

Niveau : Licence

Prérequis : Optique géométrique (grandissement, grossissement), diffraction (critère de Rayleigh, optique de Fourier)

Biblio :

[1] Optique, une approche expérimentale et pratique, S.Houard, de Boeck, 2011

[2] La microscopie optique moderne, G.Wastiaux, Tec&Doc, Lavoisier, 1994

[3] TD Clément Sayrin optique géométrique + diffraction (2), applications

[4] Cours de Maxime Dahan (PWP en annexe)

[5] Sextant

[6] Site microscopyU

Intro : [4] Qu'est-ce qu'un microscope ?

Instrument qui :
- donne une image grossie d'un petit objet (grossissement)
- sépare les détails de celui-ci sur l'image (résolution)
- rend les détails visibles à l'œil ou avec une caméra

[1] p. 154 Introduction historique (PWP) : 1665, Hooke : microscope composé mais d'une qualité optique bof.

Van Leeuwenhoek : microscope simple mais capable de grossir 500 fois et précis au micromètre.

1830, Bancks : microscope simple encore mais grand pouvoir de résolution

Une fois le problème des aberrations résolu : on passe au microscope composé.

On va étudier le microscope composé, ces caractéristiques, pour comprendre cette introduction.

I. Le microscope composé à deux lentilles

1. Dispositif

[1] p. 155 en même temps que cette description, on trace le schéma au tableau et on montre sur le vrai microscope. Constitué de deux systèmes optiques successifs : l'objectif et l'oculaire. On les représente schématiquement par des lentilles.

- L'objectif donne de l'objet AB une image intermédiaire A1B1 agrandie et renversée. Pour bon grandissement et encombrement réduit : lentille de courte focale et objet très près.
- L'oculaire agit comme une loupe. On place l'image intermédiaire dans son plan focal permettant une observation sans accommodation de l'œil.

Les faisceaux issus des points extrêmes émergents en se croisant au niveau du cercle oculaire : ici que l'on place l'œil pour une vision optimale.

Exp : présenter la manip et les différents objets du montage + faire l'image de l'objet par le microscope.

Changer l'objectif : change le grossissement. Changer la netteté sur l'oculaire.

2. Caractéristiques

- Grossissement

[3] on donne rapidement les définitions des grandissements, grossissement et grossissement commercial.

Puisque le microscope forme d'un objet à distance finie une image à l'infini, on cherche à calculer le grossissement commercial G_c de ce dispositif optique. PWP schéma du microscope avec les bonnes notations. Définir l'intervalle optique et donner le grandissement de l'objectif. Avec le théorème de Thalès et la relation de conjugaison de Newton, on trouve le grossissement commercial du microscope.

$$G_{com,mic} = |\gamma_{ob}| * G_{c,oc}.$$

Exp : [5] p.54 mesurer le grossissement commercial du microscope

- Ouverture numérique [6] <https://www.microscopyu.com/microscopy-basics/numerical-aperture> (montrer sur l'objectif sa valeur, cf [1] p.160)

Défini par Ernest Abbe 1870. C'est au niveau de l'objectif que la qualité de l'image en sortie du microscope se joue. L'objectif permet de régler l'ON = une mesure de sa capacité à capter la lumière et à résoudre les détails de spécimens fins à une distance fixe de l'objet. Les ondes lumineuses formant l'image traversent l'échantillon et pénètrent dans l'objectif dans un cône inversé PWP.

Transition : on a trouvé deux caractéristiques du microscope, quelles sont les limites liées à ces caractéristiques ? Pourquoi on ne fait pas des microscopes de grossissement infini ?

3. Limites

[1] p. 160 Limite de résolution, imposée par la diffraction (critère de Rayleigh en prérequis), on doit augmenter l'ouverture numérique pour avoir une meilleure résolution.

[6] En pratique, il est difficile d'obtenir des valeurs d'ouverture numérique supérieures à 0,95 avec des objectifs secs. Des ouvertures numériques plus élevées peuvent être obtenues en augmentant l'indice de réfraction du support de formation d'image (n) entre l'échantillon et la lentille frontale de l'objectif. Il existe désormais des objectifs de microscope permettant d'imager sur d'autres supports, tels que l'eau (indice de réfraction = 1,33), la glycérine (indice de réfraction = 1,47) et l'huile d'immersion (indice de réfraction = 1,51). **PWP**

[1] p. 160 La limite de résolution de l'objectif conditionne celle du microscope lui-même → inutile de recourir systématiquement aux grossissements commerciaux les plus forts.

[2] p. 31 Aberrations des lentilles : Il est impossible de construire des systèmes optiques sans défauts. Les principaux défauts d'images sont dus aux différentes aberrations provoquées par le passage des rayons lumineux au travers de la lentille. Nous allons en étudier principalement 2 :

- Aberration sphérique : Si l'on envoie de la lumière monochromatique sur une lentille convexe de forme sphérique, tous les rayons provenant d'un point ne se concentrent pas en un point. Ils convergent en un point différent suivant que le rayon passe plus ou moins proche du centre de la lentille **PWP**

- Aberration chromatique (longitudinale/connaître la transversale) : On utilise sur les microscopes modernes de la lumière blanche (polychromatique). Or chaque longueur d'onde est plus ou moins réfractée lors de son passage au travers de la lentille... La plus réfractée = bleu (loi de Cauchy) **PWP**

→ [1] p. 161 Pour corriger ses deux défauts dans l'oculaire, on utilise plusieurs lentilles : verre de champ accolé à un verre d'œil = achromatisme apparent.

Transition : Comment faire quand on a des objets non colorés mais avec du contraste ?

II. La microscopie par contraste de phase

[2] p. 191 intro historique + [3] on explique le principe de l'expérience d'Abbe **PWP** : filtrage. On peut utiliser cette méthode en plaçant un objet de phase **PWP** (ex : lame de polarisation), pour modifier les contrastes.

Calculs de Clément Sayrin avec la vibration lumineuse directe et diffractée : effet d'une $\lambda/4$ → l'intensité dépend de la phase, on y a directement accès. L'image qu'on observe à l'écran a un contraste proportionnel à la phase. **PWP**
exemple entre deux images : avec et sans ces techniques

Les microscopes à contraste de phase sont utilisés dans les laboratoires de biologie car ils permettent d'étudier les objets vivants sans les colorer et donc sans les tuer. (Prix Nobel !!)

Comment on le fait expérimentalement ? [2] p. 194 principe optique du microscope à contraste de phase

Transition : Etudier les mouvements d'objets vivants ?

III. Microscopie confocale laser

[2] p. 254 agit comme un couteau optique → examiner l'intérieur des structures épaisses + découper l'échantillon dans plusieurs directions → image 3D.

Video du principe : <https://toutestquantique.fr/fluorescent-et-confocal/>

Principe général : reproduction point par point d'un fin diaphragme dans le plan de l'objet. Pour obtenir une image totale, le point lumineux balaie la surface de l'objet au moyen de miroirs. Seules les informations du plan focal parviennent au détecteur : microscope confocal.

Ça marche super bien en fluorescence car la lumière diffusée est pratiquement éliminée.

PWP Vidéo de la mitose d'une cellule : plus de destruction de l'échantillon, suivre l'évolution et en plus avec chaque couleur on sait qui est qui.

Conclusion : récap + limites + nouvelles techniques : microscopies non optiques (**PWP** limites de résolution)

Commentaires :

- L'objectif n'est pas une lentille simple mais composée de deux lentilles : [2] p. 111
- La puissance est aussi une caractéristique du microscope, on peut la relier au grandissement [1] p.156
- Optique non paraxiale : points de Weierstrass [1] p. 160
- Détermination expérimentale de l'ouverture numérique d'un objectif [1] p. 164
- Développements récents en microscopie : électronique et à champ proche [1] p. 162
- Microscopie classique = à champ clair
- Lire le cours de Agnes Maitre !!