

# PHS2223- INTRODUCTION À L'OPTIQUE MODERNE

## Travail préparatoire - Laboratoire 1

*Présenté par :*

NICOLAS LEBLANC 2074634  
LOUIS-FRÉDÉRIC RACICOT 2073497  
SABRINA KIRK 2074555  
ÉMILIE MARTEL 2079641

*Remis à :*

GUILLAUME SHEEHY  
BILLE MAUBOIS  
ESMAT ZAMANI AHMAD

VENDREDI, 7 OCTOBRE 2022



**POLYTECHNIQUE  
MONTREAL**

UNIVERSITÉ  
D'INGÉNIERIE

# 1 Introduction

0.7/1

Le laboratoire 1 porte sur la microscopie confocale, une technique permettant d'obtenir des images à haute résolution d'échantillons plus épais comme des tissus biologiques [1]. Le but de cette expérience est de se familiariser avec ce type de microscopie en mesurant la résolution axiale d'un système confocale simple. Pour ce faire, les courbes d'intensité axiale du système avec et sans sténopé sont trouvées expérimentalement. Les sections suivantes donnent un bref aperçu de la théorie derrière la microscopie confocale et détaillent le modèle développé pour calculer une résolution axiale théorique. Le montage à effectuer et les manipulations de l'expérience sont également présentés. En se basant sur le modèle de la section 2.2, on pose l'hypothèse que la résolution axiale augmente avec la taille du sténopé  $d$  et la longueur focale  $f$ , mais qu'elle n'est pas influencée par la séparation entre les lentilles du montage  $L$ .

→ voir attente avec/sans sténopé ?

## 2 Théorie

### 2.1 Microscopie confocale

1/1

La microscopie confocale est essentiellement basée sur la microscopie standard avec quelques ajouts. La figure 1 présente un tel montage. Un sténopé placé juste avant le détecteur permet de recevoir uniquement les rayons lumineux provenant du plan focal [1]. On augmente ainsi considérablement la résolution latérale mais on diminue grandement la quantité de lumière disponible pour former l'image, rendant celle-ci impossible à détecter à l'oeil nu. On utilise alors un photomultiplicateur pour faire l'acquisition de l'image électroniquement. Pour former une image, on doit effectuer un balayage sur le plan xy pour obtenir une image complète à une hauteur  $z$ , un z-scan [1]. En répétant l'opération sur toute la hauteur en  $z$  de l'objet et en superposant les z-scan on obtient une image en 3D de l'objet.

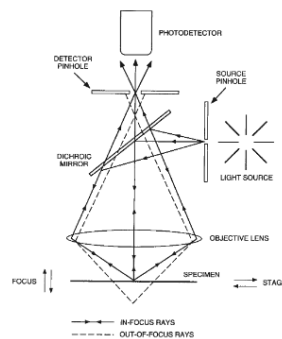


FIGURE 1 – Montage de base microscopie confocale [1]

Une manière de caractériser la précision d'un système de microscopie confocale est la résolution axiale. On peut estimer cette grandeur à partir de l'épaisseur focale ( $\delta_z$ ) [1]. Chacun des plans

focaux qui sont balayés pour former les éléments de l'image tridimensionnelle ont une épaisseur  $\delta_z$ . Cette épaisseur vient limiter la résolution en  $z$  des détails observables [1]. À la figure 2, on voit une représentation de  $\delta_z$  et ses caractéristiques déterminantes.

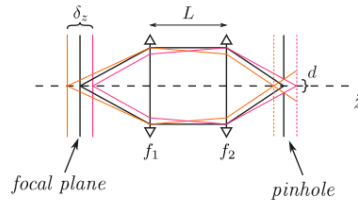


FIGURE 2 – Modèle de résolution axiale [1]

2/2

## 2.2 Modèle de calcul de la résolution

Pour calculer les positions des plans images, le concept des triangles semblables est utilisé. Pour sa part, la méthode des matrices est utilisée pour calculer la résolution axiale à partir des valeurs trouvées. L'image à gauche de la figure 3 montre le système de triangles qui peut être formé en regardant pour le plan image en rose du côté droit du système de microscopie confocale. On obtient donc la relation :  $d/D = h/(f_2 + h)$ , où  $d$  est la largeur du sténopé,  $D$  est le diamètre des lentilles,  $h$  est la hauteur du petit triangle ayant comme base le sténopé et  $f_2$  est la longueur focale de la première lentille. En résolvant pour  $h$ , on obtient :  $h = (d \cdot f_2)/(D - d)$ . On peut donc calculer la position du plan image rose en sommant  $f_2$  et  $h$ . De manière similaire, on trouve la position du plan image orange en utilisant les relations des triangles semblables  $l/(f_2 + l) = (d/2)/(D/2)$  pour ainsi obtenir  $l = (f_2 \cdot d)/(D - d)$ . La position du plan image orange peut être calculée en soustrayant la distance  $l$  de la longueur focale  $f_2$ . Les différentes variables utilisées pour le plan image en orange sont définies à l'image à droite de la figure 3.



FIGURE 3 – Schémas montrant les variables utilisées pour calculer les distances des plans images.

Avec la position des plans images, il est possible de calculer la résolution axiale à l'aide de la méthode des matrices. En commençant du côté gauche du montage d'un système confocal, voir figure 4, on voit qu'un rayon lumineux subi 5 étapes. D'abord, une translation d'une distance  $x$ . Lorsque le

rayon est mesurée à la position du plan orange, la distance  $x$  sera égale à  $x_1$ , ce qui voudra dire qu'il provient du plan orange à droite. Similairement,  $x$  vaudra  $x_2$  lorsque le rayon provient du plan rose à droite et il est mesuré au plan rose à gauche. Le rayon subit ensuite une réfraction par la lentille mince  $f_1$  et une translation d'une distance  $L$ . Suite à ces deux opérations, le rayon subit une réfraction par la lentille mince  $f_2$ , puis il subit une translation qui vaudra  $f_2 - l$  si le rayon provient du plan orange ou  $f_2 + d$  si le rayon provient du plan rose.

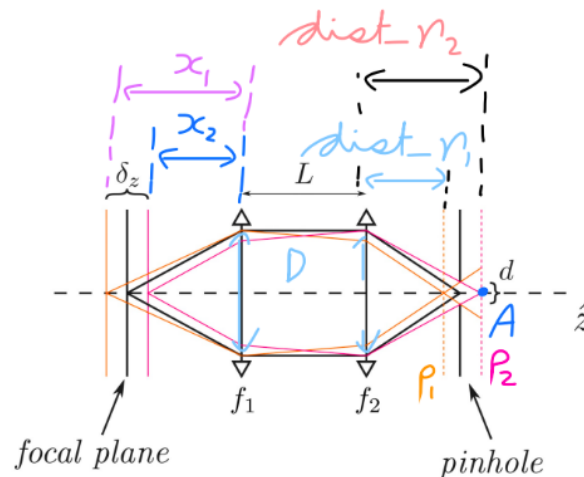


FIGURE 4 – Montage de base microscopie confocale [1]

Pour récapituler, le rayon subit les 5 opérations suivantes [2] :

1. Translation de  $x$  :  $M_1 = \begin{pmatrix} 1 & x \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$
2. Réfraction  $f_1$  :  $M_2 = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ -1/f_1 & 1 \end{pmatrix}$
3. Translation de  $L$  :  $M_3 = \begin{pmatrix} 1 & L \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$
4. Réfraction de  $f_2$  :  $M_4 = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ -1/f_2 & 1 \end{pmatrix}$
5. Translation de  $dist_{image}$  :  $M_5 = \begin{pmatrix} 1 & dist_{image} \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$

La matrice totale  $M$  est donc :  $M = M_5 M_4 M_3 M_2 M_1$ . En regardant la figure 5, il est possible de voir que les rayons d'entrée et de sortie convergent chacun en un point donné. Le système se retrouve donc dans la situation où le coefficient  $B$  de la matrice  $M_4 = \begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix}$  est nul [2]. Pour résoudre pour

l'inconnu  $x$ , il faut calculer la matrice  $M$  et poser le coefficient  $B$  égal à 0 [2]. Ce calcul est fait pour chaque valeur de  $dist_{image}$ , ce qui permet ainsi de calculer les différentes valeurs de  $x$ , soit  $x_1$  et  $x_2$ . La résolution axiale est ainsi déterminée en prenant la valeur absolue de la soustraction des deux valeurs de  $x$  trouvées. La valeur absolue sert à s'assurer que la résolution axiale est positive.

### 3 Méthodologie

#### 3.1 Présentation du montage 1/1

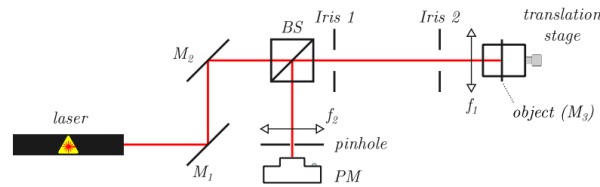


FIGURE 5 – Schéma du montage à réaliser [1]

Le montage est composé [1] :

1. D'une source d'alimentation
2. De 3 miroirs avec vis d'alignement ( $M_1$ ,  $M_2$  et  $M_3$ )
3. D'un cube séparateur de faisceau (BS) ✓
4. De 2 iris (Iris 1 et Iris 2)
5. De 2 lentilles ( $f_1 = f_2 = 35 \text{ mm}$ )
6. D'une monture de translation  $\hat{z}$
7. D'une monture de translation  $XY$
8. D'un sténopé  $\phi = 75 \mu\text{m}$
9. D'un puissance mètre (PM)

Le système de microscopie confocale qui sera utilisé en laboratoire est montré à la figure 5. Un laser, ayant une longueur d'onde  $633 \text{ nm}$  est utilisé comme source. Celui-ci est réfléchi par un miroir  $M_1$  qui envoie le faisceau du laser vers le deuxième miroir  $M_2$ . Celui-ci réfléchit le laser de manière à ce qu'il soit horizontal. La prochaine composante, soit un cube séparateur de faisceau (BS), sépare le faisceau en deux. Une partie passe par deux iris qui contrôlent la quantité de lumière qui passe par la lentille 1, ayant une longueur focale  $f_1 = 35 \text{ mm}$ , de manière à ce que le rayon passe par le centre du miroir  $M_3$ . L'autre partie est déviée vers le haut et est perdue. Le rayon réfléchi par le miroir  $M_3$

revient sur son chemin et est dévié par le séparateur de faisceaux vers une deuxième lentille, ayant une longueur focale de  $f_1 = 35$  mm. Il passe ensuite par un sténopé ayant une taille de  $75 \mu\text{m}$ . Le faisceau laser est ensuite détecté par un puissance-mètre.

### 3.2 Explications 1/1

1. Après avoir assemblé et aligné le montage présenté à la figure 1, ajuster la position des montures de translation  $\hat{z}$  et XY afin de maximiser la puissance mesurée par le puissance mètre. Noter la puissance.
2. Ajuster la vis de contrôle de la monture de translation  $\hat{z}$  afin de légèrement décaler l'objet image ( $M_3$  sur la figure 5).
3. Noter la distance décalée et la nouvelle puissance mesurée.
4. Refaire les étapes 2 et 3 afin d'obtenir plusieurs paires de données (distance décalée; puissance mesurée).
5. Tracer une courbe Puissance vs Position avec ces données.
6. Retirer le sténopé du montage et refaire les étapes 2 à 5 pour obtenir la courbe Puissance vs Position sans sténopé.

## 4 Hypothèses 3/4

### 4.1 Comparaison entre la résolution axiale et la taille du sténopé

Sachant que les lentilles qui sont utilisées en laboratoire ont une longueur focale de 35 mm, les valeurs de longueur focale considérées sont de [25, 35, 50, 100, 150] mm. De plus, sachant que le sténopé utilisé en laboratoire a une largeur de  $75 \mu\text{m}$ , on fait varier la largeur du sténopé à des valeurs de [50, 75, 100, 150]  $\mu\text{m}$ . La figure 6 présente la relation entre la résolution axiale pour une fréquence donnée et différentes valeurs de la largeur du sténopé en posant que  $L = f$  :

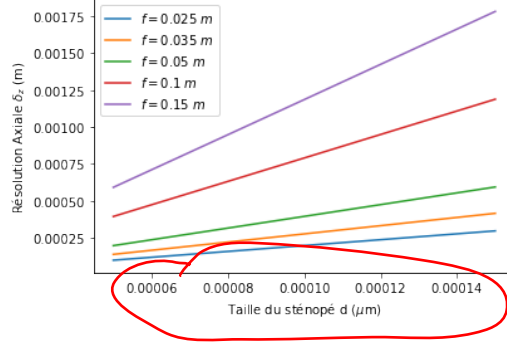


FIGURE 6 – Variation de la résolution axiale en fonction de la taille du sténopé pour plusieurs fréquences

En regardant la figure 6, il semble que  $\delta_z$  augmente linéairement avec  $d$  pour un  $f$  donné. Cette tendance est logique, car plus  $d$  est grand, moins la quantité de lumière passant par celui-ci sera concentrée. Cette plus grande séparation entre les rayons lumineux résultera en un plus grand  $\delta_z$ , car les ondes seront plus dispersées. Il semble aussi que la résolution axiale augmente linéairement avec la longueur focale.

## 4.2 Comparaison entre la résolution axiale et la longueur focale des lentilles

La figure 7 a été obtenue en calculant la résolution axiale pour différentes longueurs focales pour une taille de sténopé donné et en posant que  $L = f$ . Les longueurs focales considérées sont [25, 35, 50, 100, 150] mm et les tailles de sténopé considérées sont [50, 75, 100, 150]  $\mu\text{m}$  :

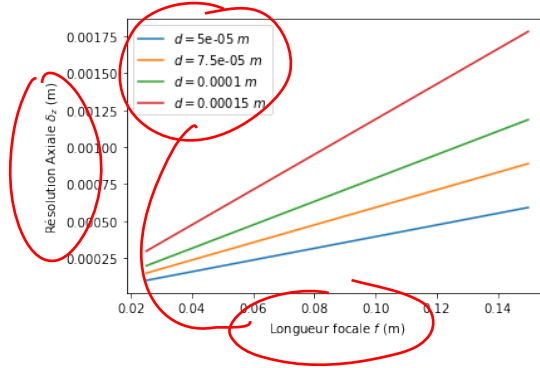


FIGURE 7 – Variation de la résolution axiale  $\delta_z$  en fonction de la fréquence  $f$  pour plusieurs tailles de sténopé  $d$

En regardant la figure 7, il est possible d'observer que  $\delta_z$  augmente linéairement avec la longueur focale et la taille du sténopé. Ces tendances s'expliquent par les mêmes raisons que les tendances observées sur la figure 6.

### 4.3 Comparaison de la résolution axiale et la distance entre les lentilles

La figure 8 est obtenue en calculant la résolution axiale pour un  $L$  donné et plusieurs longueurs focales. La valeur de  $d$  utilisée est de  $75\ \mu\text{m}$ , les longueurs focales sont [25, 35, 45, 55, 75] mm et les valeurs de  $L$  considérées sont [15, 25, 35, 45] mm.

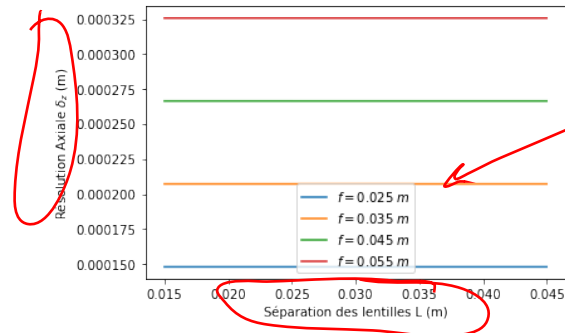


FIGURE 8 – Variation de la résolution axiale  $\delta_z$  en fonction de la séparation des lentilles  $L$

En regardant la figure 8, il semble que  $L$  n'a aucun effet sur  $\delta_z$ .



## 5. Code

October 6, 2022

```
[4]: # on importe les librairies importantes
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import sympy as sp
```

### 1 Résolution Lab 1 - Partie 1

#### 1.1 1. Définition des fonctions importantes

##### 1.1.1 1.1 Ray tracing matrix

```
[5]: def Mlens(f):
    '''
        Retourne la matrice de tracé de rayon pour une lentille
        mince ayant une longueur focale f
    '''
    M = np.array([[1, 0],
                  [-1/f, 1]])
    return M

def Mtrans(d):
    '''
        Retourne la matrice de tracé de rayon pour une translation
        d'une distance d
    '''
    M = np.array([[1, d],
                  [0, 1]])
    return M
```

##### 1.1.2 1.2 Détermination de la position des 2 plans images limites

Le premier plan image est celui en orange et le deuxième est celui en rose. pointillés orange et rose.

```
[6]: def find_image_planes(f, d, D=25.4e-3):
    '''
        Retourne la position des plans images (orange et rose), qui se
        ↪retrouvent
```

```

        à droite de la lentille à droite
    '''
    dist_orange = f - (d*f)/(D-d) # Position du plan image en orange
    dist_rose = f + (d*f)/(D-d) # Position du plan image en rose
    return dist_orange, dist_rose

```

### 1.1.3 1.3 Fonction pour créer la matrice du système optique

Voici les 5 étapes du système de microscopie confocale: 1. Translation de  $x$  ( $x$  est notre inconnue à trouver) 1. Réfraction par lentille mince courbe  $f_1$  1. Translation de  $L$  1. Réfraction par lentille mince courbe  $f_2$  1. Translation  $\text{dist\_image}$

$\text{dist\_image}$  sont les distances  $\text{dist\_p1}$  (plan image orange) et  $\text{dist\_p2}$  (plan image en rose)

```

[7]: def system_matrix(f, L, dist_image):
    '''
        Retourne la matrice de tracé de rayon 2x2 du système de microscopie_
    →confocale
        Celle-ci contient l'inconnu 'x' comme variable symbolique
    '''
    x = sp.symbols('x')
    Mtot = Mtrans(dist_image)@Mlens(f)@Mtrans(L)@Mlens(f)@Mtrans(x)
    return Mtot

```

### 1.1.4 1.4 Fonction de calcul complet

Cette fonction calcule le profondeur de champ à partir de tous les paramètres du système.

```

[8]: def compute_dof(f, L, pinhole_size):
    # On trouve la position des deux plans images.
    dist_orange, dist_rose = find_image_planes(f, pinhole_size)

    # on trouve la matrice de tracé de rayon pour le plan image en orange
    Msys = system_matrix(f, L, dist_orange)
    # On est dans le cas où le rayon incident et le rayon transmis convergent_
    →chacun en un point.
    # On est donc dans le cas où le coefficient B de la matrice [[A B], [C,D]]_
    →vaut 0.
    B = Msys[0, 1]
    # On résoud le système formé de l'élément (0,1) de la matrice de tracé de_
    →rayon égal à 0.
    x1 = sp.solve(B)[0]

    # On trouve la matrice de tracé de rayon pour le plan image en rose.
    Msys = system_matrix(f, L, dist_rose)
    # Même chose que pour le plan image en orange.
    B = Msys[0, 1]

```

```

    # On résoud le système formé de l'élément (0,1) de la matrice de tracé de
    ↪ rayon égal à 0.
    x2 = sp.solve(B)[0]
    # On calcule la résolution axiale.
    dof = np.abs(x2-x1)
    return dof

```

## 2 2. Résultats

### 2.0.1 2.1 Graphique 1: $d$ vs $\delta_z$ pour $L = f$ et $f = f_1 = f_2 = 25, 35, 50, 100$ et $100$ mm

```

[9]: f = [25e-3,35e-3,50e-3,100e-3,150e-3] # [m]
    pinhole_sizes = [50.0e-6,75.0e-6,100.0e-6,150.0e-6] # [m]
    every_dofs = []
    for i in range(len(f)):
        dofs = []
        for j in range(len(pinhole_sizes)):
            # On calcule la résolution axiale
            dof = compute_dof(f[i], f[i], pinhole_sizes[j])
            # On ajoute la résolution axiale à une liste contenant les différentes
            ↪ résolutions axiales
            dofs.append(dof)
            # On ajoute les dofs pour une distance d à une liste storant les dofs pour
            ↪ les différents d
            every_dofs.append(dofs)

```

```

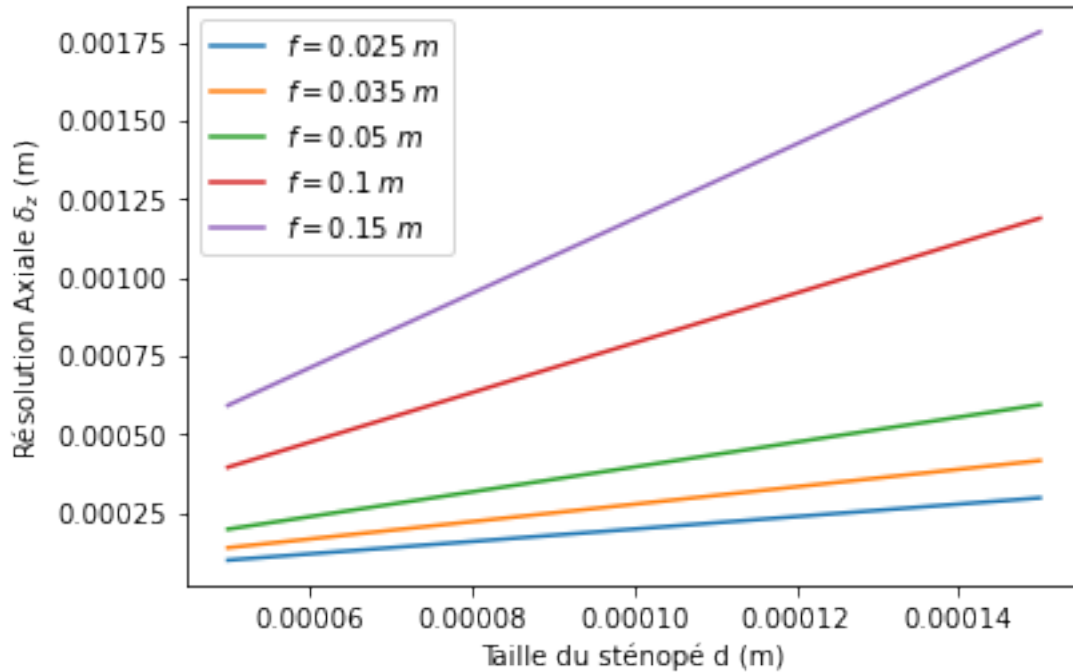
[10]: plt.figure()
    for i in range(len(f)):
        plt.plot(pinhole_sizes, every_dofs[i], label=f'$f = \{f[i]\} \text{ m}$')
    plt.xlabel('Taille du sténopé d (m)')
    plt.ylabel('Résolution Axiale $\delta_z$ (m)')
    plt.legend()

```

```

[10]: <matplotlib.legend.Legend at 0x7fefa43d5670>

```

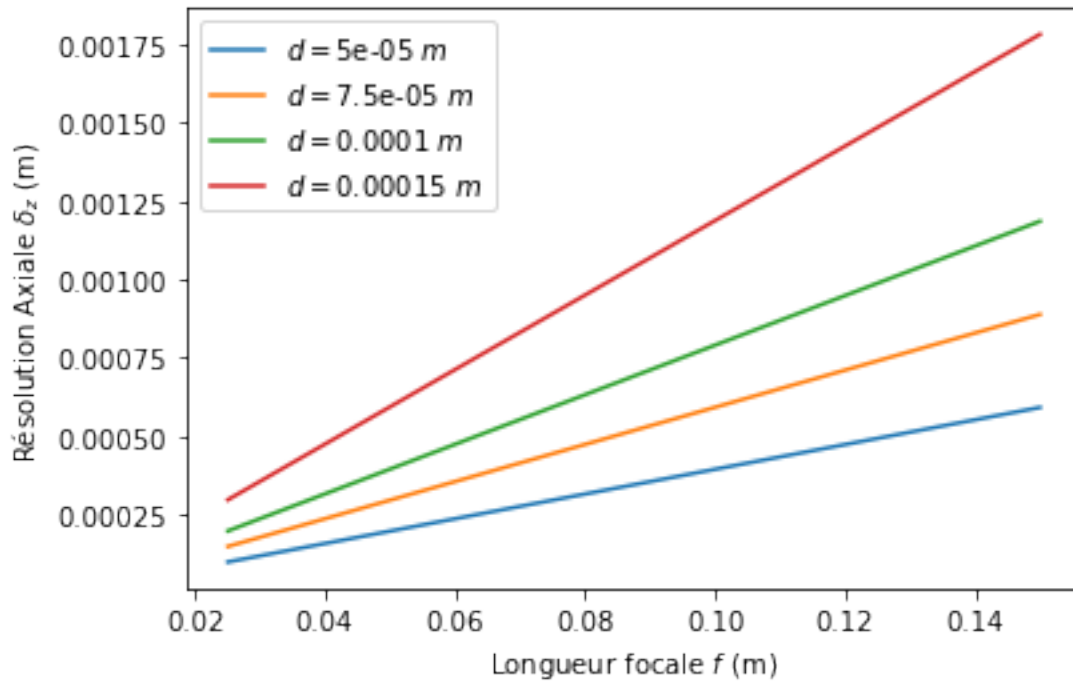


2.0.2 2.2 Graphique 2:  $f$  vs  $\delta_z$  pour  $L = f$  et  $d = 25, 35, 50, 100$  et  $100$  micro-m

```
[11]: f = [25e-3, 35e-3, 50e-3, 100e-3, 150e-3] # [m]
pinhole_sizes = [50.0e-6, 75.0e-6, 100.0e-6, 150.0e-6] # [m]
every_dofs = []
for i in range(len(pinhole_sizes)):
    dofs = []
    for j in range(len(f)):
        # On calcule la résolution axiale
        dof = compute_dof(f[j], f[j], pinhole_sizes[i])
        # On ajoute la résolution axiale à une liste contenant les différentes
        ↪ résolutions axiales
        dofs.append(dof)
        # On ajoute les dofs pour une distance d à une liste storant les dofs pour
        ↪ les différents d
    every_dofs.append(dofs)
```

```
[12]: plt.figure()
for i in range(len(pinhole_sizes)):
    plt.plot(f, every_dofs[i], label=f'$d = \{pinhole\_sizes[i]\} \text{ m}$')
plt.xlabel('Longueur focale $f$ (m)')
plt.ylabel('Résolution Axiale $\delta_z$ (m)')
plt.legend()
```

[12]: <matplotlib.legend.Legend at 0x7fefb8ef2250>



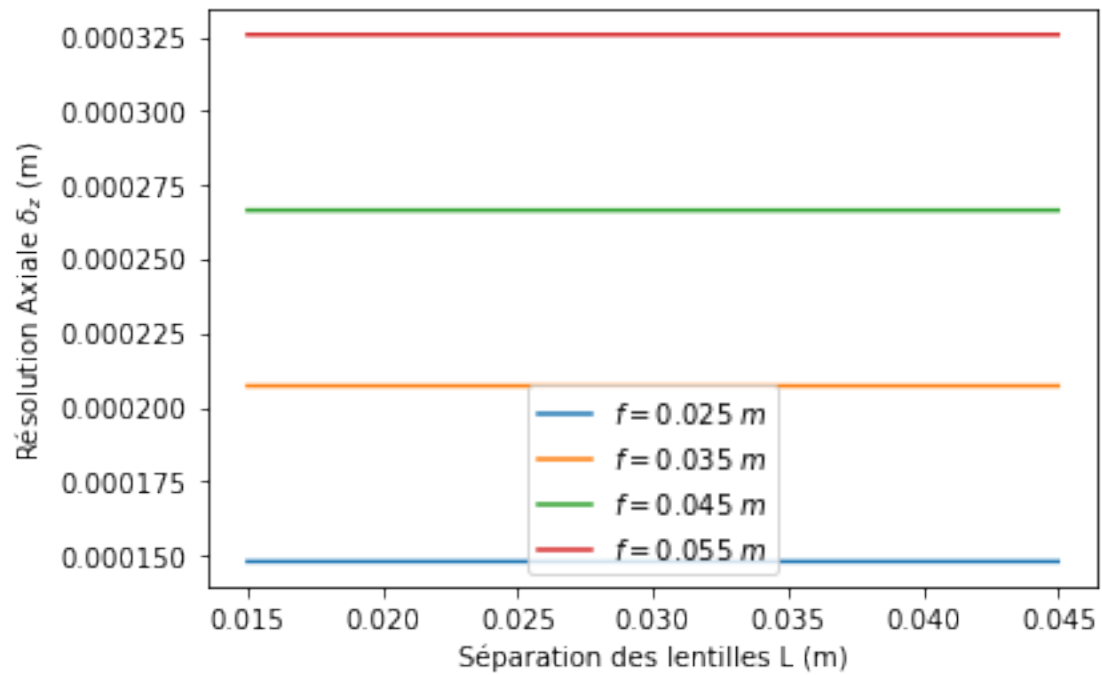
### 2.0.3 2.3 Graphique 3: $L$ vs $\delta_z$ pour $d = 75\text{mm}$ et $f_1 = f_2 = 25, 35, 50, 100$ et $150$ mm

```
[13]: f = [25e-3, 35e-3, 45e-3, 55e-3, 75e-3] # [m]
pinhole_size = 75.0e-6 # [m]
dofs = []
L = [15e-3, 25e-3, 35e-3, 45e-3] # [m]
every_dofs = []
for i in range(len(f)):
    dofs = []
    for j in range(len(L)):
        # On calcule la résolution axiale
        dof = compute_dof(f[i], L[j], pinhole_size)
        # On ajoute la résolution axiale à une liste contenant les différentes
        ↪ résolutions axiales
        dofs.append(dof)
    # On ajoute les dofs pour une distance d à une liste stockant les dofs pour
    ↪ les différents d
    every_dofs.append(dofs)
```

```
[14]: plt.figure()
for i in range(len(L)):
    plt.plot(L, every_dofs[i], label=f'$f = \${f[i]} \$m$')
```

```
plt.xlabel('Séparation des lentilles L (m)')  
plt.ylabel('Résolution Axiale  $\delta_z$  (m)')  
plt.legend(loc='best')
```

[14]: <matplotlib.legend.Legend at 0x7fefa3fe79d0>



## Références

- [1] G.Sheehy, F. Picot et T. Nguyen, PHS2223- Introduction à l'optique moderne : Expérience 1 : Microscopie Confocale. Polytechnique Montréal : 2022. [En ligne]. Disponible : [https://moodle.polymtl.ca/pluginfile.php/913492/mod\\_resource/content/1/PHS2223\\_LABO\\_1.pdf](https://moodle.polymtl.ca/pluginfile.php/913492/mod_resource/content/1/PHS2223_LABO_1.pdf)
- [2] C. Boudoux, Tools of Optics. Montréal, QC : Pollux, 2019.