Lumière est un phénomène électrique et magnétique.

Dans un système l'énergie ne peut que diminuer.

Rmq: le verre et l'huile ont souvent un n proche.

Polariser une lumière consiste à filtrer l'angle d'incidence des ondes.

Microscope est un appareil composé:

- D'un objectif qui sert à
- D'un oculaire qui sert à corriger les aberrations.

Les aberrations sont dû au fait que la fréquence des ondes lumineuses a une incidence sur l'angle de réfraction lors d'un changement de milieu. Cela donne lieu au phénomène de diffraction.

Diffraction phénomène d'étalement de la lumière

Ouverture numérique l'angle d'écart et la quantité de réfraction.

L'indice de réfraction est une mesure l'atténuation de l'onde dans le milieu

Résolution

La limite de résolution correspond à la mesure de la diffraction du système optique.

Nb: plus la résolution est grande moins l'image est détaillée.

La résolution peut se mesurer comme :

- la distance minimale qui permet de distinguer deux points.
- Le rayon d'un point appelé resel (plus il est grand, moins bonne est la résolution).

Ouverture numérique qui correspond à la taille de l'objet

$$(ON = n.\sin(\theta))$$

$$R_{lat\'erale} = \frac{\lambda}{2.\,ON}$$

Mesurer le rayon du disque de l'image.

$$R_{lat\'erale} = \frac{2\lambda}{ON^2} =$$

La résolution dépend :

- du diamètre de l'objectif. Plus il est grand, moins il y a de diffraction et plus la résolution est basse.
- Des longueurs d'ondes utilisées.

<u>Rmq</u>: la microscopie électronique permet une meilleure résolution car la longueur d'onde des électrons est beaucoup plus faible.

Image numérique : déterminer la résolution optimale pour enregistrer une image

Deux objectifs antagoniste conserver le plus d'informations limitant la taille du fichier.

Double de la résolution pour chaque image Sanders.

Champs sombre et contraste de phase

Modifier la façon dont on éclaire l'échantillon pour visualiser les détails.

Contraste augmenter utilisation de la réfraction différente en fonction de la composition de l'échantillon.

Phase propriété d'addition et de soustraction des longueurs d'onde.

Un anneau lumineux éclaire l'échantillon.

Fonction d'un microscope spectre d'absorbance

Peu fluorescence + exemple critère de la choix

Technique micro

AR

Fluorescence

- Luminescence par l'excitation des électrons d'un atome. On parle de fluorescence si le temps de démission d'un nouveau photon est « instantané » et sinon de phosphorescence.
- Incandescence par la chaleur (agitation thermique).
- Électroluminescence par le passage d'un courant d'électrons.
- Radioluminescence.
- Chimiluminescence lorsque le photon est produit au cours d'une réaction chimique (dont la bioluminescence de la luciférase).

On définit le rendement quantique

De nombreux paramètre influence le rendement et l'efficacité du fluorochrome (polarité, ph, ions, liaison OH, pression, viscosité, T°, inhibiteurs, potentiel électrique).

Polarité un solvant faiblement polaire à tendance à diminuer la longueur d'onde d'émission.

En augmentant la viscosité, on limite la dégradation du fluorochrome.

Fonction d'étalement du point correction informatique.

Confocal illumination de l'échantillon par laser. Précision de la zone éclairée. Modifie la façon dont l'échantillon est éclairé.

Déterminer la bonne dimension d'une image pour limiter la perte de donner lorsqu'il y a une conversion en binaire (enregistrer en format informatique).

L'idée est de

Résolution x grossissement

Résolution maximale au double de celle du système d'acquisition.