absolu quel que soit la largeur de la marche (de 400 à 1500 nm), mais peut être considéré comme problématique pour les marches de faibles largeurs s'il est ramené en % de cette largeur de marche. Cela revient à la problématique connue de la mesure d'objets à grand facteur de forme.

En outre il faut remarquer que si ces calculs tiennent en compte les principes de la PSM et de la largeur spectrale de la source, ils ne tiennent pas en compte la résolution latérale limitée du système imageur. Les interférogrammes devraient alors être convolués par la réponse impulsionnelle de ce dernier, ce qui aura pour effet d'atténuer les hautes fréquences spatiales latérales. Nous allons continuer l'étude sur des marches de largeurs encore plus inférieures aux valeurs utilisées jusqu'à présent.

**Pour L = 800 nm, 600 nm, 400 nm.**

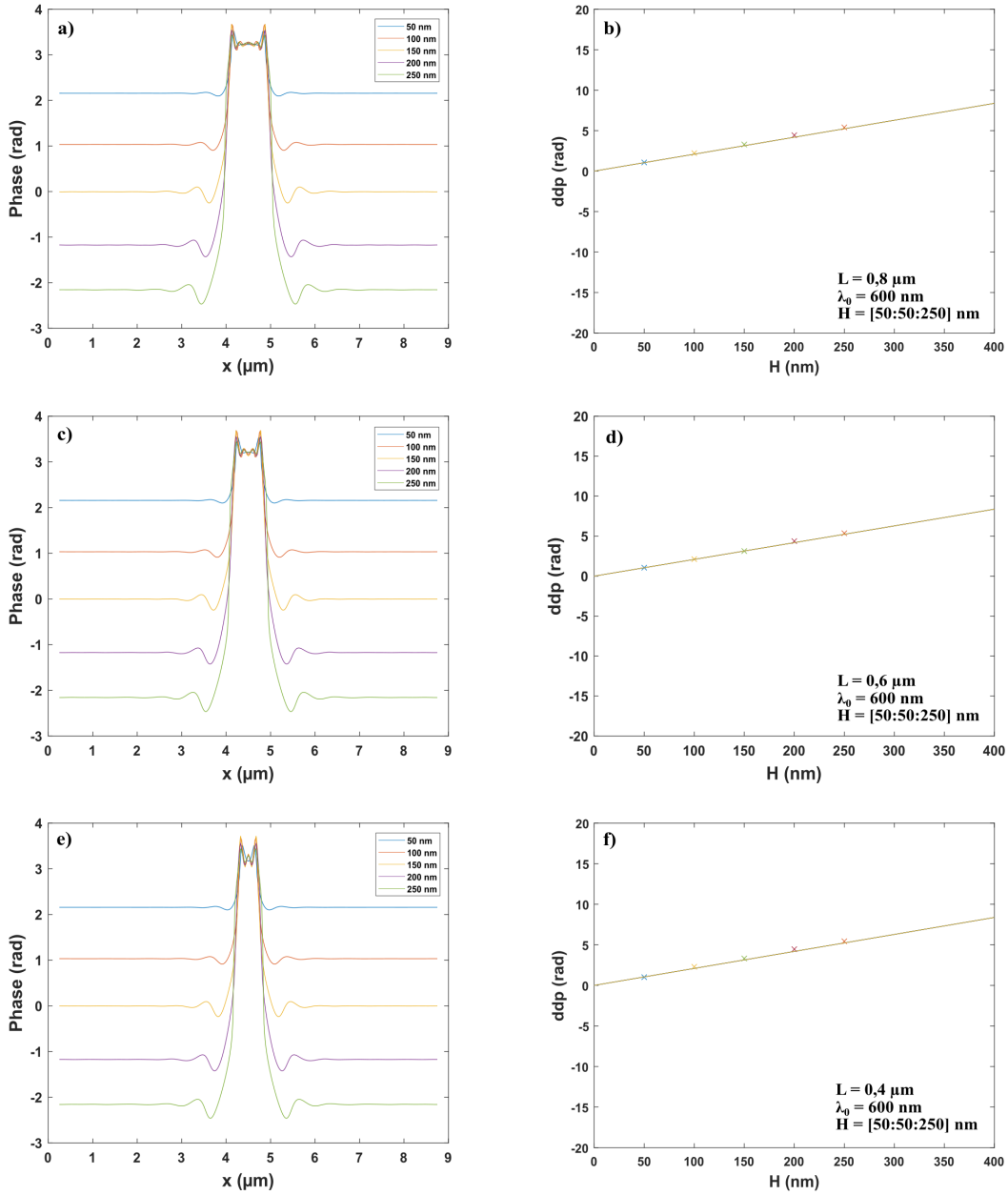



FIGURE 3.13 – Marches de largeurs $L = 800$ nm, 600 nm et 400 nm. Source à spectre gaussien de 400 nm à 800 nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) et e) Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) en fonction de la hauteur des marches. b), d) et f) Différence de phase du champ réfléchi par les marches en fonction de leur hauteur.

**Pour L = 1500 nm et L = 1200 nm.**

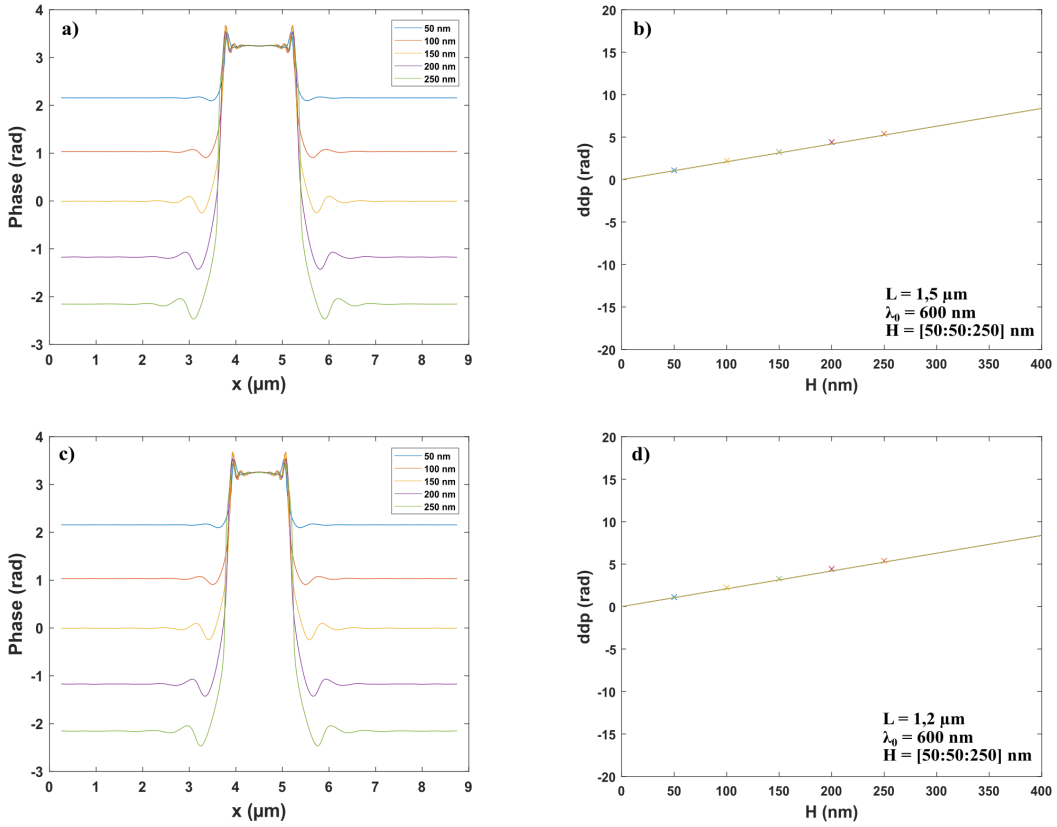



FIGURE 3.14 – Marche de largeur $L = 1500$ nm et $L = 1200$ nm. Source à spectre gaussien de 400 nm à 800 nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) en fonction de la hauteur des marches. b), d) Différence de phase du champ réfléchi par les marches en fonction de leur hauteur.

**Pour L = 300 nm, 200 nm, 100 nm.**

Les figures 3.15 (b), 3.15 (d) et 3.15 (f) montrent la comparaison entre le déphasage calculé théoriquement avec la formule (3.1) et le déphasage obtenu en simulation en utilisant la PSM pour des marches de largeur 300 nm, 200 nm et 100 nm. Le déphasage est ici la différence entre la phase calculée au centre de la marche et celle calculée au bord de la zone de calcul (au niveau du substrat).

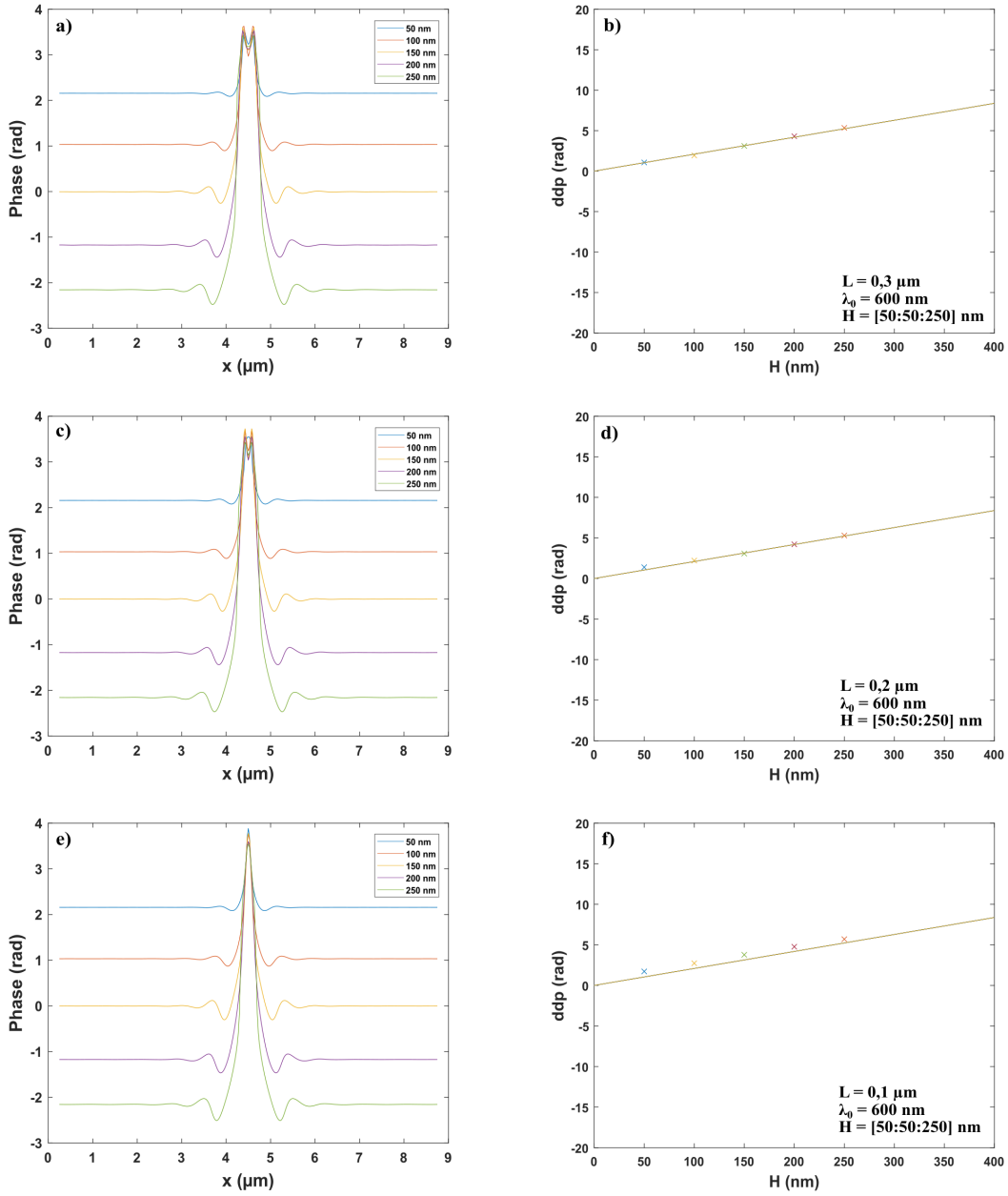



FIGURE 3.15 – Marches de largeurs $L = 300$ nm, 200 nm et 100 nm. Source à spectre gaussien de 400 nm à 800 nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) et e) Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) en fonction de la hauteur des marches. b), d) et f) Différence de phase du champ réfléchi par les marches en fonction de leur hauteur.

Les résultats des figures 3.15 (b) et 3.15 (d) semblent être correctes mais ne le sont pas. Les objets de cette largeur ne seraient en réalité pas distingués sans microsphère. Au mieux un seul point serait mesuré pour l'ensemble de la marche. Par contre pour la marche de 100 nm de large, le déphasage sur la figure 3.15 (f), même sans limite de résolution, n'est plus égal à sa valeur théorique de hauteur.

A Partir d'une largeur de marche de 300 nm, la notion d'un plateau de phase en haut de la marche n'apparaît plus alors même que la résolution latérale du système imageur n'est pas prise en compte. La réponse en phase ne ressemble plus un créneau avec des perturbations mais un pic d'autant plus large que la marche est haute. On ne peut plus retrouver la vraie valeur de la largeur de la marche mesurée, même avec une lentille sans limite de diffraction.

Il faut noter que le prélèvement de la phase est fait en haut de la marche, c'est-à-dire en champ proche. L'intensité a été prise comme le carré du champ. Cependant il est possible que les ondes évanescentes contribuent à l'interférogramme simulé alors qu'il n'est pas certains qu'elles contribuent à la mesure en champ lointain. Une partie du champ électrique en champ proche est fait d'ondes évanescentes qui éventuellement ne seront pas transformées en champ lointain. Or, comme on est très proche de l'objet, avec des formes anguleuses sur les bords, il y a forcément des ondes évanescentes. Une solution pour ne tenir compte que des ondes propagatives, seraient de calculer l'interférogramme à partir du module du vecteur de Poynting. Cela est basé sur le fait que le module de ce dernier est nul pour les ondes évanescentes. Cela n'est en réalité pas si évident car d'après l'étude présentée dans le chapitre 2, une microsphère peut transformer ces ondes évanescentes du champ proche en ondes propagatives mesurables en champ lointain.

Après avoir étudié la phase sur une simple marche, la prochaine étape est de traiter le cas d'un réseau, une structure qui est plus proche de la forme de l'étalon Symetrics et tenter de tenir compte de la résolution spatiale finie du système imageur.

## 3.3 Calcul de la réponse en phase d'un réseau sub-longueur d'onde

### 3.3.1 Objectif de l'étude

L'objectif de l'étude d'un réseau est comme pour l'étude de la marche en silicium d'étudier l'évolution de la réponse en phase pour un motif dont la dimension latérale devient comparable et plus petite que la longueur d'onde. Cette fois-ci, l'échantillon

sera plus proche de ceux que nous utilisons expérimentalement : une série de 9 réseaux en silicium avec des périodes entre 300 nm et 6 µm et des profondeurs entre 140 nm et 190 nm (l'étalon du type RS-N de Symetrics).

### 3.3.2 Description du modèle

Le modèle créé est proche de celui utilisé pour la marche, sauf que les PMLs latérales ont été retirées, afin d'avoir un réseau de diffraction de type créneau. Une seule période de créneau est considérée, déposée sur un substrat en silicium (modélisé par des conditions d'impédance sur la ligne verte avec pointillées). Le but de ce modèle est de simuler la phase du champ réfléchi par le réseau en silicium en fonction de sa période et hauteur. Le réseau est éclairé par une onde plane située en haut avec une longueur d'onde qui varie entre 400 nm et 800 nm avec un pas de 20 nm.

### 3.3.3 Étude théorique de l'influence des paramètres optiques et géométriques du réseau sur la phase mesurée

(a) **Influence de la longueur d'onde :**

Dans cette première étude, un réseau de 2.4 µm de période (L= 1.2 µm) et de

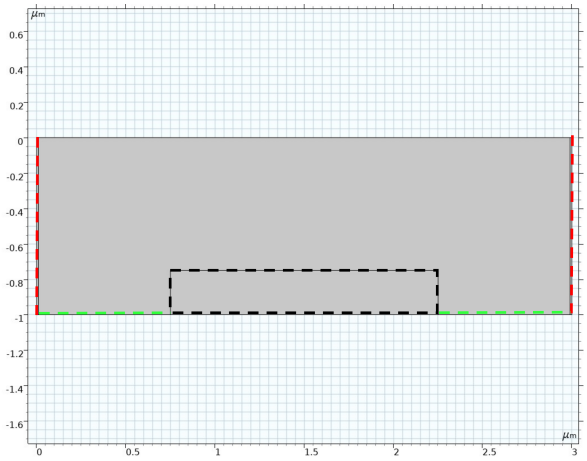



FIGURE 3.16 – Géométrie et conditions aux limites du réseau étudié. Ligne verte : substrat en silicium (conditions aux limites d'impédances). Rectangle noir : partie haute de la période du réseau carré en silicium. Lignes rouges : conditions aux limites périodiques. L'onde incidente plane vient du haut (conditions aux limites de diffusion).

100 nm de hauteur est éclairé par une onde plane avec des longueurs d'ondes qui varient entre 400 nm et 800 nm.

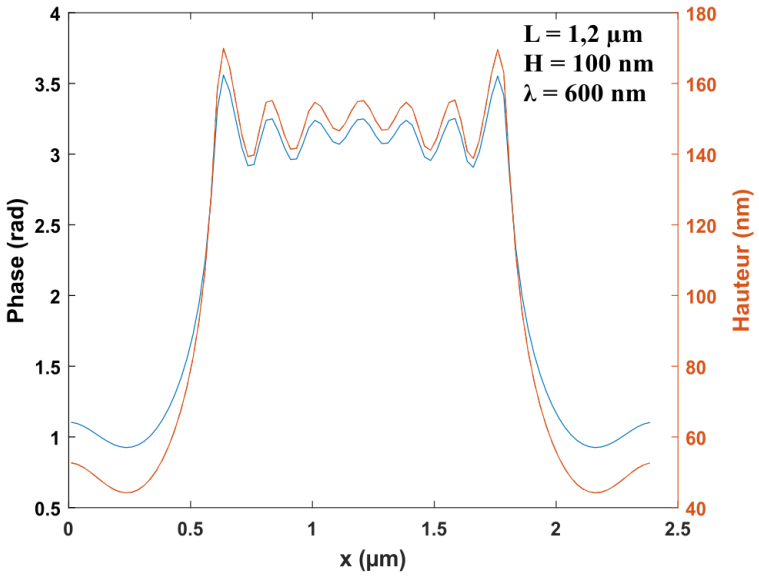



FIGURE 3.17 – Phase de l'onde réfléchie prise sur le plan passant par le haut du réseau et hauteur théorique correspondante. $\lambda = 600$ nm, H = 100 nm, période = 2L avec L = 1.2 µm.

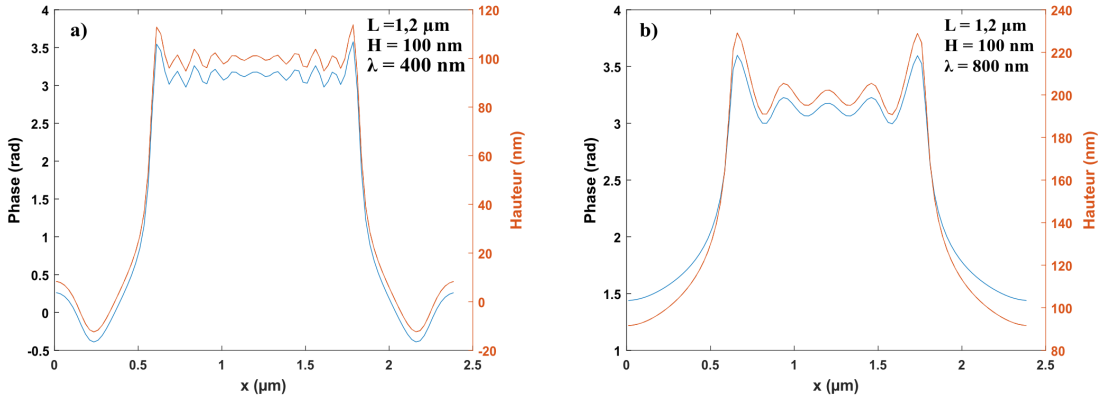



FIGURE 3.18 – Phase simulée (en bleu) et hauteur théorique correspondante (en rouge). Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm : $\lambda = 400$ nm à gauche et 800 nm à droite.

Les résultats de la réponse en phase dans les Figure 3.17 et 3.18 comportent des fortes oscillations en particulier au niveau des formes anguleuses du réseau, comme pour le cas de la marche en éclairage monochromatique.

**Comparaison entre le déphasage théorique et le déphasage moyen simulé**

| ***Longueur d'onde $\lambda$ (nm)*** | ***Déphasage théorique (rad)*** | ***Déphasage simulé (rad)*** |
|---|---|---|
| 400 | 3,14 | $\sim 3$ |
| 600 | 2,094 | $\sim 2$ |
| 800 | 1,57 | $\sim 1{,}6$ |

TABLE 3.2 – Déphasage en fonction de la longueur d'onde pour un réseau de période P = 2L avec H = 100 nm et L = 1.2 µm.

On remarque que le déphasage simulé par notre modèle est en bon accord avec la théorie comme le tableau 3.2 le montre.

(b) **Influence de la largeur spectrale 2.$\sigma$ :**
On éclaire notre réseau de 2.4 µm de période et de 100 nm de hauteur par N ondes monochromatiques avec des longueurs d'onde allant de 400 nm à 800 nm par pas de 20 nm. Les N réponses en phases sont présentées figure 3.19.

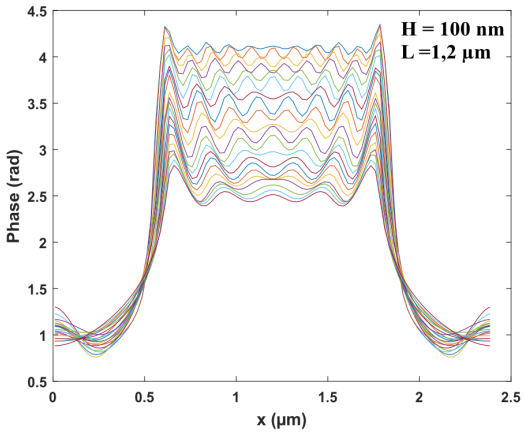



FIGURE 3.19 – Phase simulée pour chaque longueur d'onde $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm par pas de 20 nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm. Courbe au centre $\lambda = 600nm$, courbe en bas $\lambda = 800nm$, courbe en haut $\lambda = 400nm$.

**Cas d'une source polychromatique de largeur spectrale $2.\sigma = 100$ nm**

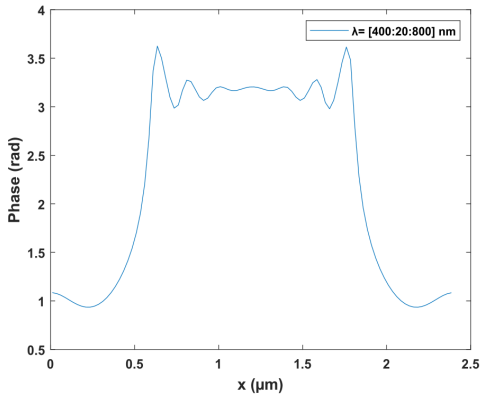



FIGURE 3.20 – Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique $\lambda$ entre 400 nm et 800 nm et $2.\sigma = 100$ nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm.

La prochaine étape est d'éclairer le réseau de période de 2.4 µm et de 100 nm de hauteur par une onde polychromatique de spectre gaussien avec une longueur d'onde centrale de 600 nm et de largeur spectrale de $2.\sigma$. Comme pour l'étude de la marche, la phase est simulée numériquement par PSM après calcul numérique des trois interférogrammes. Les résultats de l'équivalent de la somme pondérée des champs considérés sont montrés sur la figure 3.20.

**Cas d'une source polychromatique de largeur spectrale $2.\sigma = 200$ nm.**

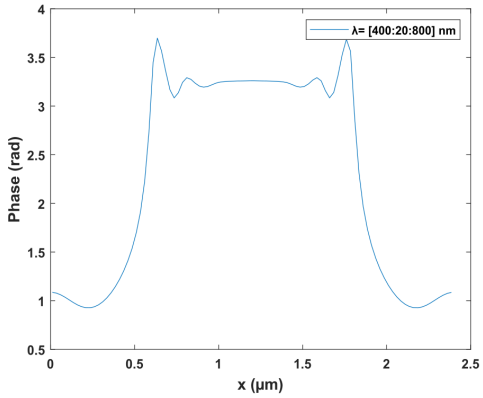



FIGURE 3.21 – Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma = 200$ nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm.

**Cas d'une source polychromatique de largeur spectrale $2.\sigma = 400$ nm.**

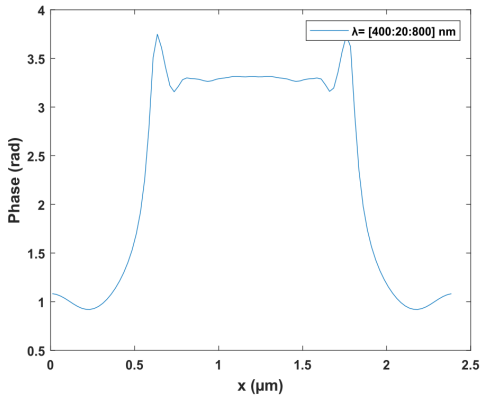



FIGURE 3.22 – Phase simulée par PSM (avec $\lambda_0 = 600$ nm) pour une source polychromatique avec $\lambda$ de 400 nm à 800 nm et $2.\sigma = 400$ nm. Réseau de période 2L avec L = 1.2 µm, H = 100 nm.

Les figures 3.20, 3.21 et 3.22 confirment que la largeur spectrale de la source contribue à réduire les oscillations de la réponse en phase de l'échantillon (ici

le réseau), sans nuire ni fausser l'évaluation de la hauteur $H$ en tout point. Au lieu de parler de "Batwings" sur le bord, dans le cas d'un réseau, nous pouvons parler d'une forme de "Batman" (!).

(c) **Influence de la période et de la hauteur du réseau sur la mesure de la phase :**

Dans cette étude nous avons changé la hauteur et la période du réseau. La réponse en phase est simulée en tout point en utilisant la PSM et puis le déphasage est calculée entre le centre de la partie haute du réseau et celle de la partie basse.

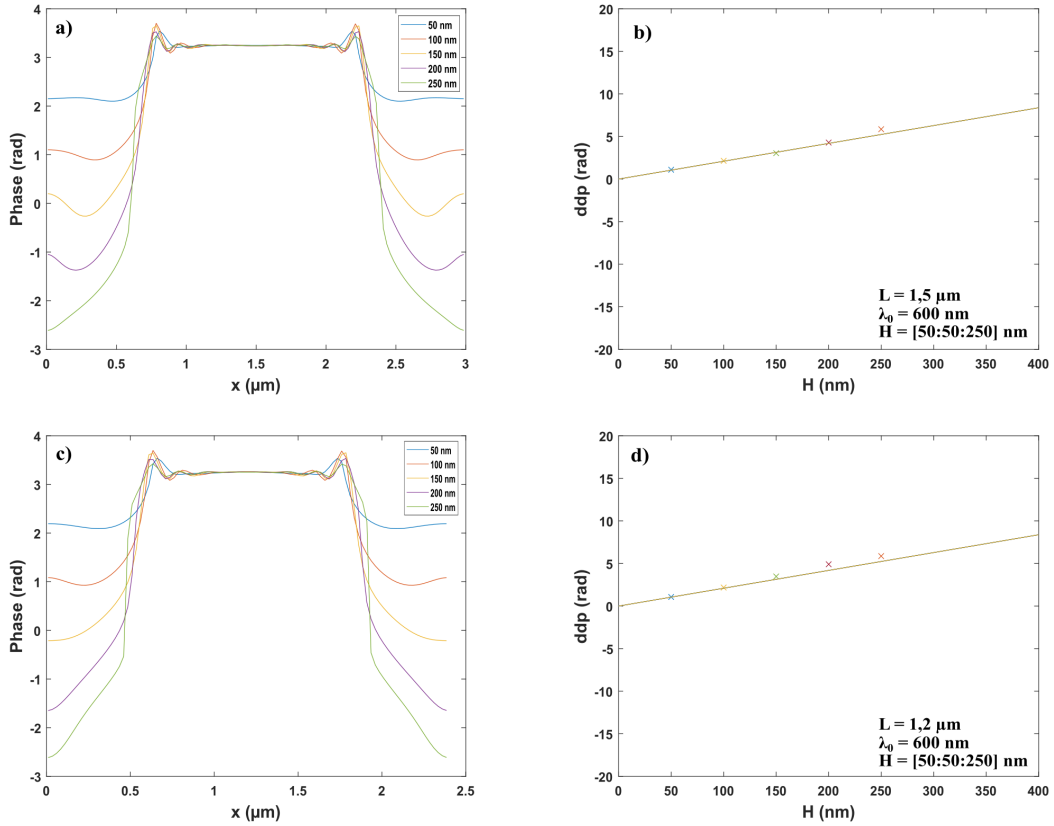



FIGURE 3.23 – Réseaux de période $2L$ avec $L = 1500$ nm et $L = 1200$ nm. Source à spectre gaussien, $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. a), c) Réponse en phase simulée par PSM en fonction de la hauteur du réseau. b), d) Différence de phase entre centre de la partie haute et basse des réseaux en fonction de leur hauteur.

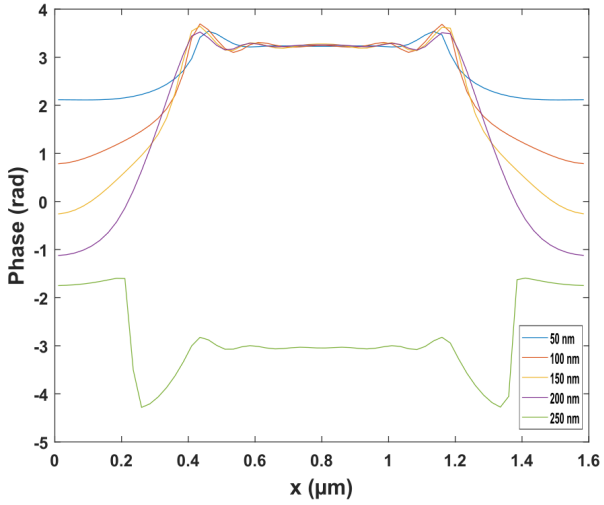



FIGURE 3.24 – Réseaux de période $2L$ avec $L = 800$ nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. Phase simulée par PSM en fonction de la hauteur du réseau.

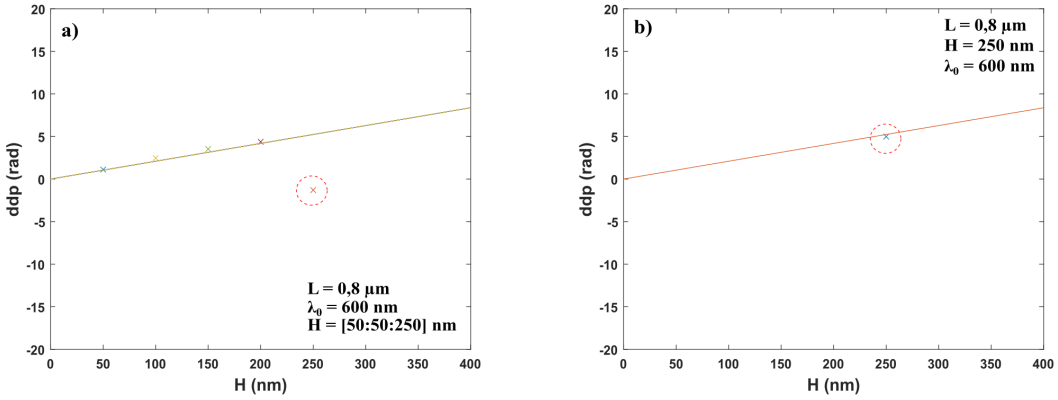



FIGURE 3.25 – Réseaux de période $2L$ avec $L = 800$ nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. a) Différence de phase du champ réfléchi par les réseaux en fonction de leur hauteur. b) Idem modulo 2 $\pi$ pour le réseau avec $L = 800$ nm et $H = 250$ nm.

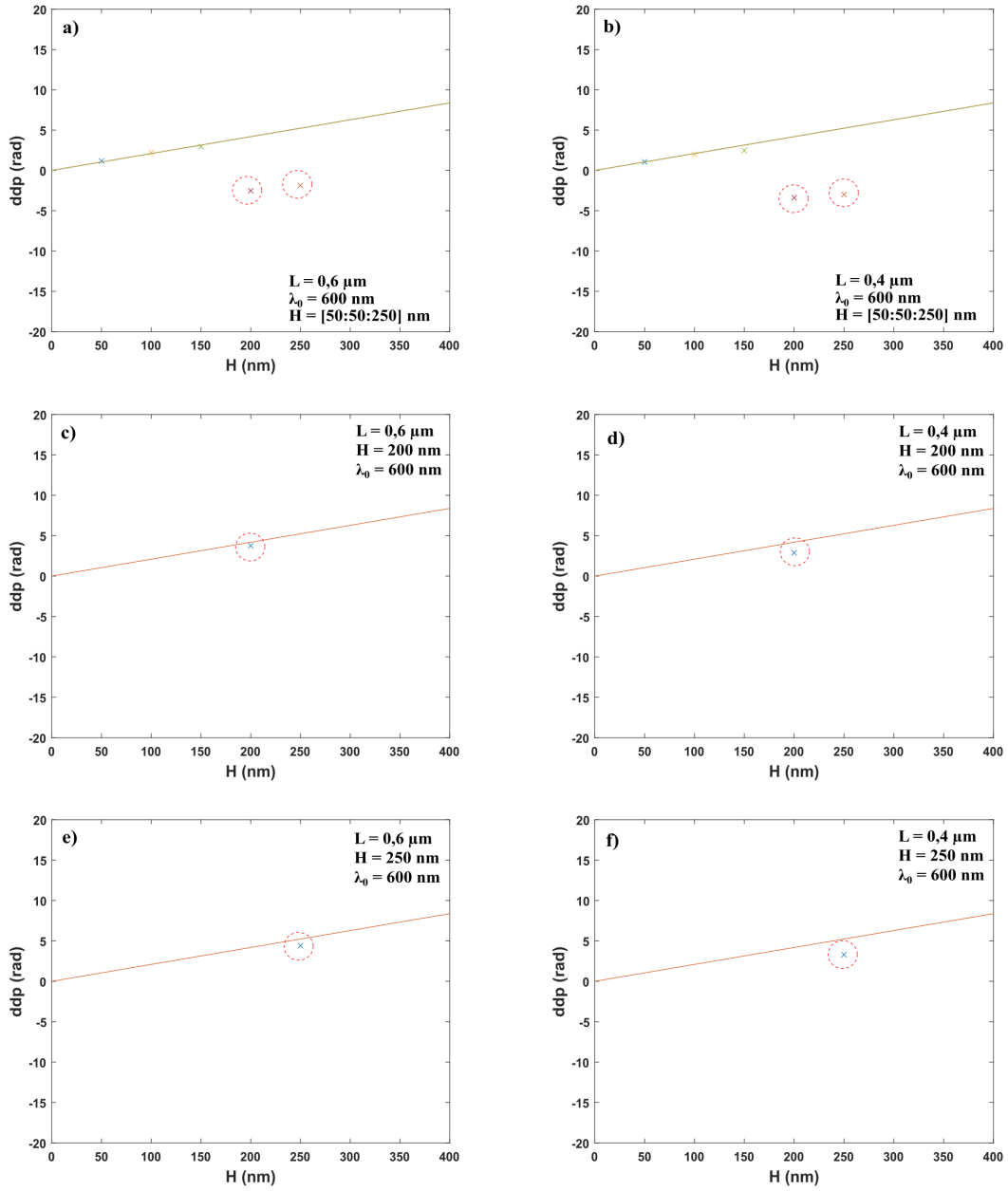



FIGURE 3.26 – Réseaux de période $2L$ avec $L = 600$ nm et 400 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 200$ nm. a) et b) Différence de phase du champ réfléchi par les réseaux en fonction de leur hauteur. c) et d) Idem modulo 2 $\pi$ pour le réseau avec $L = 600$ nm et $L = 400$ nm et $H = 200$ nm. e) et f) Idem modulo 2 $\pi$ pour le réseau avec $L = 600$ nm et $L = 400$ nm et $H = 250$ nm.

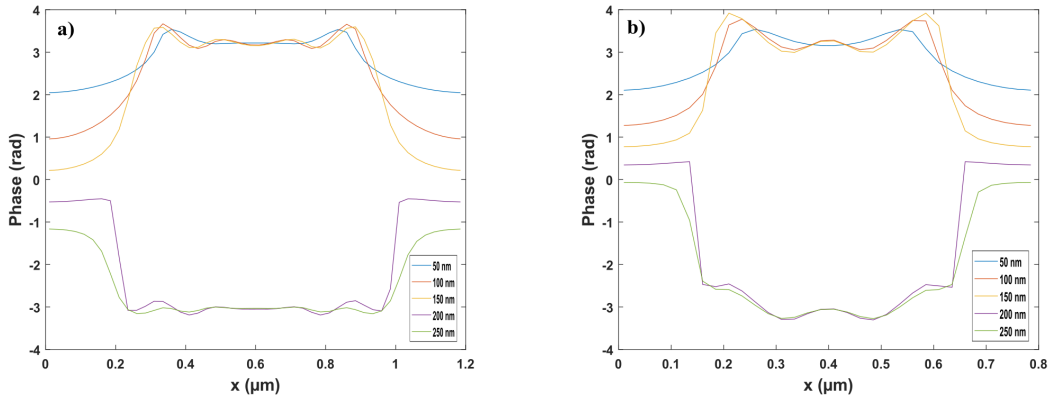



FIGURE 3.27 – Réseaux de période $2L$ avec $L$ = 600 nm et 400 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0$ = 600 nm, $2.\sigma$ = 200 nm. a) et b) Phase simulée par PSM en fonction de la hauteur des réseaux.

Avant de faire une analyse globale de ces résultats, il est pertinent de considérer la question des sauts de phase qui peuvent avoir lieu. La figure 3.24 montre la phase du champ réfléchie par le réseau de 1,6 $\mu m$ de période pour différentes valeurs de sa hauteur : H=50 nm, 100 nm, 150 nm, 200 nm et 250 nm. Le réseau est éclairé par une onde polychromatique avec un spectre gaussien avec $\lambda_0$ = 600 nm et $\sigma = 200nm$ avec un pas de 20 nm de longueur d'onde. On peut remarquer qu'il y a un saut de phase de $2\pi$ pour la valeur $H$=250 nm. Les figures 3.25a et 3.25b montrent la différence de phase entre les parties centrales haute et basse du réseau en fonction de sa hauteur avant et après correction de saut de phase. Ce saut de phase est une erreur classique de la PSM dû à la fonction d'arctangent. La méthode du déroulement de phase ("phase unwrapping") permet de corriger l'erreur, ce qui a été faite manuellement dans les résultats montrés.

De même pour les figures 3.26a, 3.27a, 3.27c et 3.27e on peut observer des sauts de phase pour deux valeurs de hauteur, $H$ = 250 nm et 200 nm et la largeur de $L$ = 600 nm, ce qui ont été également corrigés manuellement.

Dans les figures 3.26b, 3.27b, 3.27d et 3.27f, la marche à une largeur de 400 nm. On observe aussi le saut de phase pour les hauteurs H=200 nm et H=250 nm.

Avec les sauts de phase corrigés, les figures 3.23, 3.25 et 3.27 montrent que pour une période $2L$ supérieure à 800 nm ($L = 400nm$) le déphasage mesuré est proportionnel à la hauteur du réseau et que la loi classique reliant déphasage

et hauteur est respectée. On peut remarquer cependant, que plus la période du réseau est petite plus le léger écart entre formule classique et phase mesurée croît.

**Réseaux de période $2L$ avec $L$ = 300 nm, 200 nm, 100 nm**

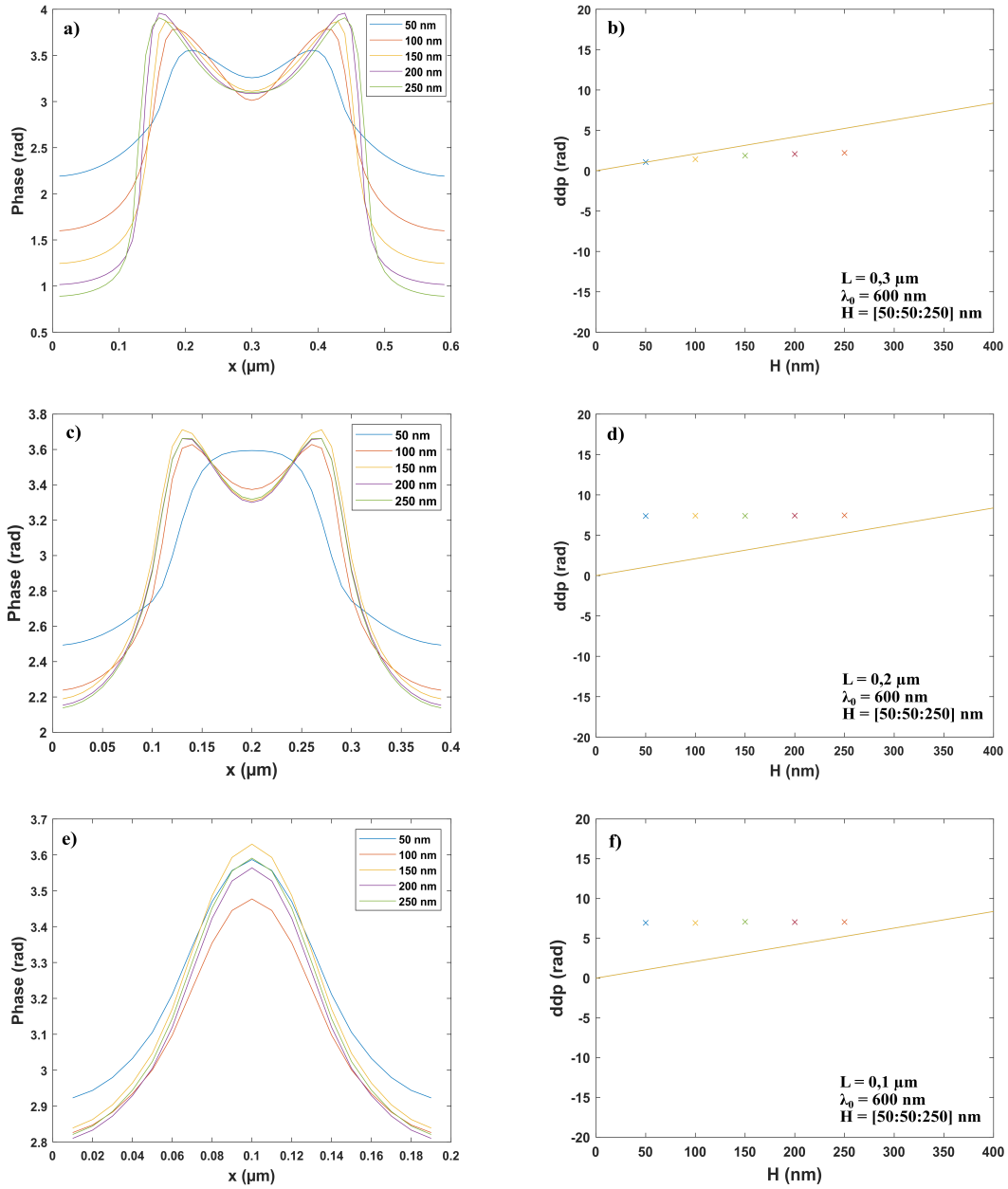



FIGURE 3.28 – Réseaux de période $2L$ avec largeur $L$ = 300 nm, 200 nm et 100 nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0$ = 600 nm, $2.\sigma$ = 200 nm. a), c) et e) Phase simulée par PSM en fonction de la hauteur des réseaux. b), d) et f) Différence de phase entre parties haute et basse des réseaux en fonction de leurs hauteurs.

Pour les cas avec des motifs de dimensions plus petites, de période $2L$ avec $L$ = 300 nm, 200 nm, 100 nm, le maillage spatial sous Comsol a été contraint à être inférieur à 10 nm afin de minimiser les erreurs numériques.

La figure 3.28 montre la phase des réseaux de période $2L$ avec $L$ = 300 nm, 200 nm et 100 nm pour différentes hauteurs (50 nm, 100 nm, 150 nm, 200 nm et de 250 nm). On constate que la phase au centre des parties haute et basse du réseau est désormais de plus en plus perturbée par les oscillations dues de la diffraction par les bords anguleux du réseaux quand la période de celui décroît. En effet quand on diminue la largeur du réseau les bords anguleux se rapprochent, ce qui augmente la perturbation de la phase du champ réfléchi par le réseau. La conséquence, visible sur les figures, est que la différence de phase mesurée entre le milieu de la partie haute du réseau et le milieu de la partie basse n'est plus proportionnelle à la hauteur du réseau. Pour affiner cette frontière concernant les périodes du réseau permettant de lier phase et profondeur, il est nécessaire désormais de tenir compte de la limite de résolution du système imageur. .

(d) **Influence de la résolution spatiale et de la source de lumière sur la mesure de la phase :**

Pour rappel, l'objectif des telles mesures de la phase est de reconstruire le profil d'un objet par PSM. Dans ce cas, l'objet est un réseau en créneau constitué d'un haut plat et d'un bas plat. Les simulations numériques présentées dans les sections précédentes montrent la distribution de la phase du champ réfléchi par les différents réseaux étudiés. Jusque là les simulations n'ont pas tenu compte de la limite de résolution du système imageur. Dans cette section, on va étudier l'influence de la résolution spatiale du système qui image les interférogrammes sur l'évaluation de la réponse en phase du réseau pour savoir à partir de quelle période de réseau la loi classique entre phase et profondeur ne s'applique plus et comment traiter ces cas dans la pratique.

### Résolution spatiale et PSF

Il est largement connu que l'image d'un source ponctuelle à travers un système d'imagerie optique est une tache produite par la limite de diffraction. Mathématiquement, l'image d'une source ponctuelle est le produit de convolution de la fonction objet avec la fonction d'étalement du point, PSF pour "Point Spread Function", du système d'imagerie. La PSF peut être calculée théoriquement en tenant en compte des conditions expérimentales telles que l'ouverture numérique des objectifs, la longueur d'onde d'illumination, l'indice

de réfraction du milieu d'immersion, etc. La PSF, dont dépend la résolution du système d'imagerie optique, peut également être déterminée expérimentalement en mesurant l'images de nanobilles fluorescentes de tailles inférieures à la résolution spatiale du système, par exemple nettement inférieures à la longueur d'onde d'illumination. Leurs images sont des PSF expérimentales. La largeur à mi-hauteur du profil d'intensité de la PSF expérimentale est considéré dans notre cas comme la résolution spatiale du système d'imagerie.
En lumière monochromatique spatialement cohérente, la PSF d'une lentille sans aberration s'exprime à l'aide d'une fonction de Bessel de première espèce et d'ordre 1. En lumière polychromatique, ce sera plutôt une fonction gaussienne, qui peut être vue comme la moyenne de toutes les fonctions de Bessel pour chaque longueur d'onde. Dans notre cas, nous avons approximé la PSF de notre système imageur (objectif, lentille relai et éventuellement microsphère) par une fonction gaussienne dont la largeur à mi-hauteur correspondait à la résolution supposée de notre système imageur (avec ou sans bille).

### Description de la méthode

Notre chaîne de simulation pour reconstruire la phase en tenant compte de la résolution finie du système imageur est constituée de trois étapes. La première étape est de récupérer le champ réfléchi simulé sous COMSOL v5.5. La deuxième étape est de calculer les 3 interférogrammes correspondant à l'interférence avec un bras de référence supposé idéal ; à chaque fois avec un décalage de phase différent (voir méthode PSM). La troisième étape, avant d'appliquer la PSM pour reconstruire la phase, est la convolution des interférogrammes calculés par la PSF supposée de notre système imageur.

### Résolution spatiale théorique de 10 nm, 50 nm, 100 nm et 200 nm

La figure 3.29 montre la phase reconstruite par PSM d'un réseau de période 600 nm ($L = 300nm$) et hauteur 100 nm pour différentes résolutions spatiales supposées (10 nm, 50 nm, 100 nm et 200 nm).
Avec une résolution théorique élevée (10 nm), les oscillations de la phase déjà discutées sont visibles. Puis au fur et à mesure que la résolution se dégrade (50 nm, 100 nm puis 200 nm), ces oscillations sont réduites (effet de filtre passe bas) et les "batwings" disparaissent progressivement. Le déphasage mesuré entre les moyennes de la partie haute et centre de la partie basse reste de l'ordre de 2 rad pour les résolutions de 10 nm, 50 nm, 100 nm, correspondant à une hauteur théorique correcte de 100 nm. Les bords réels anguleux du réseau

sont par contre vus comme de plus en plus arrondis.
Pour 200 nm de résolution (figure 3.29 (d)), il n'y a plus d'oscillations de la phase, les bords sont vus comme arrondis, la mesure de phase tombe à 1,5 rad, correspondant à une valeur de 72 nm de profondeur, qui ne correspond plus à la vrai hauteur du réseau. Dans ce cas, on constate que la phase mesurée n'est plus en parfaite adéquation avec la profondeur à partir du moment ou la période est de l'ordre ou plus petite que deux fois la résolution latérale du système imageur (Période de 600 nm, résolution de 200 nm ici). Ceci est un phénomène connu ; il ne suffit pas qu'un microscope soit capable de résoudre un réseau pour qu'il soit capable de reconstruire son profil. Quand la période devient trop petite (ici comparable ou inférieur à la résolution latérale) des correctifs doivent être apportés [169].

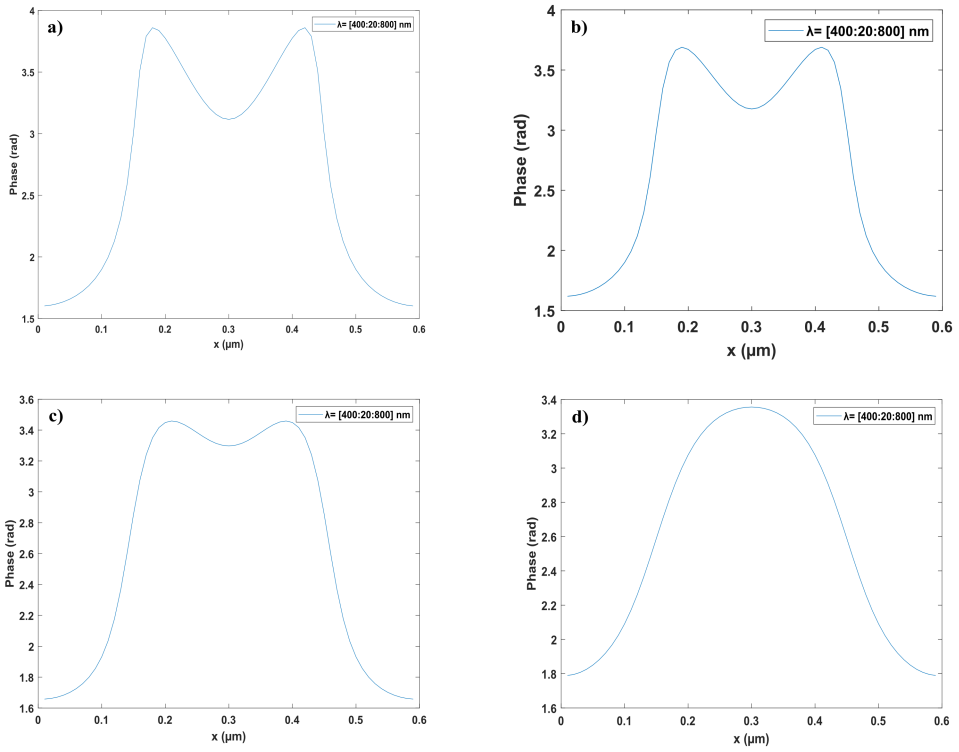



FIGURE 3.29 – Réseaux de période $2L$ avec $L = 300$ nm, $H = 100$ nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 100$ nm. Phase simulée par PSM pour différentes résolutions supposées du système imageur. a) Résolution spatiale de 10 nm, b) 50 nm, c) 100 nm et d) 200 nm.

Puis, pour les résultats sur la figure 3.29 pour des résolutions spatiales supposées de 300 nm, 400 nm et 500 nm, les "batwings" ne sont plus observés et la valeur de la phase est de plus en plus erronée. La phase mesurée ne cesse de décroître alors que la hauteur du réseau est la même (100 nm). Pour une résolution spatiale de 600 nm, figure 3.30(h) la différence de phase mesurée entre les parties haute et basse du réseau est proche de zéro et le résultat n'est plus significatif.

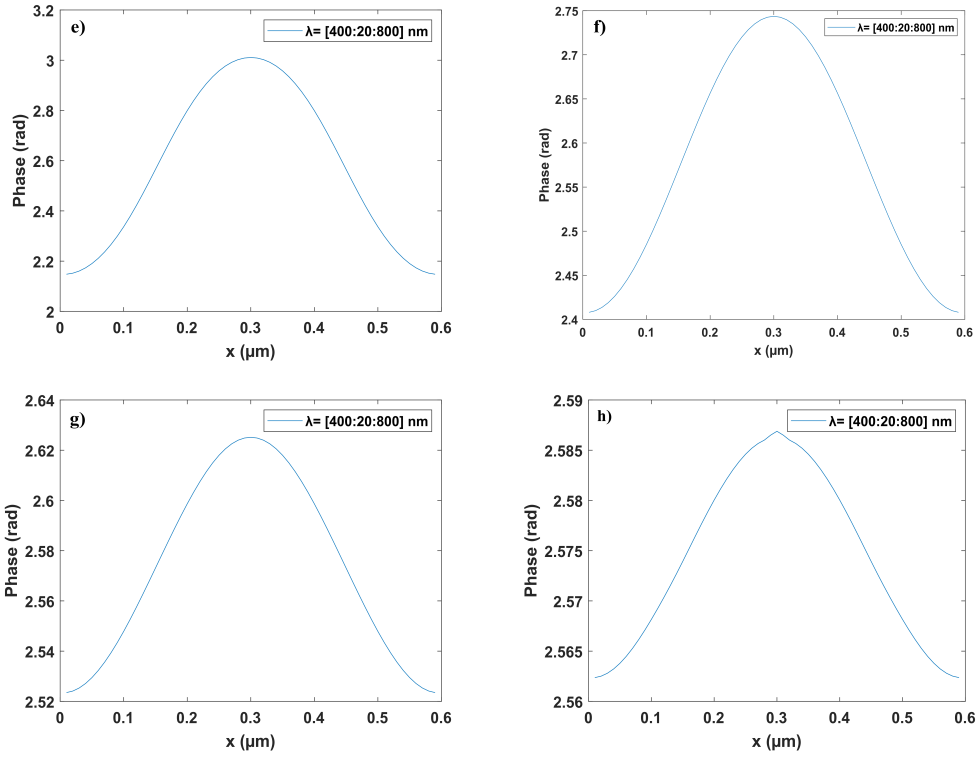



FIGURE 3.30 – Réseau de période $2L$ avec $L = 300$ nm, $H = 100$ nm. Source à spectre gaussien avec $\lambda_0 = 600$ nm, $2.\sigma = 100$ nm. Phase simulée par PSM pour différentes résolutions supposées du système imageur. e) Résolution spatiale de 300 nm, f) 400 nm, g) 500 nm et h) 600 nm.

Maintenant que notre modèle théorique est suffisamment précis pour être considéré comme réaliste, tenant en compte la largeur spectrale et la limite de résolution du système imageur, une comparaison avec les résultats de l'expérience est possible. Parmi les travaux expérimentaux réalisés par notre équipe, l'un des plus petit profils

mesuré est celui d'un réseau carré en silicium de période de 400 nm et d'une profondeur d'environ 95 nm (étalon Symetrics) [1]. Il a été réalisé avec un microscope interférométrique de configuration Linnik (le Leitz Linnik) à travers une microsphère de verre sodocalcique de 24 $\mu m$ de diamètre en utilisant la méthode de la PSM en lumière blanche ($\lambda_0$ 520 nm). La hauteur mesurée a été de l'ordre de 30 nm, au lieu de 95 nm attendue. Cela est en accord avec nos prédictions théoriques : quand la période du réseau est comparable ou plus petite que deux fois la résolution latérale, la mesure de phase ne correspond plus parfaitement à la profondeur.

Le modèle de mesure de phase développé dans ces travaux permet de comprendre et de prédire l'erreur de phase sur des mesures par PSM en lumière polychromatique avec un système hautement résolu, par exemple à travers une microsphère. Mais au delà, il permet potentiellement de corriger cet erreur en faisant le lien entre la phase mesurée et la profondeur voire le profil réel. Une telle correction nécessite d'avoir quelques connaissances à préalable comme le matériau de l'échantillon et peut-être la famille de structures étudiées, mais ceci est souvent le cas pour un très grand nombre d'applications.

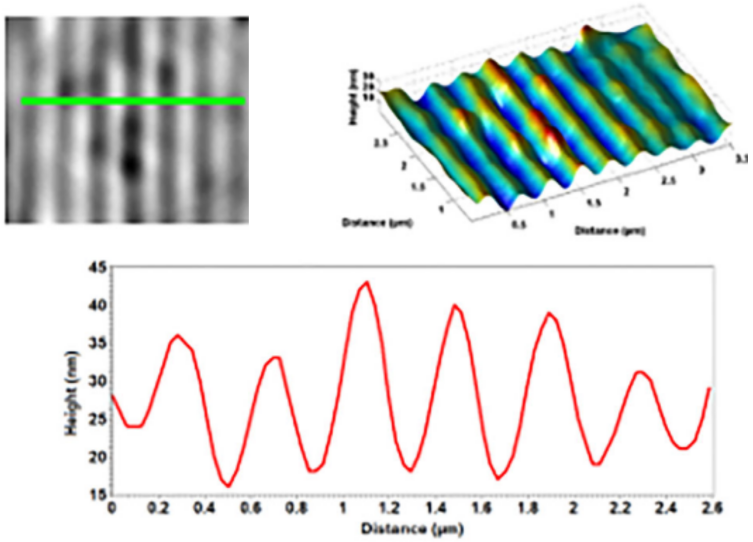



FIGURE 3.31 – Profil mesurée d'un réseau carré en silicium de période $2L = 400$ nm ($L = 200$ nm), H = 95 nm par PSM à travers une micro-bille en verre sodocalcique de diamètre 24 $\mu m$. Source de lumière blanche $\lambda_0 = 520$ nm. [1]

## 3.4 Conclusion

Ce chapitre a été consacré à l'étude du cas spécifique de la réponse en phase de profil dont les dimensions caractéristiques sont proches de ou plus petites que la longueur d'onde. La modélisation supposant une lumière parfaitement cohérente est difficilement exploitable pour simuler la réponse en phase d'un échantillon car elle comporte de fortes oscillations de la phase dues aux effets de la diffraction. Nous avons montré de façon théorique pour la première fois à notre connaissance que la faible cohérence temporelle permet de réduire ces variations dans l'espace. Nous avons aussi indirectement montré théoriquement la pertinence d'utiliser la PSM avec une source à large spectre, ce que les expérimentateurs savent empiriquement. Concernant les motifs sub-diffractifs, nos simulations montrent que les fluctuations de phase ne sont plus assez réduites par la baisse de cohérence temporelle. Une modélisation permettant de tenir compte de la cohérence spatiale serait sans soute souhaitable.
Nous avons développé un modèle de la mesure de profil par PSM tenant compte de la résolution latérale du système imageur (objectif ou objectif + microbilles). On peut remarquer que lorsque la résolution spatiale est prise en considération, "les batwings" sont lissés. Ce modèle nous a également permis de confirmer que pour les motifs de périodes inférieures à deux fois la résolution latérale du système imageur, il est difficile d'évaluer leur largeur et que la valeur de phase mesurée n'est plus simplement proportionnelle à la hauteur des motifs. Le lien a été établi entre la profondeur réelle et la phase mesurée pour un réseau carré en silicium. Pour l'avenir, le couplage de la mesure à un outil de simulation rigoureux, avec des connaissances a priori sur l'échantillon, telle que celle du matériau le constituant, est une des solutions prometteuses pour retrouver le vrai profil sub-longueur d'onde.

Il est à noter que ce travail est loin d'être complet. Ils restent plusieurs points à adresser, notamment le rôle des ondes évanescentes et de la cohérence de la lumière dans le procédé d' imagerie à travers une microshpère.

# Conclusion générale et perspectives

Dans ce projet de recherche, l'objectif a été de contribuer à la compréhension du pouvoir de résolution accrue quand une microsphère est utilisée dans un microscope interférométrique pour la mesure de structures de surfaces avec des tailles en dessous de la longueur d'onde. Dans un premier temps, la recherche bibliographique a permis de cibler les références les plus pertinentes à la thématique de ce projet de recherche doctoral, notamment dans le domaine de l'imagerie sub-longueur d'onde et super résolue, en microscopie.

Le travail effectué a permis ensuite de développer un modèle de simulation numérique électromagnétique rigoureuse utilisant les logiciels COMSOL et Matlab pour pouvoir extraire des informations clés sur le couplage des ondes évanescentes avec les modes de galerie d'une microsphère et les ondes propagatives collectées en champ lointain. Ces résultats ont été valorisés dans un article. En parallèle, un montage expérimental optique a été développé : un prisme sur lequel des microsphères sont déposées est éclairé par un faisceau laser ; L'observation à travers un objectif de microscope a permis de valider expérimentalement la conversion de l'onde évanescente en ondes propagatives au niveau des microsphères comme prédit numériquement.

Au delà de la conversion des ondes évanescentes en ondes propagatives en champ lointain, c'est le processus imageant lui même que nous avons étudié numériquement. Pour cela nous avons introduit le concept de *source ponctuelle évanescente*. En effet une difficulté inhérente à une source ponctuelle classique est l'intrication entre composantes propagatives et ondes évanescentes. Une *source ponctuelle évanescente* est un maximum local du champ électromagnétique constitué uniquement d'ondes évanescentes. La comparaison des images virtuelles générées par deux sources ponctuelles, classiques et évanescentes permet de comprendre le rôle spécifique des ondes évanescentes et propagatives. Nos simulations ont montré que les ondes évanescentes seules, hors de toutes résonances, ne suffisaient pas à justifier la super-résolution. La réponse en phase de l'objet semble devoir être invoquée pour permettre une séparation des points images par interférences destructives ou partiellement destructives entre elles. L'autre hypothèse, que nous n'avons pas eu le temps de considérer et qui a été étudiée par une autre équipe dans [197] plaiderait sur le rôle primordial

des résonances de WGM. Considérer le cas où il y a résonance de WGM avec notre modèle est une perspective qui sera intéressante à étudier.

Un deuxième aspect du travail doctoral a concerné le développement d'un modèle numérique pour pouvoir prédire la phase mesurée en microscopie optique interférométrique dans le cas où les motifs reconstruits ont des dimensions transversales inférieures à la longueur d'onde. Là où expérimentalement la phase est mesurée de manière indirecte via l'exploitation de figures d'interférences, elle est directement accessible en simulation. L'étude nous semblait donc simple. Notre première surprise a été de constater que les simulations des réponses en phase pour des motifs de dimensions transversales très grandes par rapport à la longueur d'onde ne correspondaient pas aux résultats attendus. Il n'y avait pas de lien simple entre déphasage et profondeur, en particulier autour des zones anguleuses de l'objet. La diffraction crée de forte fluctuation de phase à ce niveau des objets. Pour retrouver les résultats classiques expérimentaux, nous avons dû tenir compte de la largeur spectrale de la source et de la résolution finie du système imageur. Les deux tendent à réduire ces fluctuations. La phase n'a plus été une grandeur intrinsèque au champ électrique simulé mais a été calculée par la méthode PSM (Phase Shifting Method) appliquée numériquement. Cette première étude a permis, à notre connaissance pour la première fois, de démontrer théoriquement, que la loi indiquant la proportion entre le déphasage et la profondeur, si simple à comprendre en tracé de rayon pour une onde monochromatique, était également valable dans le cas d'une source à large spectre avec un imageur à résolution finie.

Une fois le cas de motifs avec dimensions latérales grandes par rapport à la longueur d'onde, bien connus expérimentalement, retrouvé, nous avons enfin pu considérer le cas de motifs ayant des dimensions latérales sub-longueur d'onde. Dans ce cas, nous avons confirmé que le déphasage n'était plus proportionnel à la profondeur. Avec un avantage important, celui que notre modèle permet d'établir ce lien entre profondeur et phase mesurée sous conditions que le matériau de l'objet et une idée de la géométrie soient connus. Ceci est le cas de la plupart des applications. Il est en effet rare de ne pas disposer de connaissances a priori lors de la mesure de tels échantillons. Une simulation de la réponse en phase d'un réseau en silicium sub-longueur d'onde a pu être comparé à une mesure. L'accord entre mesure et simulation est bon.

Suite à ce travail doctoral, plusieurs investigations restent à faire. Si nous avons contribué, nous l'espérons, à mieux comprendre la manière dont les ondes évanescentes et la cohérence de la lumière contribuent au procédé d'imagerie à travers une microsphère, l'étude de cas résonants reste un point important à mener. Une étude

approfondie devrait logiquement permettre de connaître les performances ultimes de cette technique.

Un autre point serait d'implémenter une évaluation automatique du profil du micro-objet observé par optimisation de la comparaison entre mesure de phase et simulation rigoureuse. Enfin travailler à une mise en oeuvre expérimentale simple du procédé reste un challenge : la qualité des microsphères, la manipulation de la microsphère en champ proche de l'objet et l'augmentation du champ de vue par l'utilisation par exemple d'une matrice de microsphères sont des étapes nécessaires pour démocratiser la technique.

# Bibliographie


[1] A. Leong-Hoi, C. Hairaye, S. Perrin, S. Lecler, P. Pfeiffer, and P. Montgomery. High resolution microsphere-assisted interference microscopy for 3d characterization of nanomaterials. *Physica Status Solidi A*, 215(6) :1700858, 2018.

[2] Morteza Mahmoudi. The need for robust characterization of nanomaterials for nanomedicine applications. *Nature Communications*, 12(1) :1–5, 2021.

[3] B. Poyet. *Conception d'un microscope à force atomique métrologique*. Theses, Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines, July 2010.

[4] K.D. Vernon-Parry. Scanning electron microscopy : an introduction. *III-Vs Review*, 13(4) :40–44, 2000.

[5] Press release : The nobel prize in chemistry 2014. www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2014/summary/. Accessed : 5 juin 2023.

[6] Z. Wang, W. Guo, L. Li, B. Luk'yanchuk, A. Khan, Z. Liu, Z. Chen, and W. Hong. Optical virtual imaging at 50 nm lateral resolution with a white-light nanoscope. *Nature communications*, 2(1) :1–6, 2011.

[7] J. van Zuylen. The microscopes of antoni van leeuwenhoek. *Journal of Microscopy*, 121 :309–328, 1981.

[8] G. Wastiaux. *La microscopie optique moderne*. Tec & Doc-Lavoisier, 1994.

[9] E. Verdet. *Leçons d'optique physique*. Victor Masson et fils, 1869.

[10] E. Abbe. Ueber einen neuen beleuchtungsapparat am mikroskop. *Archiv für Mikroskopische Anatomie*, 9 :469–480, 1873.

[11] H. von Helmholtz avec preface de H. E. Fripp. On the limits of the optical capacity of the microscope. *The Monthly Microscopical Journal*, 16 :15–39, 1876.

[12] J.W.S. Rayleigh. On the manufacture and theory of diffraction gratings. *Philosophical Magazine and Journal of Science*, 447 :81–93, 1874.

[13] G.B. Airy. On the diffraction of an object-glass with circular aperture. *Transactions of the Cambridge Philosophical Society*, 5 :283–291, 1835.

[14] J.W.S. Rayleigh. On the theory of optical images, with special reference to the microscope. *Philosophical Magazine and Journal of Science*, 42 :167–195, 1896.

[15] E. Abbe. On the estimation of aperture in the microscope. *Journal of the Royal Microscopical Society*, 1 :388–423, 1881.

[16] A. Köhler. Ein neues beleuchtungsverfahren für mikrophotographische zwecke. *PZeitschrift für wis- senschaftliche Mikroskopie und für Mikroskopische Technik*, 10 :433–440, 1893.

[17] C.M. Sparrow. On spectroscopic resolving power. *The Astrophysical Journal*, 44 :76–87, 1916.

[18] W.V. Houston. The fine structure and the wave-length of the balmer lines. *The Astrophysical Journal*, 64 :81–92, 1926.

[19] C. J. R. Sheppard. Depth of field in optical microscopy. *Journal of Microscopy*, 149(1) :73–75, 1988.

[20] T. Latychevskaia. Lateral and axial resolution criteria in incoherent and coherent optics and holography, near- and far-field regimes. *Applied Optics*, 58(13) :3597–3603, 2019.

[21] B.E.A. Saleh and M.C. Teich. Statistical optics. In J.W. Goodman, editor, *Fundamentals of Photonics*, chapter 10, pages 342–383. John Wiley & Sons, Ltd, 1991.

[22] V. Ronchi. Resolving power of calculated and detected images. *Journal of the Optical Society of America*, 51(4) :458–460, 1961.

[23] P.M. Duffieux. *L'intégrale de Fourier et ses applications à l'optique*. Faculté des Sciences de Besançon, 1946.

[24] P.M. Duffieux. *The Fourier transform and its applications to Optics*. John Wiley & Sons, New York, 1983.

[25] M. Born and E. Wolf. *Principles of Optics, 7th edition*. Cambridge University Press, Cambridge, 1999.

[26] S. Perrin and P. Montgomery. Fourier optics : basic concepts. *arXiv*, 1802.07161 :physics.gen–ph, 2018.

[27] Q. Li and X. Shao. Spherical aberration and modulation transfer function. In B. Huang, C.-I Chang, and J.F. López, editors, *Satellite Data Compression, Communications, and Processing X*, volume 9124, pages 325 – 332. International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2014.

[28] Y. Bai, J. Chen, Q. Lu, and Z. Zhao. Optical transfer function and aberration. *Optik*, 206 :164243, 2020.

[29] I. Ogura. Effects of large aberration on the optical transfer function. *Japanese Journal of Applied Physics*, 3(S1) :226, 1964.

[30] J. Lullin, S. Perrin, M. Baranski, S. Bargiel, L. Froehly, N. Passilly, J. Albero, and C. Gorecki. Impact of mirror spider legs on imaging quality in mirau micro-interferometry. *Optics Letters*, 40(10) :2209–2212, 2015.

[31] D. A. Tichenor and J. W. Goodman. Coherent transfer function. *Journal of the Optical Society of America*, 62(2) :293–295, 1972.

[32] Telescope Optics, coherent transfer function. https://www.telescope-optics.net/mtf2.htm. Accessed : 5 juin 2023.

[33] C. J. R. Sheppard, H. Fatemi, and Min Gu. The Fourier optics of near-field microscopy. *Scanning*, 17(1) :28–40, 1995.

[34] P. de Groot and X.C. de Lega. Fourier optics modeling of interference microscopes. *Journal of the Optical Society of America A*, 37(9) :B1–B10, 2020.

[35] R.H. Wade. A brief look at imaging and contrast transfer. *Ultramicroscopy*, 46(1) :145–156, 1992.

[36] A. B. Pang, T. Müller, M. S. Altman, and E. Bauer. Fourier optics of image formation in LEEM. *Journal of Physics : Condensed Matter*, 21(31) :314006, 2009.

[37] K.M. Yu, A. Locatelli, and M.S. Altman. Comparing Fourier optics and contrast transfer function modeling of image formation in low energy electron microscopy. *Ultramicroscopy*, 183 :109–116, 2017.

[38] D.B. Williams and C.B. Carter. *Transmission electron microscopy*. Springer, 1996.

[39] Press release : The nobel prize in physics 1929. www.nobelprize.org/prizes/physics/1929/summary/. Accessed : 5 juin 2023.

[40] T. Klein, E. Buhr, and C. Georg Frase. Tsem : A review of scanning electron microscopy in transmission mode and its applications. In P.W. Hawkes, editor, *Advances in Imaging and Electron Physics*, volume 171, pages 297–356. Elsevier, 2012.

[41] R F Egerton. Electron energy-loss spectroscopy in the TEM. *Reports on Progress in Physics*, 72(1) :016502, 2008.

[42] N.J. Zaluzec. The scanning confocal electron microscope. *Microscopy Today*, 11 :8–13, 2003.

[43] J.-L. Pouchou, D. Boivin, P. Beauchene, G.L. Besnerais, and F. Vignon. 3d reconstruction of rough surfaces by sem stereo imaging. *Microchimica Acta*, 139 :135–144, 2002.

[44] A. Kudryavtsev. *3D Reconstruction in Scanning Electron Microscope : from image acquisition to dense point cloud*. PhD thesis, Université Bourgogne Franche-Comté, 2017.

[45] Mountainssem®, a revolutionary 3d image analysis for scanning electron microscopy. https://www.digitalsurf.com/software-solutions/scanning-electron-microscopy/. Accessed : 5 juin 2023.

[46] Press release : The nobel prize in chemistry 2017. www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2017/press-release/. Accessed : 5 juin 2023.

[47] E. Knapek and J. Dubochet. Beam damage to organic material is considerably reduced in cryo-electron microscopy. *Journal of Molecular Biology*, 141(2) :147–161, 1980.

[48] E.H. Synge. A suggested method for extending microscopic resolution into the ultra-microscopic region. *Philosophical Magazine and Journal of Science*, 6(35) :356–362, 1928.

[49] Stefan W. Hell. Far-field optical nanoscopy. *Science*, 316(5828) :1153–1158, 2007.

[50] P.C. Montgomery and A. Leong-Hoi. Emerging optical nanoscopy techniques. *Nanotechnology, Science and Applications*, 8 :31–44, 2015.

[51] M. Minsky. Microscopy apparatus. *Brevet US*, 3,013,467, 1957.

[52] H. Goldmann. Spaltlampenphotographie und -photometrie. *Ophthalmologica*, 98 :257–270, 1940.

[53] A. Levine and O. Markowitz. Introduction to reflectance confocal microscopy and its use in clinical practice. *The Journal of the American Academy of Dermatology*, 4(10) :1014–1023, 2018.

[54] Stefan Hell and Ernst H. K. Stelzer. Properties of a 4pi confocal fluorescence microscope. *Journal of the Optical Society of America A*, 9(12) :2159–2166, 1992.

[55] Z. Chen, A. Taflove, and V. Backman. Photonic nanojet enhancement of backscattering of light by nanoparticles : a potential novel visible-light ultramicroscopy technique. *Optics Express*, 12(7) :1214–1220, 2004.

[56] S. Lecler, Y. Takakura, and P. Meyrueis. Properties of a three-dimensional photonic jet. *Optics Letters*, 30(19) :2641–2643, 2005.

[57] X. Li, Z. Chen, A. Taflove, and V. Backman. Optical analysis of nanoparticles via enhanced backscattering facilitated by 3-d photonic nanojets. *Optics Express*, 13(2) :526–533, 2005.

[58] Y. Yan, C. Xing, Y. Jia, Y. Zeng, Y. Zhao, and Y. Jiang. Self-assembled dielectric microsphere array enhanced raman scattering for large-area and ultra-long working distance confocal detection. *Optics Express*, 23(20) :25854–25865, 2015.

[59] B. Bailey, D. L Farkas, D.L. Taylor, and F. Lanni. Enhancement of axial resolution in fluorescence microscopy by standing-wave excitation. *Nature*, 366(6450) :44–48, 1993.

[60] J. M. Guerra. Super-resolution through illumination by diffraction-born evanescent waves. *Applied Physics Letters*, 66(26) :3555–3557, 1995.

[61] M. G. L. Gustafsson. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy. *Journal of Microscopy*, 198(2) :82–87, 2000.

[62] Ying Ma, Kai Wen, Min Liu, Juanjuan Zheng, Kaiqin Chu, Zachary J Smith, Lixin Liu, and Peng Gao. Recent advances in structured illumination microscopy. *Journal of Physics : Photonics*, 3(2) :024009, 2021.

[63] B. Rappaz, P. Marquet, E. Cuche, Y. Emery, C. Depeursinge, and P.J. Magistretti. Measurement of the integral refractive index and dynamic cell morphometry of living cells with digital holographic microscopy. *Optics Express*, 13(23) :9361–9373, 2005.

[64] R. Dändliker and K. Weiss. Reconstruction of the three-dimensional refractive index from scattered waves. *Optics Communications*, 1(7) :323–328, 1970.

[65] Y. Cotte, F. Toy, P. Jourdain, N. Pavillon, D. Boss, P. Magistretti, P. Marquet, and C. Depeursinge. Marker-free phase nanoscopy. *Nature Photonics*, 7 :113–117, 2013.

[66] O. Haeberlé, K. Belkebir, H. Giovaninni, and A. Sentenac. Tomographic diffractive microscopy : basics, techniques and perspectives. *Journal of Modern Optics*, 57(9) :686–699, 2010.

[67] E.H. Synge. An application of piezo-electricity to microscopy. *Philosophical Magazine and Journal of Science*, 13(83) :297–300, 1932.

[68] E. Ash and G. Nicholls. Super-resolution aperture scanning microscope. *Nature*, 237 :510–512, 1972.

[69] D.W. Pohl, W. Denk, and M. Lanz. Optical stethoscopy : Image recording with resolution $\lambda/20$. *Applied Physics Letters*, 44(7) :651–653, 1984.

[70] G.A. Massey. Microscopy and pattern generation with scanned evanescent waves. *Applied Optics*, 23(5) :658–660, 1984.

[71] G. Haugstad. *Atomic force microscopy : understanding basic modes and advanced applications*. John Wiley & Sons, 2012.

[72] D.W. Pohl and Daniel Courjon. *Near Field Optics*. Springer, 1993.

[73] Y. Oshikane, T. Kataoka, M. Okuda, S. Hara, H. Inoue, and M. Nakano. Observation of nanostructure by scanning near-field optical microscope with small sphere probe. *Science and Technology of Advanced Materials*, 8(3) :181–185, 2007.

[74] C. Cremer and T. Cremer. Considerations on a laser-scanning-microscope with high resolution and depth of field. *Microscopica Acta*, pages 31–44, 1974.

[75] S.W Hell and J. Wichmann. Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission : stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy. *Optics Letters*, 19(11) :780–782, 1994.

[76] T.A. Klar and S.W. Hell. Subdiffraction resolution in far-field fluorescence microscopy. *Optics Letters*, 24(14) :954–956, 1999.

[77] W. E. Moerner and L. Kador. Optical detection and spectroscopy of single molecules in a solid. *Physical Review Letters*, 62 :2535–2538, May 1989.

[78] W. E. Moerner and David P. Fromm. Methods of single-molecule fluorescence spectroscopy and microscopy. *Review of Scientific Instruments*, 74(8) :3597–3619, 2003.

[79] W. Wang, J. Gu, T. He, Y. Shen, S. Xi, L. Tian, F. Li, H. Li, L. Yan, and X. Zhou. Optical super-resolution microscopy and its applications in nanocatalysis. *Nano Research*, 8(2) :441–455, 2015.

[80] E. Betzig, G.H. Patterson, R. Sougrat, O.W. Lindwasser, S. Olenych, J.S. Bonifacino, M.W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, and H.F. Hess. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution. *Science*, 313(5793) :1642–1645, 2006.

[81] M.J Rust, M. Bates, and X. Zhuang. Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy. *Nature Methods*, 3 :793–796, 2006.

[82] S. Perrin. Sub-diffraction-limit interference microscopy using microspheres. http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.10685.38889, Avril 2021.

[83] S. Perrin, P. Montgomery, and S. Lecler. Super-resolution imaging within reach. *Optical Engineering*, 58(5) :1 – 3, 2019.

[84] S. Perrin, H. Li, S. Lecler, and P. Montgomery. Unconventional magnification behaviour in microsphere-assisted microscopy. *Optics & Laser Technology*, 114 :40–43, 2019.

[85] A. Darafsheh, G.F. Walsh, L. Dal Negro, and V.N. Astratov. Optical super-resolution by high-index liquid-immersed microspheres. *Applied Physics Letters*, 101(14) :141128, 2012.

[86] H.S.S. Lai, F. Wang, Y. Li, B. Jia, L. Liu, and W.J. Li. Super-resolution real imaging in microsphere-assisted microscopy. *PLOS ONE*, 11(10) :1–17, 2016.

[87] S. Lecler, S. Perrin, A. Leong-Hoi, and P. Montgomery. Photonic jet lens. *Scientific Reports*, 9 :4725, 2019.

[88] A.V. Maslov and V.N. Astratov. Resolution and reciprocity in microspherical nanoscopy : Point-spread function versus photonic nanojets. *Physical Review Applied*, 11 :064004, Jun 2019.

[89] A. Darafsheh. Influence of the background medium on imaging performance of microsphere-assisted super-resolution microscopy. *Optics Letters*, 42(4) :735–738, 2017.

[90] S. Perrin, S. Lecler, and P. Montgomery. Microsphere-assisted interference microscopy. In V. Astratov, editor, *Label-free super-resolution microscopy*, chapter 17, pages 443–469. Springer International Publishing, 2019.

[91] Y Ben-Aryeh. Increase of resolution by use of microspheres related to complex snell's law. *JOSA A*, 33(12) :2284–2288, 2016.

[92] S. Yang, Y.-H. Ye, Q. Shi, and J. Zhang. Converting evanescent waves into propagating waves : The super-resolution mechanism in microsphere-assisted microscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 124(47) :25951–25956, 2020.

[93] M. Duocastella, F. Tantussi, A. Haddadpour, R.P. Zaccaria, A. Jacassi, G. Veronis, Diaspro A., and F. De Angelis. Combination of scanning probe technology with photonic nanojets. *Scientific Reports*, 7 :3474, 2017.

[94] A. Brettin, C.L. McGinnis, K.F. Blanchette, Y.E. Nesmelov, N.I. Limberopoulos, D.E. Walker, A.M. Urbas, and V.N. Astratov. Quantification of resolution in microspherical nanoscopy with biological objects. In *2017 IEEE National Aerospace and Electronics Conference (NAECON)*, pages 189–192, 2017.

[95] S. Perrin, H. Li, A. Leong-Hoi, S. Lecler, and P. Montgomery. Illumination conditions in microsphere-assisted microscopy. *Journal of Microscopy*, 274(1) :69–75, 2019.

[96] A. Darafsheh, N.I. Limberopoulos, J.S. Derov, D.E. Walker, and V.N. Astratov. Advantages of microsphere-assisted super-resolution imaging technique

over solid immersion lens and confocal microscopies. *Applied Physics Letters*, 104(6) :061117, 2014.

[97] Q. Lin, D. Wang, Y. Wang, L. Rong, J. Zhao, S. Guo, and M. Wang. Super-resolution imaging by microsphere-assisted optical microscopy. *Optical and Quantum Electronics*, 48(12) :1–12, 2016.

[98] J. Li, W. Liu, T. Li, I. Rozen, J. Zhao, B. Bahari, B. Kante, and J. Wang. Swimming microrobot optical nanoscopy. *Nano Letters*, 16(10) :6604–6609, 2016.

[99] B. Yan, Z. Wang, A.L. Parker, Y.-K. Lai, P.J. Thomas, L. Yue, and J.N. Monks. Superlensing microscope objective lens. *Applied Optics*, 56(11) :3142–3147, Apr 2017.

[100] K.W. Allen, N. Farahi, Y. Li, N.I. Limberopoulos, D.E. Walker, A.M. Urbas, V. Liberman, and V.N. Astratov. Super-resolution by microspheres and fibers - myth or reality ? In *2015 17th International Conference on Transparent Optical Networks (ICTON)*, pages 1–4, 2015.

[101] J.N. Monks, B. Yan, N. Hawkins, F. Vollrath, and Z. Wang. Spider silk : Mother nature's bio-superlens. *Nano Letters*, 16(9) :5842–5845, 2016.

[102] R. Malureanu, O. Takayama, E. Shkondin, A. Novitsky, and A.V. Lavrinenko. Microspherical nanoscopy : is it a reliable technique ? *OSA Continuum*, 3(1) :10–19, 2020.

[103] P.K. Upputuri and M. Pramanik. Microsphere-aided optical microscopy and its applications for super-resolution imaging. *Optics Communications*, 404 :32–41, 2017.

[104] V. Abbasian and A.-R. Moradi. Microsphere-assisted super-resolved mueller matrix microscopy. *Optics Letters*, 45(15) :4336–4339, 2020.

[105] S. Perrin, H. Li, K. Badu, T. Comparon, G. Quaranta, N. Messaddeq, N. Lemercier, P. Montgomery, J.-C. Vonesch, and S. Lecler. Transmission microsphere-assisted dark-field microscopy. *Rapid Research Letters*, 13(2) :1800445, 2019.

[106] L. Li, W. Guo, Y. Yan, S. Lee, and T. Wang. Label-free super-resolution imaging of adenoviruses by submerged microsphere optical nanoscopy. *Light : Science & Applications*, 2(9) :e104, 2013.

[107] K.F. Tehrani, A. Darafsheh, S. Phang, and L.J. Mortensen. Resolution enhancement of 2-photon microscopy using high-refractive index microspheres. In Ammasi Periasamy, P. T. C. So, Karsten König, and Xiaoliang S. Xie, editors, *Multiphoton Microscopy in the Biomedical Sciences XVIII*, volume 10498, pages 312 – 318. SPIE, 2018.

[108] H. Yang, N. Moullan, J. Auwerx, and M.A.M. Gijs. Super-resolution biological microscopy using virtual imaging by a microsphere nanoscope. *Small*, 10(9) :1712–1718, 2014.

[109] A. Darafsheh, C. Guardiola, D. Nihalani, D. Lee, J.C. Finlay, and A. Cárabe. Biological super-resolution imaging by using novel microsphere-embedded coverslips. In Alexander N. Cartwright and Dan V. Nicolau, editors, *Nanoscale Imaging, Sensing, and Actuation for Biomedical Applications XII*, volume 9337, pages 16 – 22. SPIE, 2015.

[110] L. Hüser and P. Lehmann. Microsphere-assisted interference microscopy for resolution enhancement. *tm - Technisches Messen*, 88(5) :311–318, 2021.

[111] R. Claveau, S. Marbach, S. Perrin, A. Nahas, and P. Montgomery. Microscopie interférométrique en lumière blanche. In C. Fournier, editor, *Imagerie non-conventionelle*, chapter 6. ISTE, A venir.

[112] A. Leong-Hoi. *Etude des techniques de super-résolution latérale en nanoscopie et développement d'un système interféromètrique nano-3D*. PhD thesis, Université de Strasbourg, 2016.

[113] D. Gabor. Microscopy by reconstructed wavefronts. *Proceddings of the Royal Society A*, 197 :454, 1949.

[114] D. Gabor. Microscopy by reconstructed wavefronts ii. *Proceddings of the Royal Society B*, 64 :449, 1951.

[115] E. Cuche, P. Marquet, and C. Depeursinge. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of fresnel off-axis holograms. *Applied Optics*, 38(34) :6994–7001, 1999.

[116] N. Verrier and M. Atlan. Off-axis digital hologram reconstruction : some practical considerations. *Applied Optics*, 50(34) :H136–H146, 2011.

[117] E. Cuche, F. Bevilacqua, and C. Depeursinge. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging. *Optics Letters*, 24(5) :291–293, 1999.

[118] Y. Park, C. Depeursinge, and G. Popescu. Quantitative phase imaging in biomedicine. *Nature Photonics*, 12 :578—-589, 2018.

[119] M. Gross and M. Atlan. Digital holography with ultimate sensitivity. *Opt. Lett.*, 32(8) :909–911, 2007.

[120] J. Kühn, F. Charrière, T. Colomb, E. Cuche, F. Montfort, Y. Emery, P. Marquet, and C. Depeursinge. Axial sub-nanometer accuracy in digital holographic microscopy. *Measurement Science and Technology*, 19(7) :074007, 2008.

[121] H. Takajo and T. Takahashi. Noniterative method for obtaining the exact solution for the normal equation in least-squares phase estimation from the phase difference. *Journal of the Optical Society of America A*, 5(11) :1818–1827, 1988.

[122] D.C. Ghiglia and M.D. Pritt. *Two-dimensional phase unwrapping : Theory, algorithms and software*. Wiley Interscience, 1998.

[123] J.C. Wyant and K. Creath. Two-wavelength phase-shifting interferometer and method. *Brevet US*, 4,832,489, 1989.

[124] J. Kühn, T. Colomb, F. Montfort, F. Charrière, Y. Emery, E. Cuche, P. Marquet, and C. Depeursinge. Real-time dual-wavelength digital holographic microscopy with a single hologram acquisition. *Optics Express*, 15(12) :7231–7242, 2007.

[125] D. Malacara. *Optical shop testing*, volume 59. John Wiley & Sons, 2007.

[126] Katherine Creath. V phase-measurement interferometry techniques. In *Progress in optics*, volume 26, pages 349–393. Elsevier, 1988.

[127] R. Leach. *Optical measurement of surface topography*. Springer, 2011.

[128] J. Schmit and A.G. Olszak. Challenges in white-light phase-shifting interferometry. In Katherine Creath and Joanna Schmit, editors, *Interferometry XI : Techniques and Analysis*, volume 4777, pages 118 – 127. SPIE, 2002.

[129] R. Leach. *Optical measurement of surface topography*. Springer Berlin Heidelberg, 2011.

[130] P. de Groot. Principles of interference microscopy for the measurement of surface topography. *Advances in Optics and Photonics*, 7(1) :1–65, 2015.

[131] Paul Christopher Montgomery and Jean-Pierre Fillard. Method of an apparatus for interferometrically inspecting a surface of an object, 1994.

[132] P. Sandoz and G. Tribillon. Profilometry by zero-order interference fringe identification. *Journal of Modern Optics*, 40(9) :1691–1700, 1993.

[133] N. Balasubramanian. Optical system for surface topography measurement. *Brevet US*, 4,340,306 A, 1982.

[134] M. Davidson, K. Kaufman, and I. Mazor. The coherence probe microscope. *Solid State Technology*, 30(9) :57–59, 1987.

[135] B.S. Lee and T.C. Strand. Profilometry with a coherence scanning microscope. *Applied Optics*, 29(26) :3784–3788, 1990.

[136] PJ. Caber. Interferometric profiler for rough surfaces. *Applied Optics*, 32(19) :3438–3441, 1993.

[137] G.S. Kino and S.S.C. Chim. Mirau correlation microscope. *Applied Optics*, 29(26) :3775–3783, 1990.

[138] P. de Groot and L. Deck. Surface profiling by analysis of white-light interferograms in the spatial frequency domain. *Journal of Modern Optics*, 42(2) :389–401, 1995.

[139] KG. Larkin. Efficient nonlinear algorithm for envelope detection in white light interferometry. *Journal of the Optical Society of America A*, 13(4) :832–843, 1996.

[140] P. Sandoz. Wavelet transform as a processing tool in white light interferometry. *Optics Letters*, 22(14) :1065–1067, 1997.

[141] A. Harasaki, J. Schmit, and J.C. Wyant. Improved vertical-scanning interferometry. *Applied Optics*, 39(13) :2107–211, 2000.

[142] F. Salzenstein, , P.C. Montgomery, and A.O. Boudraa. Local frequency and envelope estimation by teager-kaiser energy operators in white-light scanning interferometry. *Optics Express*, 22(15) :18325–18334, 2014.

[143] C. Gomez, R. Su, P. de Groot, and R. Leach. Noise reduction in coherence scanning interferometry for surface topography measurement. *Nanomanufacturing and Metrology*, 3(1) :68–76, 2020.

[144] A. Dubois, L. Vabre, A.-C. Boccara, P.C. Montgomery, B. Cunin, Y. Reibel, and C. Draman. Real-time high-resolution topographic imagery using interference microscopy. *European Physical Journal Applied Physics*, 20(3) :169–175, 2002.

[145] P. Montgomery, F. Anstotz, G. Johnson, and R. Kiefer. Real time surface morphology analysis of semiconductor materials and devices using 4d interference microscopy. *Journal of Materials Science : Materials in Electronics*, 19 :194—-198, 2008.

[146] P. Pavlicek and E. Mikeska. White-light interferometer without mechanical scanning. *Optics and Lasers in Engineering*, 124 :105800, 2020.

[147] W. Osten. *Optical Inspection of Microsystems*. CRC Press, 2007.

[148] P.C. Montgomery, D. Montaner, O. Manzardo, M. Flury, and H.P. Herzig. The metrology of a miniature ft spectrometer moems device using white light scanning interference microscopy. *Thin Solid Films*, 450(1) :79–83, 2004.

[149] S. Iles and J. Nelson. Sub-angstrom surface roughness metrology with the white light interferometer. In Blair L. Unger and Jessica DeGroote Nelson, editors, *Optifab 2019*, volume 11175, pages 246 – 257. SPIE, 2019.

[150] A. F. Fercher, K. Mengedoht, and W. Werner. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics Letters*, 13(3) :186–188, 1988.

[151] D Huang, EA Swanson, CP Lin, JS Schuman, WG Stinson, W Chang, MR Hee, T Flotte, K Gregory, CA Puliafito, and al. et. Optical coherence tomography. *Science*, 254(5035) :1178–1181, 1991.

[152] M.J. Gora, M.J. Suter, G.J. Tearney, and X. Li. Endoscopic optical coherence tomography : technologies and clinical applications. *Biomedical Optics Express*, 8(5) :2405–2444, 2017.

[153] P. de Groot. Measurement of transparent plates with wavelength-tuned phase-shifting interferometry. *Applied Optics*, 39(16) :2658–2663, 2000.

[154] P. Lehmann, S. Tereschenko, and W. Xie. Fundamental aspects of resolution and precision in vertical scanning white-light interferometry. *Surface Topography : Metrology and Properties*, 4(2) :024004, 2016.

[155] P. de Groot and J.F. Biegen. Interference microscope objectives for wide-field areal surface topography measurements. *Optical Engineering*, 55(7) :074110, 2016.

[156] S.S.C. Chim and G.S. Kino. Phase measurements using the mirau correlation microscope. *Applied Optics*, 30(16) :2197–2201, 1991.

[157] J. Lullin, S. Bargiel, P. Lemoal, S. Perrin, J. Albero, N. Passilly, L. Froehly, F. Lardet-Vieudrin, and C. Gorecki. An electrostatic vertical microscanner for phase modulating array-type mirau microinterferometry. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 25(11) :115013, 2015.

[158] J. Albero, S. Bargiel, N. Passilly, P. Dannberg, M. Stumpf, U.D. Zeitner, C. Rousselot, K. Gastinger, and C. Gorecki. Micromachined array-type mirau interferometer for parallel inspection of MEMS. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 21(6) :065005, 2011.

[159] T. Anna, V. Srivastava, D.S. Mehta, and C. Shakher. High-resolution full-field optical coherence microscopy using a mirau interferometer for the quantitative imaging of biological cells. *Applied Optics*, 50(34) :6343–6351, 2011.

[160] H. Mukhtar, P. Montgomery, F. Anstotz, R. Barillon, and A. Rubin. Immersion white light scanning interferometry using elastic polymer path length compensation. In Christophe Gorecki, Anand Krishna Asundi, and Wolfgang Osten, editors, *Optical Micro- and Nanometrology VII*, volume 10678, pages 231 – 239. SPIE, 2018.

[161] Geometrical product specifications. surface texture : Areal-part 600 : Metrological characteristics for areal topography measuring methods. www.iso.org/standard/67651.html/, 2019. ISO 25178-600.

[162] O. Sasaki, H. Okazaki, and M. Sakai. Sinusoidal phase modulating interferometer using the integrating-bucket method. *Applied Optics*, 26(6) :1089–1093, 1987.

[163] J.T. Wiersma and J.C. Wyant. Vibration insensitive extended range interference microscopy. *Applied Optics*, 52(24) :5957–5961, 2013.

[164] T. Latychevskaia. Lateral and axial resolution criteria in incoherent and coherent optics and holography, near- and far-field regimes. *Applied Optics*, 58(13) :3597–3603, 2019.

[165] C.L. Giusca and R. Leach. Calibration of the scales of areal surface topography measuring instruments : part 3. resolution. *Measurement Science and Technology*, 24(10) :105010, 2013.

[166] P. de Groot. The instrument transfer function for optical measurements of surface topography. *Journal of Physics : Photonics*, 3(2) :024004, 2021.

[167] Y. Wang, S. Guo, D. Wang, Q. Lin, L. Rong, and J. Zhao. Resolution enhancement phase-contrast imaging by microsphere digital holography. *Optics Communications*, 366 :81–87, 2016.

[168] M. Aakhte, V. Abbasian, E. Ahadi Akhlaghi, A.-R. Moradi, A. Anand, and B. Javidi. Microsphere-assisted super-resolved mirau digital holographic microscopy for cell identification. *Applied optics*, 56(9) :D8–D13, 2017.

[169] G. Schulz and K.-E. Elssner. Errors in phase-measurement interferometry with high numerical apertures. *Applied Optics*, 30(31) :4500–4506, 1991.

[170] V. Abbasian, Y. Ganjkhani, E.A. Akhlaghi, A. Anand, B. Javidi, and A.-R. Moradi. Super-resolved microsphere-assisted mirau digital holography by oblique illumination. *Journal of Optics*, 20(6) :065301, 2018.

[171] T. O'Connor, A. Anand, and B. Javidi. Field-portable microsphere-assisted high resolution digital holographic microscopy in compact and 3d-printed mach-zehnder interferometer. *OSA Continuum*, 3(4) :1013–1020, 2020.

[172] I. Kassamakov, S. Lecler, A. Nolvi, A. Leong-Hoï, P. Montgomery, and E. Hæggström. 3d super-resolution optical profiling using microsphere enhanced mirau interferometry. *Scientific reports*, 7(1) :1–7, 2017.

[173] F. Wang, L. Liu, P. Yu, Z. Liu, H. Yu, Y. Wang, and W.J. Li. Three-dimensional super-resolution morphology by near-field assisted white-light interferometry. *Scientific Reports*, 6(1) :1–10, 2016.

[174] S. Perrin, P. Montgomery, and S. Lecler. Microsphere-assisted interference microscopy. *Photonics & Laser Reviews*, Acceptée, 2022.

[175] S. Perrin, Y.J. Donie, P. Montgomery, G. Gomard, and S. Lecler. Compensated microsphere-assisted interference microscopy. *Physical Review Applied*, 13 :014068, 2020.

[176] S. Perrin, A. Leong-Hoï, S. Lecler, P. Pfeiffer, I. Kassamakov, A. Nolvi, E. Hæggström, and P. Montgomery. Microsphere-assisted phase-shifting profilometry. *Applied Optics*, 56(25) :7249–7255, 2017.

[177] L. Hüser and P. Lehmann. Microsphere-assisted interferometry with high numerical apertures for 3d topography measurements. *Applied Optics*, 59(6) :1695–1702, 2020.

[178] Yubo Duan, George Barbastathis, and Baile Zhang. Classical imaging theory of a microlens with super-resolution. *Optics letters*, 38(16) :2988–2990, 2013.

[179] G. Mie. Beiträge zur optik trüber medien, speziell kolloidaler metallösungen. *Annalen der Physik*, 330(3) :377–445, 1908.

[180] A. Heifetz, S.-C. Kong, A.V. Sahakian, A. Taflove, and V. Backman. Photonic nanojets. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 6(9) :1979—-1992, 2009.

[181] W. Wu, A. Katsnelson, O. G Memis, and H. Mohseni. A deep sub-wavelength process for the formation of highly uniform arrays of nanoholes and nanopillars. *Nanotechnology*, 18(48) :485302, 2007.

[182] B.S. Luk'yanchuk, R. Paniagua-Domínguez, I. Minin, O. Minin, and Z. Wang. Refractive index less than two : photonic nanojets yesterday, today and tomorrow. *Optical Materials Express*, 7(6) :1820–1847, 2017.

[183] V. Pacheco-Pe na, M. Beruete, I.V. Minin, and O. V. Minin. Multifrequency focusing and wide angular scanning of terajets. *Optics Letters*, 40(2) :245–248, 2015.

[184] A. Abdurrochman, J. Zelgowski, S. Lecler, F. Mermet, B. Tumbelaka, and J. Fontaine. Photonic jet etching : Justifying the shape of optical fiber tip. *AIP Conference Proceedings*, 1712(1) :030001, 2016.

[185] A. Darafsheh. Photonic nanojets and their applications. *Journal of Physics : Photonics*, 3(2) :022001, 2021.

[186] G.R. Chabrol, J. Zelgowski, C. Beudy, Y. Takakura, P. Twardowski, P. Pfeiffer, J. Fontaine, and S. Lecler. Investigation into photonic jet machining using shaped optical fibre tips. *Materials Today : Proceedings*, 4 :S62–S67, 2017.

[187] R. Pierron, J. Zelgowski, P. Pfeiffer, J. Fontaine, and S. Lecler. Photonic jet : key role of injection for etchings with a shaped optical fiber tip. *Optics Letters*, 42(14) :2707–2709, 2017.

[188] K.W. Allen, A.F. Kosolapov, A.N. Kolyadin, A.D. Pryamikov, N. Mojaverian, N. I. Limberopoulos, and V.N. Astratov. Photonic jets produced by microspheres integrated with hollow-core fibers for ultraprecise laser surgery. In *2013 15th International Conference on Transparent Optical Networks (ICTON)*, pages 1–4, 2013.

[189] S. Perrin, S. Lecler, A. Leong-Hoi, and P.C. Montgomery. Role of coherence in microsphere-assisted nanoscopy. In Bernd Bodermann, Karsten Frenner, and Richard M. Silver, editors, *Modeling Aspects in Optical Metrology VI*, volume 10330, pages 184 – 191. SPIE, 2017.

[190] A.V. Maslov and V.N. Astratov. Imaging of sub-wavelength structures radiating coherently near microspheres. *Applied Physics Letters*, 108(5) :051104, 2016.

[191] J.B. Pendry. Negative refraction makes a perfect lens. *Physical Review Letters*, 85(18) :3966–3969, 2000.

[192] D.R Smith, D. Schurig, M. Rosenbluth, S. Schultz, S.A. Ramakrishna, and J.B. Pendry. Limitations on subdiffraction imaging with a negative refractive index slab. *Applied Physics Letters*, 82(10) :1506–1508, 2003.

[193] R. Boudoukha, S. Perrin, A. Demagh, P. Montgomery, N.-E. Demagh, and S. Lecler. Near-to far-field coupling of evanescent waves by glass microspheres. *Photonics*, 8(3) :73, 2021.

[194] M Milosevic. On the nature of the evanescent wave. *Applied spectroscopy*, 67(2) :126–131, 2013.

[195] M. Bertolotti, C. Sibilia, and A.M. Guzman. *Evanescent waves in optics : an introduction to plasmonics*, volume 206. Springer, 2017.

[196] M.S.M. Mollaei and C. Simovski. Dual-metasurface superlens : A comprehensive study. *Physical Review B*, 100(20) :205426, 2019.

[197] S. Zhou, Y. Deng, W. Zhou, M. Yu, HP Urbach, and Y. Wu. Effects of whispering gallery mode in microsphere super-resolution imaging. *Applied Physics B*, 123(9) :1–9, 2017.

[198] Mikhail N. Polyanskiy. Refractive index database. https://refractiveindex.info. Accessed on 2022-02-21.

[199] Akiko Harasaki, Joanna Schmit, and James C Wyant. Improved vertical-scanning interferometry. *Applied optics*, 39(13) :2107–2115, 2000.

Rayenne BOUDOUKHA

# Contribution à la compréhension de la microscopie assistée par microsphère


## Résumé

Ce mémoire de thèse de doctorat présente une recherche porte sur la contribution à la compréhension du mécanisme physique d'une technique parmi les plus puissantes techniques en imagerie optique à super résolution, il s'agit de la microscopie assistée par microsphère. Cette récente technique consiste à déposer des microsphères de tailles différentes en verre ou bien en polymère sur l'objet à visualiser soit aléatoirement ou bien sous forme des matrices. Plusieurs recherches ont été mis en avant, afin d'apercevoir l'origine de la résolution atteinte par cette technique qui est à l'ordre de quelques centaines de nanomètres. Un nouveau modèle numérique a été développé, il sert à démontrer la capacité de la microsphère à résoudre les détails des objets sub-longueur d'onde avec le rôle clés des ondes évanescentes dans ce processus. En outre, cette étude comprend l'influence des paramètres optique et géométrique sur ce système imageant à travers des microsphères. La combinaison des microsphères avec la microscopie interférométrique permet d'améliorer sa résolution latérale. Dans ce manuscrit, on a montré la première modélisation d'une méthode interférométrique qui s'appelle « Phase Shifting Microscopy » en lumière blanche, dans le but d'étudier le lien entre la phase et la hauteur d'un motif. Nous avions intéressés par deux motifs : une marche et un réseau créneau, ayant des largeurs et des périodes supérieur et inférieur à la longueur d'onde centrale du spectre visible.


**Mots clés :** Microsphères, Super-résolution, Modes de galerie, Microscopie interférométrique en lumière blanche, Microscopie à décalage de phase.


## Abstract

This thesis dissertation presents a research on the contribution to understanding the physical mechanism of one of the most powerful techniques in super-resolution optical imaging, it's about microsphere-assisted microscopy. This recent technique consists of depositing microspheres of different sizes in glass or polymer on the object to be visualized either randomly or like a matrices. Several researches have been put forward in order to see the origin of the resolution reached by this technique which is in the order of a few hundred nanometers. A new numerical model has been developed, it serves to demonstrate the ability of the microsphere to resolve the details of sub-wavelength objects with the key role of evanescent waves in this process. In addition, this study includes the influence of optical and geometrical parameters on this optical imaging system through microspheres. The combination of microspheres with interferometric microscopy improves its lateral resolution. In this manuscript, we showed the first modeling of an interferometric method called "Phase Shifting Microscopy" in white light, in order to study the link between the phase and the height of a pattern. We were interested in two patterns: a step and a rectangular grating, having widths and periods greater and less than the central wavelength of the visible spectrum.


**Keywords :** Microspheres, Super-resolution, Whispering gallery modes, White light interferometric microscopy, Phase shifting microscopy.