

Microscopies optiques

Niveau : Licence

Pré-requis :

- Optique géométrique (bases : systèmes optiques, lentilles minces, ...)
- Diffraction (tache d'Airy, qualitativement)
- Critère de Rayleigh

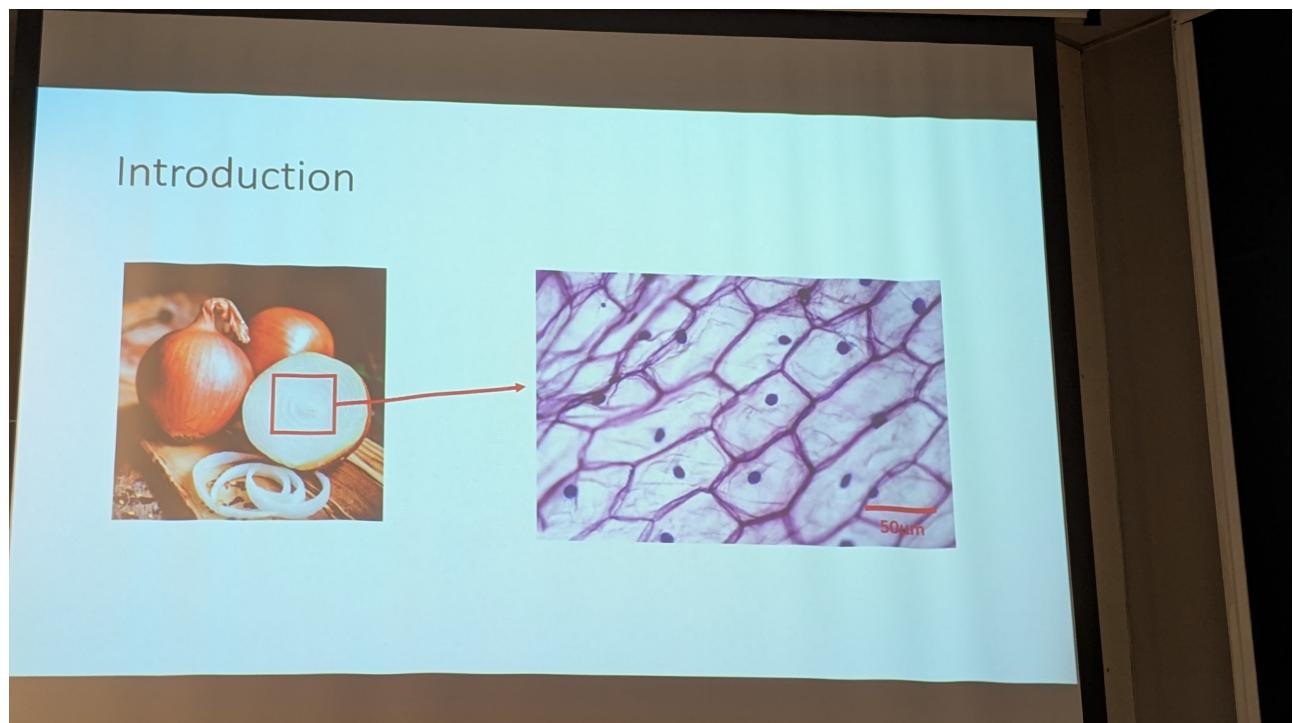
Bibliographie :

- Optique géométrique, B.Balland
- Les instruments d'optique, L.Dettwiller , Ellipses
- La microscopie optique moderne, Wastiaux, Tec et Doc
- Imager l'invisible avec la lumière, Gigan / Ventalon, CNRS

Introduction

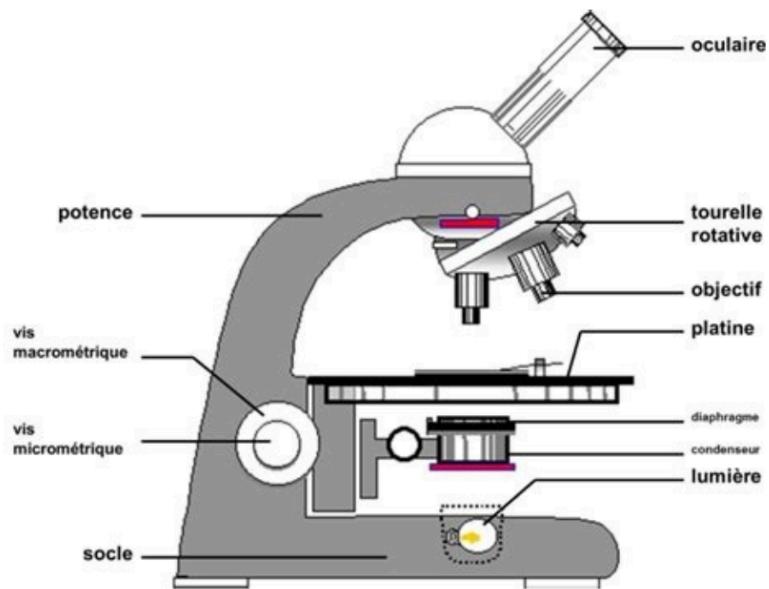
Fin 16e et début 17e siècle âge d'or en optique. On observe objets lointains par lunettes astronomiques et objets proche par microscope.

Le mot microscopie vient du grec, de μικρος (petit) et σκοπειν (examiner). La microscopie a permis de grandes avancées dans la connaissance, surtout en biologie où on a découvert les cellules (de taille 5 – 50 µm) qui constituent les tissus. En-dessous, d'autres technologies existent pour voir des tailles plus petites



I. Le microscope optique classique

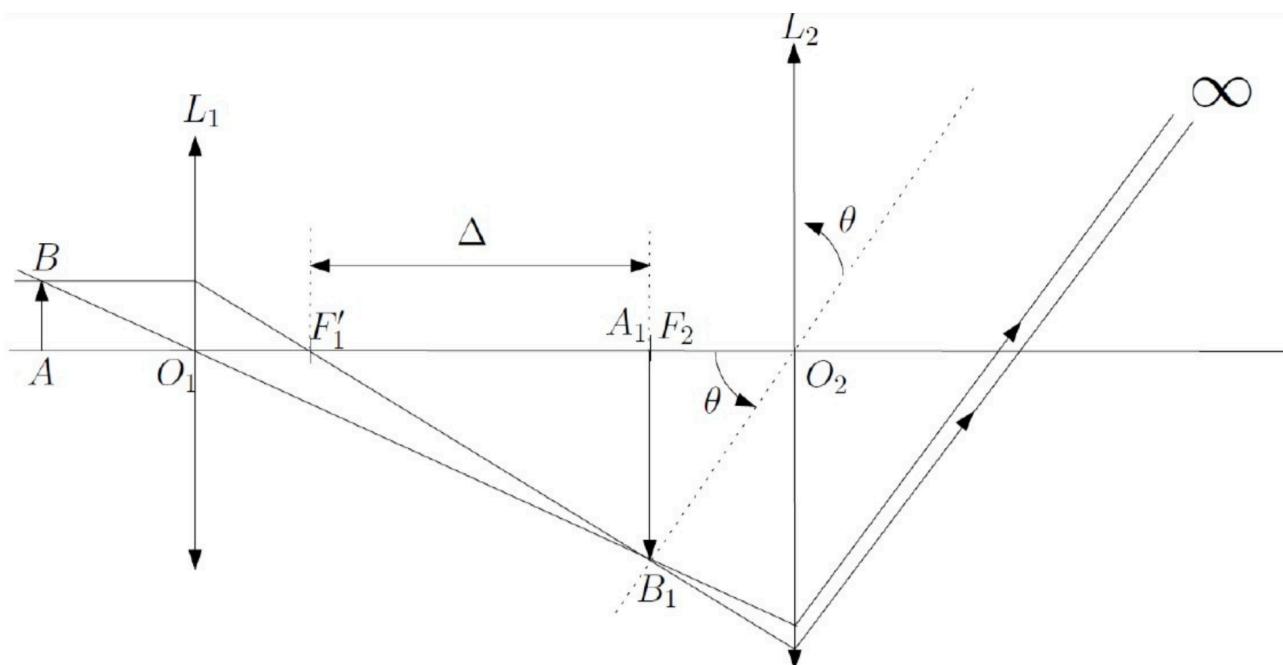
A. Présentation générale



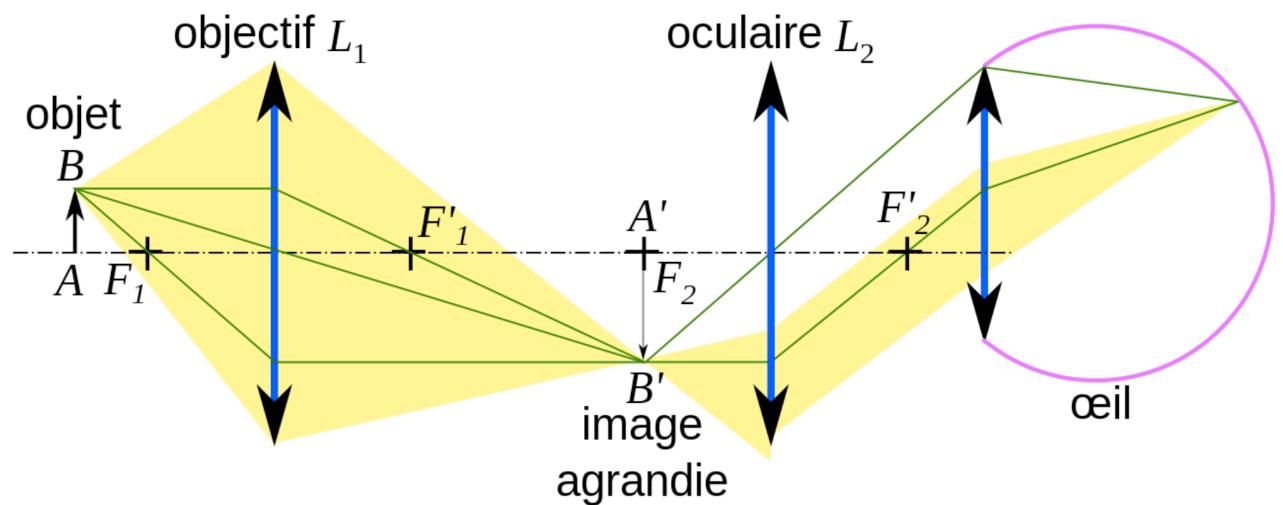
Présentation du microscope de la collection.

Le système optique du microscope est constitué de l'objectif et de l'oculaire. C'est ce qui va nous intéresser pour cette partie.

Tracé des rayons au tableau



En dessinant les bords des rayons (max et min) et l'oeil (L3 + écran) :



B. Caractéristiques d'un microscope

Le grossissement commercial correspond au rapport des angles : $G_c = \frac{\theta'}{\theta_0}$

avec θ' l'angle en sortie du microscope et θ_0 angle d'observation de l'objet à une distance de référence qui est le Punctum Proximum ($d_m=25\text{cm}$).

Experience :

- Montrer l'oculaire et l'objectif dans le microscope
- Utiliser comme mire une grille dont on connaît les dimensions
- On utilise une lampe quartz-iode donc un spectre continu avec une bonne intensité lumineuse
- Filtre anti-thermique pour protéger le microscope
- L'image est à l'infini donc on place une lentille convergente (1m) en sortie pour former une image dans le foyer image sur l'écran (placé à 1m)
- On mesure une longueur de $L=8\text{cm}$ sur l'écran. On a pris la mesure par le centre de trait donc on estime l'incertitude de $\pm 0.2\text{cm}$ liée à l'épaisseur du trait
- On a collé le microscope à la lentille convergente donc $D=100\text{cm}$ et par la position des pieds de lentille et écran on estime l'incertitude de $\pm 1\text{cm}$

Par approximation de petits angles :

$$\tan \theta' = \frac{L}{D} \approx \theta' = (8.0 \pm 0.2) \times 10^{-2} \text{ rad}$$

$$\tan \theta_0 = \frac{1\text{mm}}{25\text{cm}} \approx \theta_0 = 4 \times 10^{-3} \text{ et pas d'incertitude ici}$$

$$G_c = 20.0 \pm 0.5$$

Sur le microscope, oculaire ($G_{oc}=5$) et objectif ($|\gamma_{ob}| = 4$)

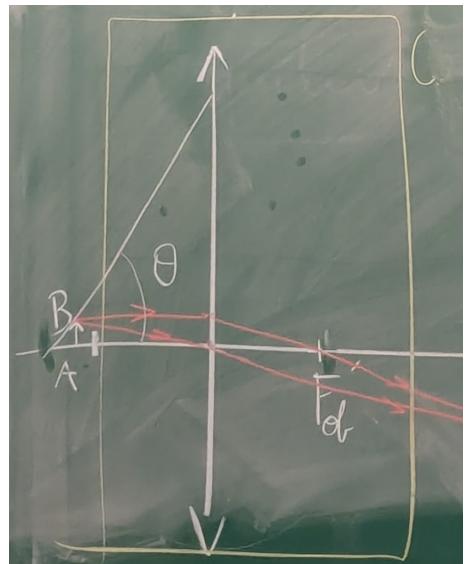
$$G_{oc} = \frac{\theta'}{\theta_0(A'B')} \text{ et } |\gamma_{ob}| = \frac{A'B'}{AB}$$

$$\text{donc } G_c = \frac{\theta'}{\theta_0(AB)} = \frac{A'B'/f'_2}{AB/d_m} = \frac{A'B'}{AB} \frac{d_m}{f'_2} = \gamma_{ob} G_{oc} = 20$$

Donc Zscore = 0

Autre caractéristique est l'ouverture numérique qui quantifie la quantité de lumière reçue par l'objectif $ON = n \sin \theta$ avec $n_{\text{air}} = 1$ et θ l'angle max pour que le rayon rentre dans le microscope.

A un effet sur la profondeur de champ et sur la limite de résolution.



C. Limites du microscope simple

1) Limite de résolution : la distance minimale entre 2 objets pour qu'on puisse les distinguer. Cette limite est lié à la diffraction de la lumière qui forme des tache à la place de points. Quand on rapproche les objets on a superposition de taches.

La taille minimal que peut observer le microscope : $AB_{min} = \frac{0.61\lambda_0}{ON}$

Le 0.61 vient de la Tache d'Air , ON est l'ouverture numérique et λ_0 d'observation.

ODG : $\lambda_0 = 600nm$ (moyenne du visible) et $ON=0.65$ (ordre de grandeur des microscopes) donc $AB_{min} = 560nm$

Donc on peut voir des tailles de l'ordre de la longueur d'onde utilisée.

On peut pas avoir des valeurs < 200nm

- 2) Limite en contraste : objet transparents auront du mal à absorber la lumière
- 3) Aberrations chromatiques (si on utilise une lumière blanche) ou géométrique

Voyons autre méthode de microscopie pour se battre en limite de contraste. Par exemple pour voir les cellules qui sont transparentes.

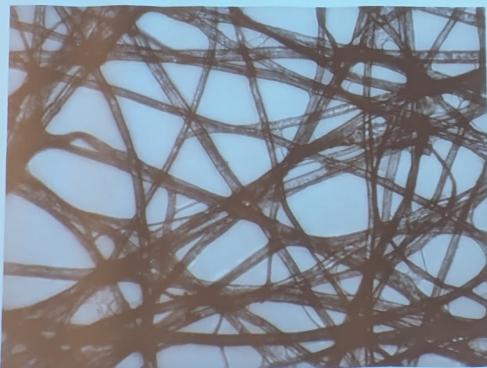
II. D'autres méthodes de microscopie

- A. Le microscope confocal
- B. Microscopie en champ sombre

Toute la lumière incidente limite le contraste d'un objet transparent. Donc l'idée est d'avoir un fond sombre.

Microscopie en champ sombre

Microscopie en champ clair



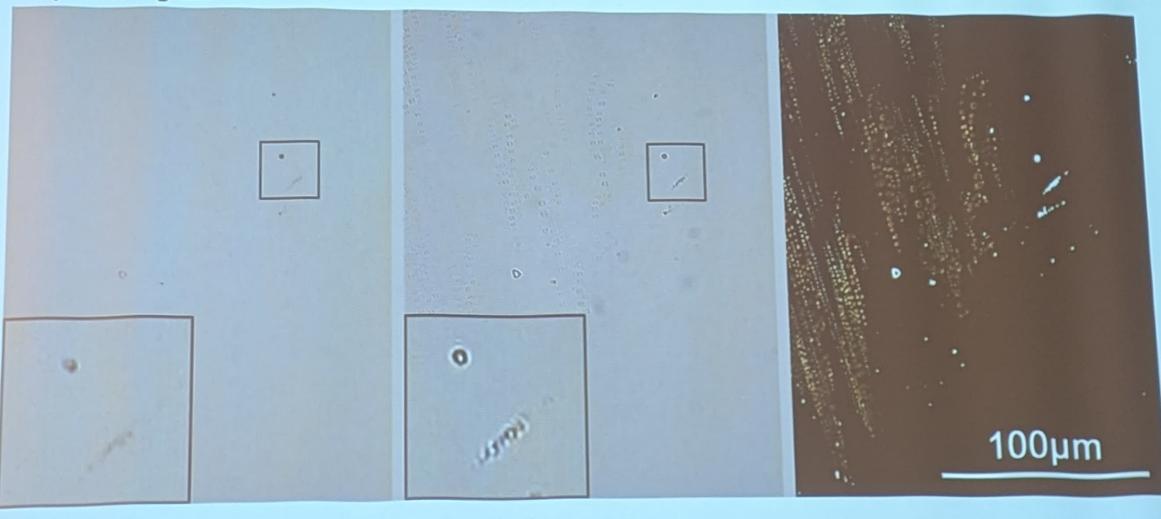
Fibres de papier absorbant

Microscopie en champ sombre



Microscopie en champ sombre

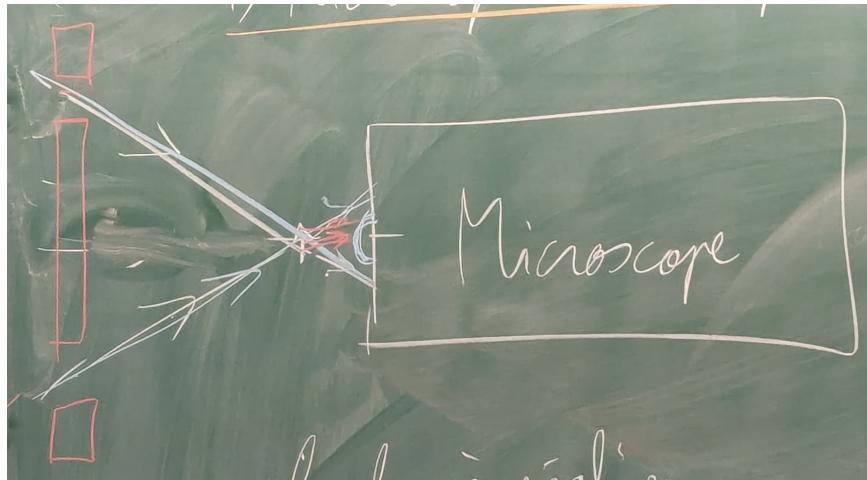
Empreinte digitale



Comment retirer le fond lumineux ?

On concentre la lumière sur l'objet mais on ajoute un obstacle (en rouge) pour limiter les rayons qui passent. On forme un cône de lumière creux.

L'objet va diffuser alors de la lumière (donc on le voit) mais la lumière incidente ne rentre pas dans l'objectif. On prend un objectif petit comme ça on capte juste la diffusion de l'objet.



Avantages :

C'est facile à réaliser en pratique.

En plus on peut observer des objets transparents.

Inconvénient :

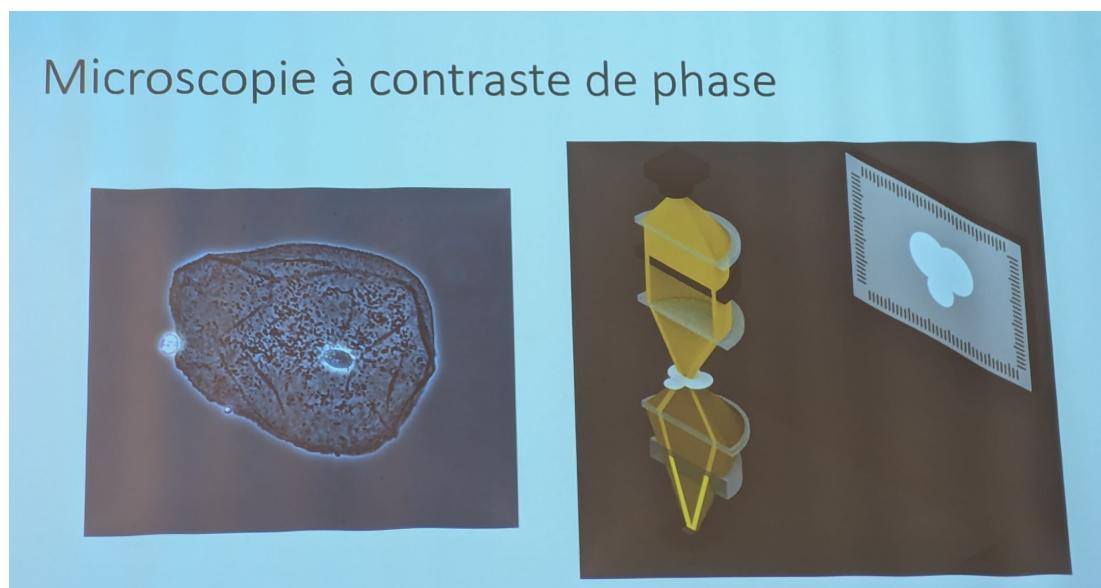
on voit parfois des traits très lumineux à cause des impuretés. Il y a une forte sensibilité aux impuretés.

Si on a un objet transparent homogène, on pourra pas vraiment voir les détails intérieurs de l'objet (comme en cellule)

Donc on a aura besoin d'une autre méthode de microscopie qui est la microscopie à contraste de phase

C. Microscopie à contraste de phase

Utiliser l'interférence pour avoir une meilleure résolution de l'objet donc l'intérieur de la cellule.



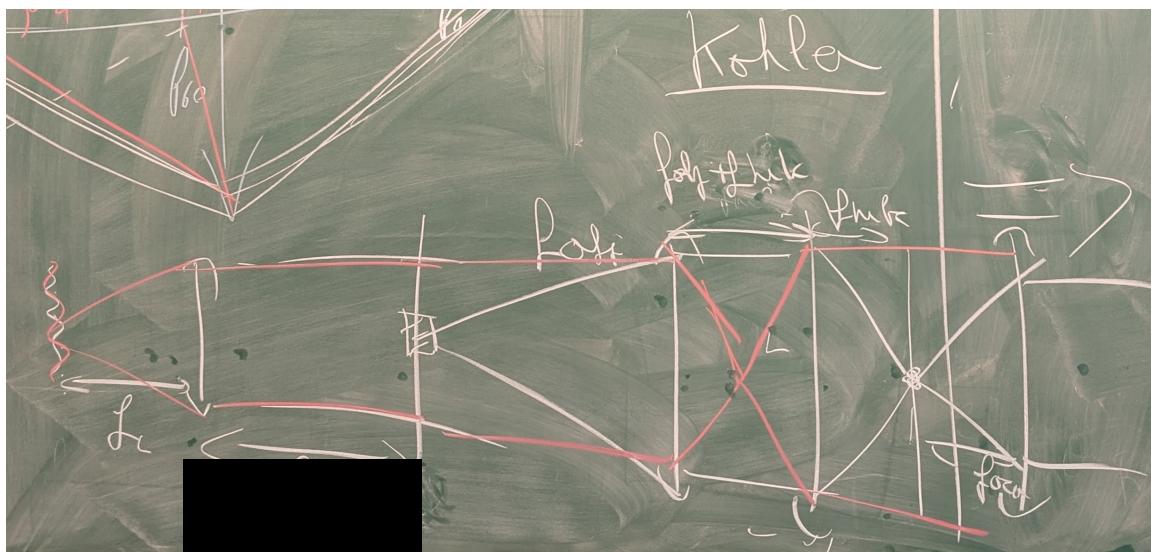
Conclusion

Extra

- On utilise G et pas γ car objet à l'infini
- L'image (par lunette astronomique) est inversée
- Différence télescope et lunette astronomique

Filtre thermique (interférentiel) :

Une partie miroir qui joue le rôle d'un Fabry-Perrot donc cavité qui choisit une fréquence donnée puis l'autre partie est une sorte de gélatine (partie colorée) qui laisse sortir la fréquence choisie



Eclairage de Kohler :

On place la lampe à la focal objet f_L d'une lentille convergente L_L (pour envoyer les faisceaux //)

Comme ça on a un éclairage uniforme sur notre objet.

L'objet est situé à focal objet de la lentille objectif du microscope (vrai microscope et pas le modèle optique qu'on dessine d'habitude).

L'objet diffuse la lumière (rayons blancs) vers objectif puis sort //.

Le vrai microscope contient lentille L_{tube} qui est là pour converger le faisceau vers un point où on met la caméra.

Certains microscope ont après une oculaire pour qu'on regarde mais c'est facultatif.

La lumière (rouge) de la lampe continue sans trajet jusqu'à l'objectif puis par la petite focale de L_{obj} elle converge très proche de objectif. Là on est dans focal objet de L_{tube} donc sort // après L_{tube} et on la capte pas dans la caméra.

L'image du filament est là quelque part mais on jouant sur la position de la lentille on choisit soit avoir image filament soit éclairage max de la lumière.

➊ Pour un œil normal (emmétrope) :

- Punctum proximum :
 - 25 cm (en moyenne pour un adulte)
 - ◆ C'est la **distance minimale** à laquelle l'œil peut **accommorder** (voir net de près).
 - ◆ Elle **augmente avec l'âge** (presbytie).
- Punctum remotum :
 - ∞ (infini)
 - ◆ C'est la **distance maximale** de vision nette **sans effort d'accommodation**.

➋ Pour un œil myope :

- Punctum remotum :
 - à une **distance finie** (ex : 50 cm, 1 m, etc.)
 - ◆ Le myope **voit net de près**, mais pas de loin.
 - ◆ Son PR est **plus proche** que l'infini.
- Punctum proximum :
 - plus proche encore que son PR (ex : 10 cm)

➌ Pour un œil hypermétrope :

- Punctum remotum :
 - **derrière l'œil** (virtuel)
 - ◆ L'œil doit **accommorder en permanence**, même pour voir loin.
- Punctum proximum :
 - **plus éloigné** que chez un œil normal
 - ◆ L'hypermétrope a du mal à voir de près (fatigue visuelle rapide).

Il faut une correction pour voir à l'infini

Avec l'âge œil ne converge pas assez

🔧 Correction :

- Lentille divergente (concave, indice négatif)
 - Elle **diverge les rayons** avant qu'ils n'entrent dans l'œil, pour qu'ils convergent **plus loin** dans l'œil

⌚ Effets :

- PR est **reculé jusqu'à l'infini** (objectif : que l'œil voie net de loin)
- PP recule aussi un peu, mais reste proche

Myopie

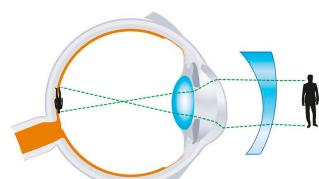
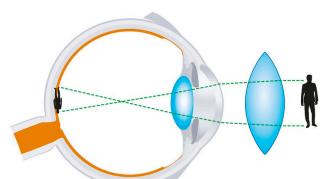
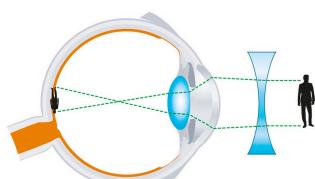
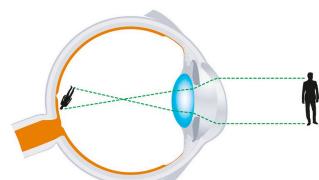
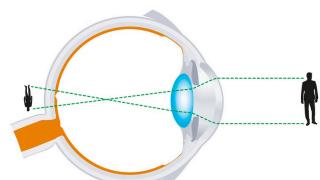
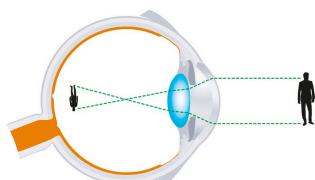
🔧 Correction :

- Lentille convergente (convexe, indice positif)
 - Elle **pré-converge les rayons** pour aider l'œil à les focaliser plus tôt

⌚ Effets :

- PR devient **réel et recule** (meilleure vision de loin)
- PP se **rapproche** (meilleure vision de près)

Hypermétropie



Myopia

Hyperopia

Astigmatism

Questions

Question : La microscope tombait donc l'image passe par le bas de la lentille

Réponse : On respecte pas trop les conditions de Gauss. (Le microscope est cassé). Cela peut fausser la mesure de la distance par les aberrations géométriques.

Question : Comment mesurer focale ?

Réponse : L'image d'un objet en éclairage parallèle et on déplace l'écran jusqu'à trouver le plan image. Pas facile surtout pour des lentilles à grandes focales.

Question : Protocole pour mesurer avec précision la focale par source/lentille/trou/miroir ?

Réponse : Autocollimation : Trou devant la source pour avoir un petit objet lumineux. Je colle le miroir à la lentille et je déplace la lentille jusqu'à avoir la réflexion du point du même taille que le trou. La distance trou-lentille = focale. On n'est pas obligé de coller le miroir à la lentille car les rayons qui sortent de la lentille sont // . Si on n'est pas exactement à f donc les rayons ne seront pas // donc par retour-inverse on n'aura pas la même tache que le trou et en plus l'image par miroir ne sera pas forcément dans le plan objet (le trou).

Question : L'image d'un point est un point. C'est correct ?

Réponse : c'est vrai en optique géométrique. Mais par diffraction c'est une tache circulaire (d'Airy)

Question : C'est quoi le critère de Rayleigh ?

Réponse : pour distinguer 2 objets. Il est pris pour la distinction par l'oeil nu.

Question : Profondeur de champ c'est quoi ?

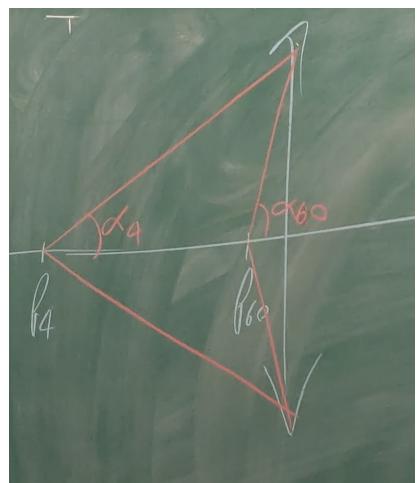
Réponse : lié à la diffraction. La distance à laquelle on place l'objet. On l'utilise en photographie pour avoir soit l'objet net et le fond flou soit l'inverse.

Question : Comment avoir une grande profondeur de champ ?

Réponse : Il faut avoir une petite ouverture numérique.

Question : Expliquer les chiffres sur le microscope

Réponse : 1er est le grossissement. Le 2nd est ON. Le 3e est distance entre oculaire et objectif (ou entre les 2 foyers F_{obj} - F_{oc}). Le 4e épaisseur lamelle de microscope.



Question : Les 2 grossissements du microscope : 4 et 60.

Lien avec leur ON ?

Réponse : La focale du plus grand grossissement est plus petite donc l'ON est plus grande pour x60. Qualitativement c'est vrai mais quantitativement non car c'est plus compliqué.

Question : Expliquer la profondeur de champ par un schéma et le lien avec ON

Réponse : Grande ON donne tache diffraction (Airy) plus petite alors petite profondeur de champ

Question : Différence entre les 2 figures claires d'empreinte digitale

Réponse : je ne sais pas

Question : Qu'est-ce qu'on met en valeur en microscopie à contraste de phase.

Réponse : En Champ sombre on voit plus les bords (objets à fort gradient). Mais à contraste de phase, former un cône de lumière mais cette fois-ci on le récupère. On focalise ces rayons et on déphase par rapport à la lumière diffusée de l'objet. On aura interférence entre les 2.

Titre : LP01 Microscopies optiques**Présentée par :** Elio BERA**Rapport écrit par :** Alex JACQUESSON**Correcteur :** Agnès MAITRE**Date :** 21.11.2022**Bibliographie**

Titre	Auteurs	Éditeur
Optique	Houard	
PCSI tout en un		Dunod
Optique physique	Taillet	

Plan détaillé*(indiquer parties, sous-parties, 1 ou 2 phrases d'explications par sous-partie, et références)*Niveau choisi pour la leçon : L3Pré-requis : Optique géométrique, Diffraction

1 Introduction

Les premiers microscopes optiques ont été élaborés au XVII^e siècle en même temps que la lunette optique.

2 Le microscope optique classique

→ Schéma du microscope Ce sont l'objectif et l'oculaire qui vont nous intéresser pour l'étude du microscope. Photo du montage du microscope

2.1 A-Principe de fonctionnement

Schéma du microscope

$$AB \rightarrow_{L_{ob}} A_1B_1 \rightarrow_{L_{oc}} \infty$$

On note la longueur optique $\Delta = F'_1F_2$. Le cercle oculaire est l'endroit où l'utilisateur va placer son œil pour que le premier va réduire le cercle oculaire et jouer sur la luminosité qu'on va avoir à l'écran (notre rétine).

2.2 Caractéristiques

$$\gamma_{ob} = \frac{A_1B_1}{AB} = \frac{F'_1A_1}{F'_1O_1} = -\frac{\Delta}{f'_1}$$

$$Gc, oc = \frac{\alpha'}{\alpha_1}$$

Sachant qu'on se trouve dans les conditions de Gauss, $\tan(\alpha') \approx \alpha' = \frac{A_1B_1}{O_2F_2}$, avec α_1 l'angle sous lequel on verrait l'objet sans instrument optique avec un œil emmetrope : $\alpha_1 = \frac{A_1B_1}{-d_m}$ $d_m = 25\text{cm}$.

En remplaçant les expressions, on trouve $Gc, micro = \frac{\alpha'}{\alpha_1}$ Généralement l'objectif est de plus courte focale que l'oculaire $Gc, micro = |\gamma_{ob}|Gc, oc$ On peut définir la puissance du microscope comme $P_m = \frac{\alpha'}{AB} = \gamma_{ob} \frac{1}{f'_2}$ en dioptrie (m^{-1})

3 Limitations du microscope

3.1 Aberrations

3.1.1 Aberrations géométrique

Lorsqu'on est plus dans l'approximation de Gauss et que l'on sort du stigmatisme approché. On distingue 4 de ces aberrations géométriques : distorsion, aplanétisme

3.1.2 Aberrations chromatiques

$$\text{Loi de Cauchy} : n(\lambda) = A + \frac{B}{\lambda^2}$$

Si pour une même lentille j'ai de la lumière blanche, le "rayon rouge" va être moins écarté de la normale à la lentille qu'un "rayon bleu". On utilise des objectifs achromats pour s'affranchir de ces aberrations chromatiques.

La lumière présente un caractère ondulatoire et c'est entre autre pour cela que l'on a une limite de résolution :

3.2 Limite de résolution de l'objectif

ouverture numérique : $\omega_0 = n \sin(u)$. Il va y avoir les objectifs sec dont le milieu vaut 1 (air) et les objectifs à immersion qui sont typiquement des objectifs trempés dans de l'huile dont l'indice du milieu vaut environ 1.5.

On a un compromis entre maximiser l'angle de l'objectif pour améliorer la résolution et se trouver dans les conditions de Gauss.

On ne peut rien observer en deça de $\min = \frac{0.61\lambda_0}{\omega_0} \approx 0.2\mu m$
photo objectif de microscopes

4 Microscope à contraste de phase

schéma optique de Fourier

5 Conclusion

On a vu l'exemple classique du microscope et ses limitations, le microscope à contraste de phase. On aurait pu présenter le microscope à champ sombre ou à fluorescence.

Questions posées par l'enseignant (avec réponses)

(l'étudiant liste les questions posées, ainsi que les réponses données par l'enseignant. Si certaines réponses manquent, l'enseignant pourra compléter le document)

Vous avez cité dm : distance minimal d'un œil emmetrope

Q : Pour les microscopes classiques delta vaut 16cm, est-ce que c'est le cas sur votre montage ? R : On a bien ça sur le microscope

Q : Pourquoi ils mettent tous la même longueur ? R : c'est plus simple de standardiser une longueur pour les constructeurs et les utilisateurs

Q : Qu'est-ce que vous voulez dire par grossissement et grandissement : R : on a *10 pour le grossissement de l'objectif et pareil pour le grandissement de l'oculaire

Q : Sur ce microscope vous avez parlé de l'oculaire, de l'objectif, à quoi servent les vis sur le microscope ? R : Elles servent à ajuster les distances objectif échantillon

Q : Quel est la condition pour que vous ayez une image à l'infini ? R : le plan de l'image secondaire soit confondue avec le plan focal objet de l'oculaire

Q : D'où vient la loi de Cauchy ? R : Elle exprime la dispersion de la lumière dans un milieu

Q : Quelles sont les ouvertures numériques typique d'un téléobjectif ? R :

Q : D'où ça sort le 0.61 ? R : ça relève du caractère ondulatoire de la lumière, c'est la moitié du premier zero de la fonction de Bessel qui décrit la figure de diffraction d'une onde qui rencontre un obstacle circulaire

Q : Critère de Rayleigh ? R : Pour discerner deux points il faut que le maximum d'une tâche d'un point coïncide avec le minimum de la tâche de l'autre point

Q : Si j'ai un point source, par exemple une molécule qui peut émettre de la lumière, je veux regarder la molécule en lui envoyant de la lumière UV, qu'est ce que l'on va voir sur l'échantillon ? R : On garde cette résolution et on voit un étache dont la largeur est celle de la tache d'Airy. Il s'agit de la PSF (point spread function) ou, fonction d'étalement optique ?

Q : Le microscope est beaucoup utilisé pour la biologie, qu'est-ce qu'ils utilisent comme microscope ? R : le microscope à contraste de phase peut être utilisé pour observer des cellules, le microscope de fluorescence pour observer des objets biologiques qui présente de la fluorescence

Q : Qu'est-ce qu'on regarde avec le microscope à fluorescence ? R : la lumière defluorescence émise par des objets fluorescents

Q : Quels sortes d'objectifs ils utilisent (les biologistes) ? R : des objectifs à air ou des objectifs à eau

Q : Pourquoi la direction des rayons n'est pas la même pour tous les rayons avec un objectif à air quand la lumière traverse une interface ? R : réfraction des rayons

Q : Est-ce que c'est possible que vous ayez des rayons issus du même point qui n'ait pas une image au même endroit dans un système stigmatique ? R : l'image d'un point est forcément un point dans un système stigmatique

Pour démontrer la relation de Cauchy ($n(\lambda)$), on prend le modèle de Lorentz de l'électron élastiquement lié

On veut augmenter la résolution et augmenter le contraste en microscopie, le problème c'est que pour voir les objets il faut de la lumière, pour éclairer l'objet mais elle va nous éblouir dans le même temps, la question est comment je fais pour avoir assez d'éclairage sans être ébloui

Commentaires lors de la correction de la leçon

(l'étudiant note les commentaires relatifs au contenu de la leçon : niveau, sujets abordés, enchaînement, réponses aux questions, etc. L'enseignant relit, et rectifie si besoin)

- * Peut gagner du temps sur la rapidité
- * le site microscopyu est un site très utile pour cette leçon
- * c'était bien dans l'ensemble
- * les calculs sont bien faits
- * le bémol : on a l'impression que tu es trop juste sur les connaissances des fois, il faut prendre confiance en soit
- * faire attention à la justesse des termes
- * la question de la résolution est centrale
- * la question de l'éclairage est aussi centrale
- * la PSF, point spread function

Exemples de « passages obligés » sur cette leçon

Microscope à champ sombre

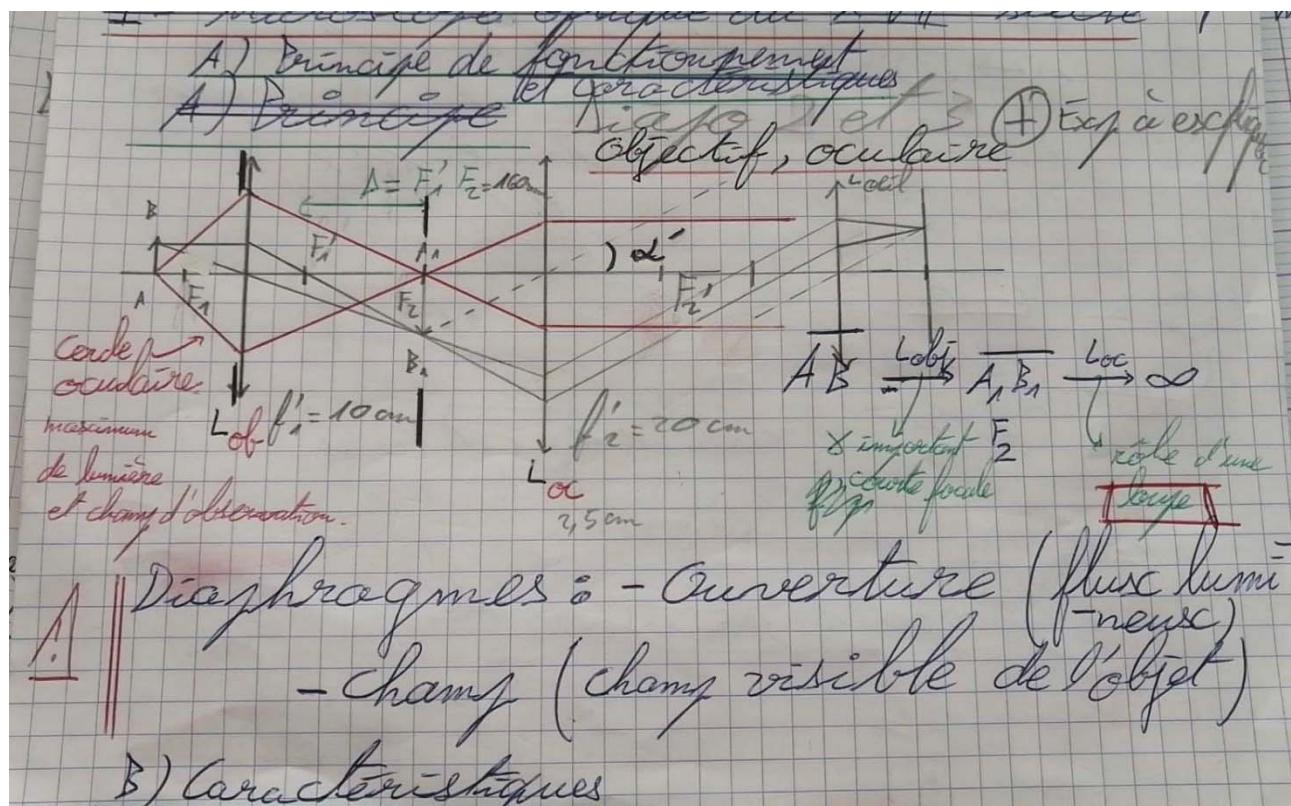
Microscope à contraste de phase

Microscope confocal

Microscope à fluorescence

Microscope à polarisation

Schémas de la leçon dans l'ordre => :



$$\chi_{ob} = \frac{A_1 B_1}{AB} = \frac{F_1 A'}{F_1 O} = -\frac{\Delta}{f_1} \quad \times 20 \quad Q$$

(on ne prend pas en compte la distance focale car elle n'est pas au niveau du P.P. d'un oeil émoustillé)

$$G_{oc} = \frac{d}{d'} = \frac{A_1 B_1}{f_1^2} \cdot \frac{d_m}{A_1 B_1} = \frac{d_m}{f_1^2} \quad \times 10$$

$$\tan \alpha' \approx d' = \frac{A_1 B_1}{-f_1}$$

$$\tan \alpha_1 \approx d_1 = \frac{A_1 B_1}{-d_m}$$

$$G_{micro, oc} = \frac{d'}{d} = -\frac{f_1^2}{AB} - \frac{A_1 B_1}{AB} \cdot \frac{d_m}{f_1^2} = |\chi_{ob}| \cdot G_{oc}$$

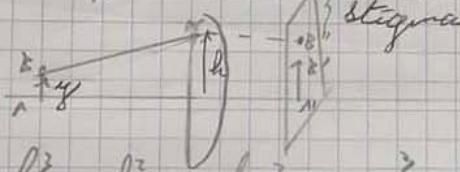
$$\beta_m = \frac{\alpha'}{AB} = \frac{A_1 B_1}{AB} \cdot \frac{1}{f_1^2} = |\chi_{ob}| \cdot \frac{1}{f_1^2} \quad (800.8)$$

III - Limitations du microscope

A) Aberrations

- Géométrique : forme de lentilles (aberrations)

on sort des conditions de Gauss.
stigmatisme approché.

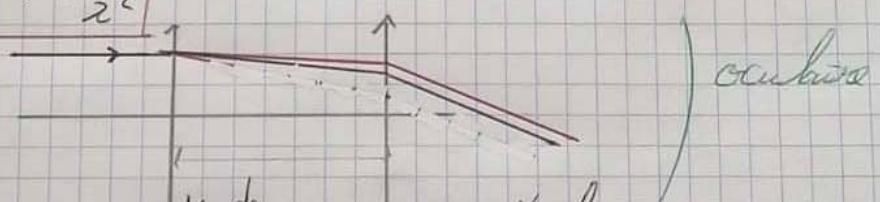


$$BF' = a_1 B_1 + a_2 h_2 + a_3 h_2^2 + a_4 h_2^3$$

- sphérique
- coma
- astigmatisme
- distorsion

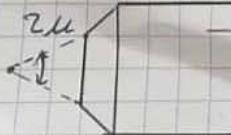
- chromatique : caractère dispersif du verre des lentilles

$$n(\lambda) = 1 + \frac{E}{\lambda^2}$$



(caractère ondulatoire de la lumière) objectif (principe ↔ achromat)
B) Bureau de résolution secondaire ↔ apochromat

de l'objectif Dia p 4.



$$w_o = \frac{w \sin(u)}{n \sin(u)} \quad \text{aux conditions de Gauss}$$

(angle de l'entrée de l'ob)

$$AB_{min} = 0,61 \frac{z_o}{w_o} \approx 0,2 \mu m$$

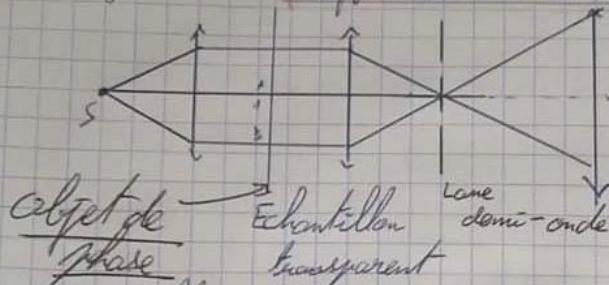
(seuil (x10))

(immersion (x1,5))

$z_o = 400 \text{ nm}$
 $w_o \approx 1,25$

Stabilise l'optique de Fourier pour améliorer la qualité des images

diffraction de Fraunhofer



Rendre visibles les variations de phases dues à de légers changements de l'indice optique

B) Influence de la lame

$$\text{Après échantillon : } A(x, y) = A_0 e^{i\phi(x, y)}$$

$$A(x, y) \approx A_0 (1 + i\phi(x, y)) \text{ déphasage faible}$$

$$TF[\alpha](k_x, k_y) \approx \underbrace{A(k_x, k_y)}_{\substack{\text{après} \\ \frac{\pi}{2}}} + i \underbrace{TF[\phi](k_x, k_y)}_{\substack{\text{n'affecte que le point central} \\ \text{lame}, \text{ensemble du plan}}}$$

$$TF[\alpha](k_x, k_y) = \underbrace{A(k_x, k_y)}_{I=1-t^2} + TF[\phi](k_x, k_y)$$

Variations de phase deviennent des variations d'amplitude que l'on peut mieux distinguer

- fluorescence

- champ sombre

Titre : Microscopies Optiques**Présentée par :** Valentin Nourry**Rapport écrit par :** Raphaëlle Pinardon**Correcteur :** Agnès Maître**Date :** 28/11/2023**Bibliographie**

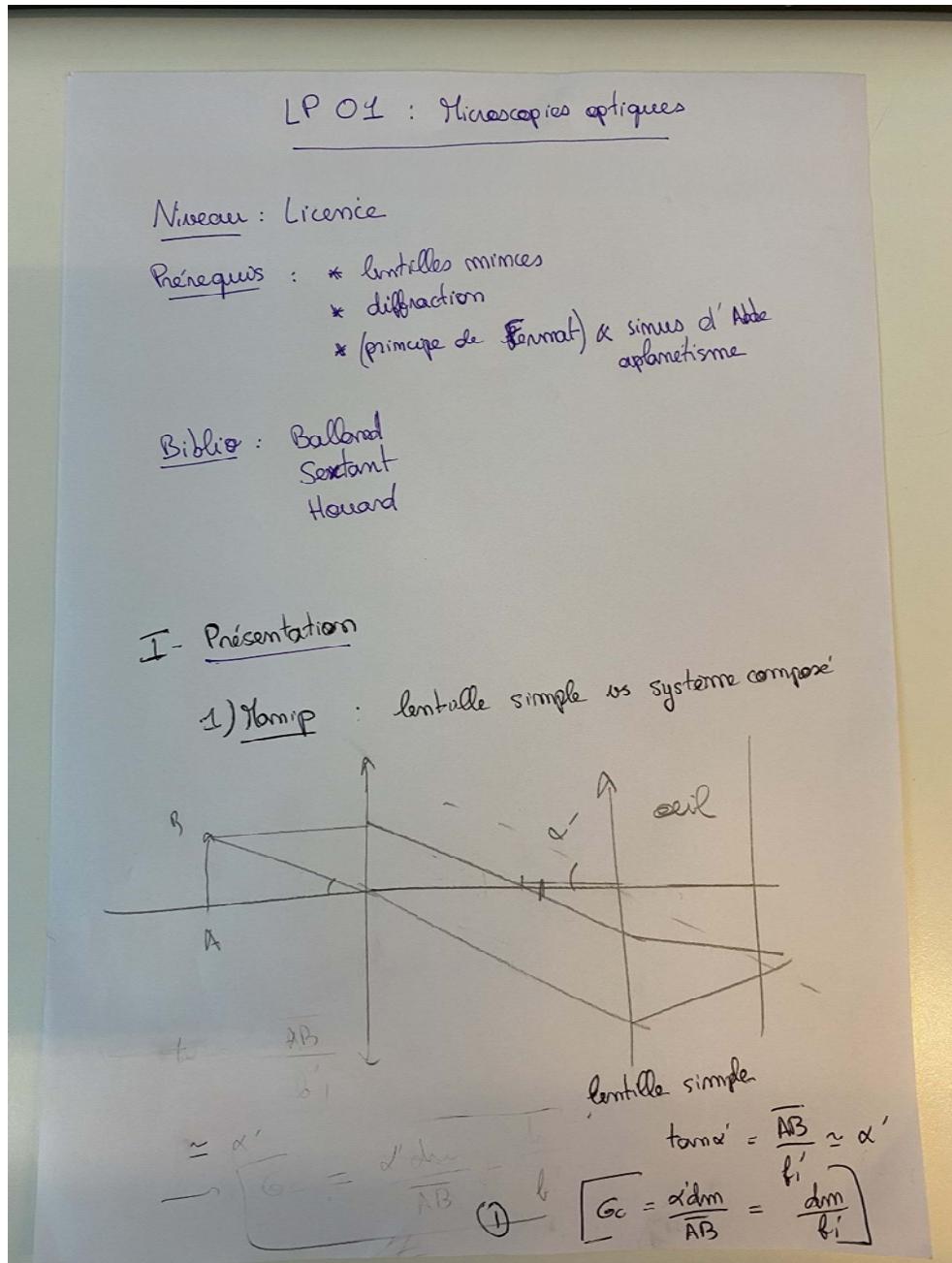
Titre	Auteurs	Éditeur
Optique Géométrique	Balland	PPUR
Optique	Houard	De Boeck
Optique expérimentale	Sextant	Hermann

Plan détaillé

*(indiquer parties, sous-parties, 1 ou 2 phrases d'explications par sous-partie, et références)*Niveau choisi pour la leçon : LicencePré-requis :

- Optique géométrique
- Chemins optiques et aplanétisme
- Diffraction

- I. Présentation du microscope
- II. Propriétés
- III. Techniques



Présentation d'un microscope composé de deux lentilles formant un image à l'infinie, visualisée par un œil simplifié (un écran au foyer image d'une lentille de focale 40 cm). Manip expliquée dans le petit 3).

2) Histoire

Zacharias Janssen, lUNETIER avec son fils en 1590
ont eu l'idée de "regarder à la loupe, non plus l'objet,
mais l'image agrandie de cet objet"

Galilée 1610 → modèle de microscope mais son nom
n'est associé à la lunette.

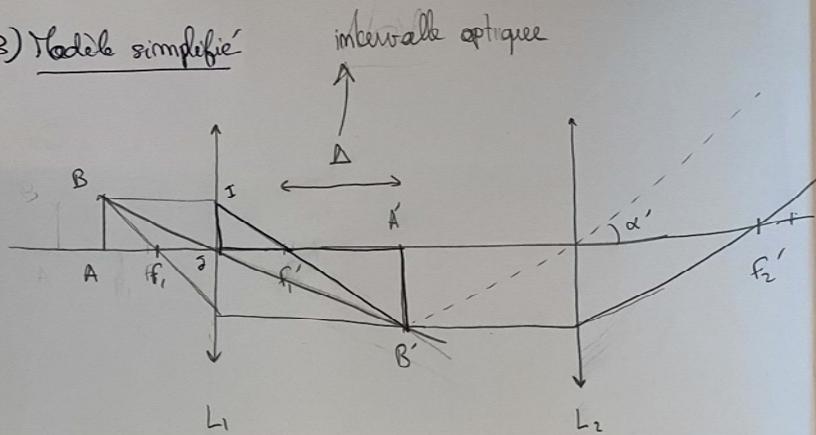
1665 "Micrographia", Robert Hooke ouvre la voie à
l'observation microscopique en biologie : poils, cellules,
diaphragmes, roches. Premier à utiliser le mot cellule.

Microscope composé (3 lentilles)

Limité par les aberrations chromatiques
Antoine van Leeuwenhoek : lentilles, petits globes de verres
d'apprêter → analyser les tissus avec des grossissements
jusqu'à $500\times$. $\sim \mu\text{m}$.

Ernest Abbe

Limite du pouvoir de résolution à cause de la diffraction.

3) Modèle simplifié

Utilisation normale : $A' = f_2 \Rightarrow$ image à l'infini

Grossissement : $G_c \equiv \frac{\alpha'}{\alpha_{pp}}$, où $\alpha_{pp} \equiv \frac{\overline{AB}}{dm}$

Nous allons utiliser le modèle simplifié dans la suite pour calculer les grandeurs importantes à prendre en compte lors de l'utilisation d'un microscope.

On peut recenser de nombreuses parties d'un microscope commercial

schéma du microscope du commerce

- oculaire
- objectif
- éclairage
- lame et objet
-
-
-

(3)

II - Propriétés du microscope

1) Grossissement

$$\left\{ \begin{array}{l} G_{c,oc} = \frac{\alpha'}{\alpha'_{pp}} = \frac{\alpha' dm}{A'B'} \\ G_c = \frac{\alpha'}{\alpha_{pp}} = \frac{\alpha' dm}{AB} = G_{c,oc} \frac{A'B'}{AB} = D_{obj} G_{c,oc} \end{array} \right.$$

Calcul du grossissement :

$$D_{obj} = \frac{A'B'}{AB} = \left(- \frac{f_1}{f_1 A'} \right) = - \frac{f_1' A'}{f_1'} = - \frac{D}{f_1'}$$

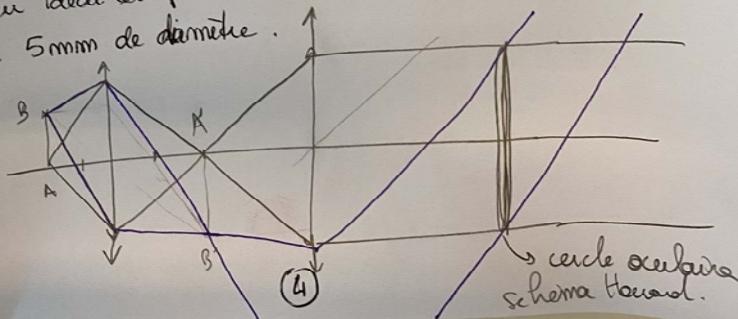
Thales sur $A'B'f_1'$, ISF_1'

$$\text{Par ailleurs, } \tan \alpha' = \frac{A'B'}{f_1'} \approx \alpha' \rightarrow G_{c,oc} = - \frac{dm}{f_1'}$$

donc $G_c = \frac{D dm}{f_1' f_1} \rightarrow$ dépend de la taille de dm ,
en définit la puissance ($P = \frac{G_c}{dm}$)

2) cercle oculaire

minimum de section du faisceau à la sortie de l'oculaire, lieu idéal où placer l'œil, dont la pupille est de l'ordre de 5mm de diamètre.



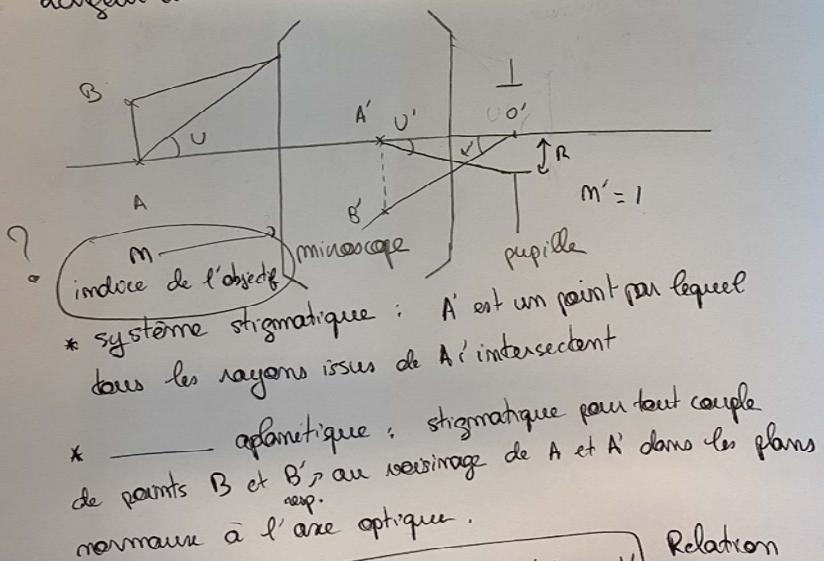
Il se situe proche de f_2' car c'est l'image de L_1 par rapport à L_2 (l'axe optique coupe l'axe optique) et il est déphasé.

$$\text{Newton: } \overline{f_2 O f_2' O'} = -f_2'^2$$

$$\Rightarrow \overline{f_2' O'} = \frac{f_2'^2}{f_2' + \Delta} \approx \frac{f_2'^2}{\Delta} \text{ petit si } G \text{ est grand.}$$

A.N pour microscope comme
et manip initiale.

danger du cercle occulte (plus petit que la pupille ?)



$$\Rightarrow m \overline{AB} \sin U = +m' \overline{A'B'} \sin U' \quad \text{Relation des sinus d'Abbe}$$

(5) conditions

Conditions de Gauss $\Rightarrow m \overline{AB}^{\text{sim}}(U) \simeq +\overline{A'B'} U'$

$$\text{Or } U' = \frac{R}{\alpha'}$$

$$\text{donc } R \simeq +\overline{O'A'} \frac{m \overline{AB}^{\text{sim}}(U)}{\overline{A'B'}}$$

$$\text{De plus, } \alpha' = \frac{\overline{O'A'}}{\overline{O'A}} \Rightarrow R \simeq \frac{m \text{ sim } U}{\alpha'} \overline{AB}$$

$$R \simeq \frac{m \text{ sim } U}{P}$$

assenture
puissance

Conclusion: On doit fixer R pour correspondre à la taille de la pupille \leadsto pourquoi pas $R \ll 1 \text{ mm}$?

A.N:

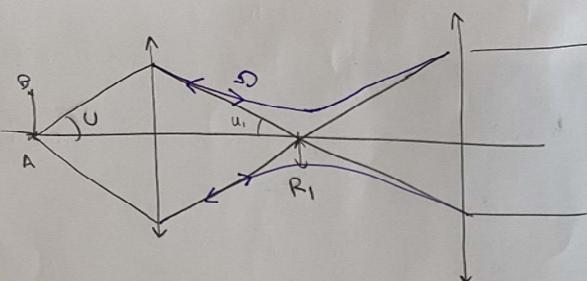
- microscope de commerce

- montage

3) Limite de résolution

Il existe plusieurs limites à un microscope optique. Je fais le choix de me concentrer sur la limite de résolution car c'est la limite fondamentale qui a poussé le microscope vers une ère moderne de la physique (effet tunnel, champ électrique).

⑥



1^{ère} tâche d'Airy : $\tan u_i = \frac{0,61\lambda}{R_1} \approx u_i$

pour un trou de

rayon R_1

problème inverse

~~problème inverse~~

donc $R_1 \approx \frac{0,61\lambda_o}{\cancel{\tan u_i}} \approx \frac{0,61\lambda_o}{\cancel{\sin u_i}}$

Sinus d'Abbe : $m \overline{AB} \sin u = 1 \times \overline{A'B'} \sin u_i$

On cherche $(AB)_{\min}$ tq $R_1 = A'B'$

~~détail n'importe~~
le plus petit

!!

peut-être séparateur
du microscope.

$\left\{ \begin{array}{l} \text{rg: } A'B' < R_1 \\ \Rightarrow \text{plusieurs} \\ \text{objets inclus} \\ \text{dans la tâche} \\ \text{d'Airy} \\ \Rightarrow \text{mobjet apparent} \\ \text{détail} \end{array} \right.$

$$(AB)_{\min} = \frac{R_1 \sin u_i}{m \sin u} = \frac{0,61\lambda_o}{m \sin u}$$

⑦

Questions posées par l'enseignant (avec réponses)

(l'étudiant liste les questions posées, ainsi que les réponses données par l'enseignant. Si certaines réponses manque, l'enseignant pourra compléter le document)

-Dans votre expérience, quelle est la différence entre grossissement et grandissement ?

Grossissement = rapport des angles

Grandissement = rapport de tailles

-Quel est le grossissement et les caractéristiques de votre montage ?

Taille de l'image = 3.8 cm

Taille de l'objet = 1.5 cm

Grandissement de l'objectif = Δ/F_1'

Grossissement Commercial = $\alpha'/\alpha_{pp} = \alpha'*d_m / AB = 1.7$

-Le grandissement dépend-il de l'ouverture ?

Non

-En ce qui concerne le vrai microscope, quels sont les ordres de grandeurs des grandissements/grossissement ?

Grossissement commercial = grandissement objectif * grossissement oculaire. Ces caractéristiques sont à lire directement sur l'oculaire et l'objectif du microscope commercial.

-Quelle est l'autre indication sur ce microscope ?

Il y a le nombre d'ouverture.

-Pouvez-vous calculer la puissance de votre microscope simplifié ?

Oui, elle vaut un peu moins de 1/100.

-Comment se fait l'éclairage dans un microscope ?

L'éclairage s'effectue par le bas. Il peut s'agir d'une transmission par éclairage naturel ou par une lampe. Il doit s'agir d'un faisceau de lumière homogène pour qu'il n'y ait pas de biais.

-Dessinez un éclairage de Köhler ? A quoi sert-il ?

Un éclairage de Köhler permet d'avoir un éclairage uniforme sur l'échantillon. C'est l'éclairage utilisé dans la plupart des microscope actuels

-Quels sont les autres types de microscopes ?

Microscope à contraste de phase, microscope confocal etc.

-Comment faire pour avoir une très bonne résolution ?

Nous pouvons augmenter l'ouverture.

-Quel est le capteur ?

L'œil ou un CCD.

-En cas de CCD, que faut-il prévoir en plus du microscope ?

Il faudrait mettre une lentille à la sortie de l'oculaire en cas de CCD comme capteur.

-Quels sont les microscopes utilisés aujourd'hui ?

Microscope binoculaire

Microscope confocal, à contraste de phase, effet tunnel etc

-Qu'appellez-vous aberrations ?

Il existe des aberrations chromatiques et des aberrations géométriques (distorsion de l'image de l'objet lorsqu'on sort des conditions de Gauss).

-Quelle partie du microscope allez-vous modifier pour améliorer les problèmes d'aberrations ?

Il faut améliorer l'objectif pour corriger les aberrations géométriques et chromatiques.

-Pouvez-vous parler de la profondeur de champ ?

Il s'agit de l'intervalle de distance possible au niveau de l'objet pour avoir une image nette.

-De quoi dépend la profondeur de champ ?

Elle dépend de l'ouverture numérique et des distances focales.

Il faut avoir une petite ouverture numérique pour avoir une grande profondeur de champ

Il n'est pas intéressant d'avoir une grande profondeur de champ (devant l'épaisseur de l'objet) en général.

Il existe des microscope confocal dont la profondeur de champ est faible pour voir un objet en 3D.

-Quels objets de phase connaissez-vous ?

Nous pouvons penser aux lames biréfringentes (demi-onde ; quart-d'onde etc). En biologie, à des cellules transparentes.

-Sur quel principe repose la microscopie à champ proche ?

Il repose sur le principe de la dualité onde /particules des photons.

La distance entre l'éclairage et l'objectif est de l'ordre de la longueur d'onde.

-Sur quel principe repose la microscopie électronique ?

Elle utilise le principe de l'effet tunnel (électrons passant de l'objet à la pointe du microscope).

On obtient une résolution de la taille atomique.

Commentaires lors de la correction de la leçon

(l'étudiant note les commentaires relatifs au contenu de la leçon : niveau, sujets abordés, enchaînement, réponses aux questions, etc. L'enseignant relit, et rectifie si besoin)

Site Microscopyu à mettre dans la liste des sites à avoir pour le jour du concours.

Il est toujours intéressant de faire une partie historique.

Leçon agréable à l'écoute.

Microscopies optiques : très bien fait, calculs bien menés, très bonne leçon. Très bien d'avoir réfléchi à l'avance aux paramètres du montage optique présenté.

Attention au pluriel du titre : il aurait fallu une autre partie un peu plus approfondie sur une microscopie plus moderne. 1 seul exemple suffit.

Aujourd'hui, on utilise des microscopes afocaux.

Les indispensables de cette leçon :

Le calcul du grossissement commercial et le pouvoir de résolution.

On peut se passer des parties/ calculs faits sur le cercle oculaire, la profondeur de l'éclairage et les aberrations.

Exemples de « passages obligés » sur cette leçon

On traitera le microscope à contraste de phase

On traitera le microscope de fluorescence

On abordera la notion de profondeur de champ

On discutera de la résolution du microscope