

# MICROSCOPIES OPTIQUES

①

Niveau: Licence

Prérequis = optique géométrique (tracé de rayons)  
Diffraction (tâche d'Airy).

Introduction = Pour voir à l'œil nu, on rapproche les petits objets mais au delà de 25cm environ, plus net!  
L'œil a une limite de résolution angulaire de 1 minute d'arc environ donc un objet de 70 $\mu$ m minimum au punctum proximum (en gros un cheveu). Pour voir plus petit, on pense d'abord à la loupe et quand ça ne suffit pas, on passe au microscope. Par exemple ici, j'ai une règle graduée au dixième de mm. A l'œil on ne voit rien mais avec le microscope, on peut facilement observer les graduations. Dans la 1<sup>ère</sup> partie de cette leçon, on va comprendre le fonctionnement de ce microscope pourquoi c'est mieux qu'une loupe et quantifier à quel point l'image est plus grande que l'objet.

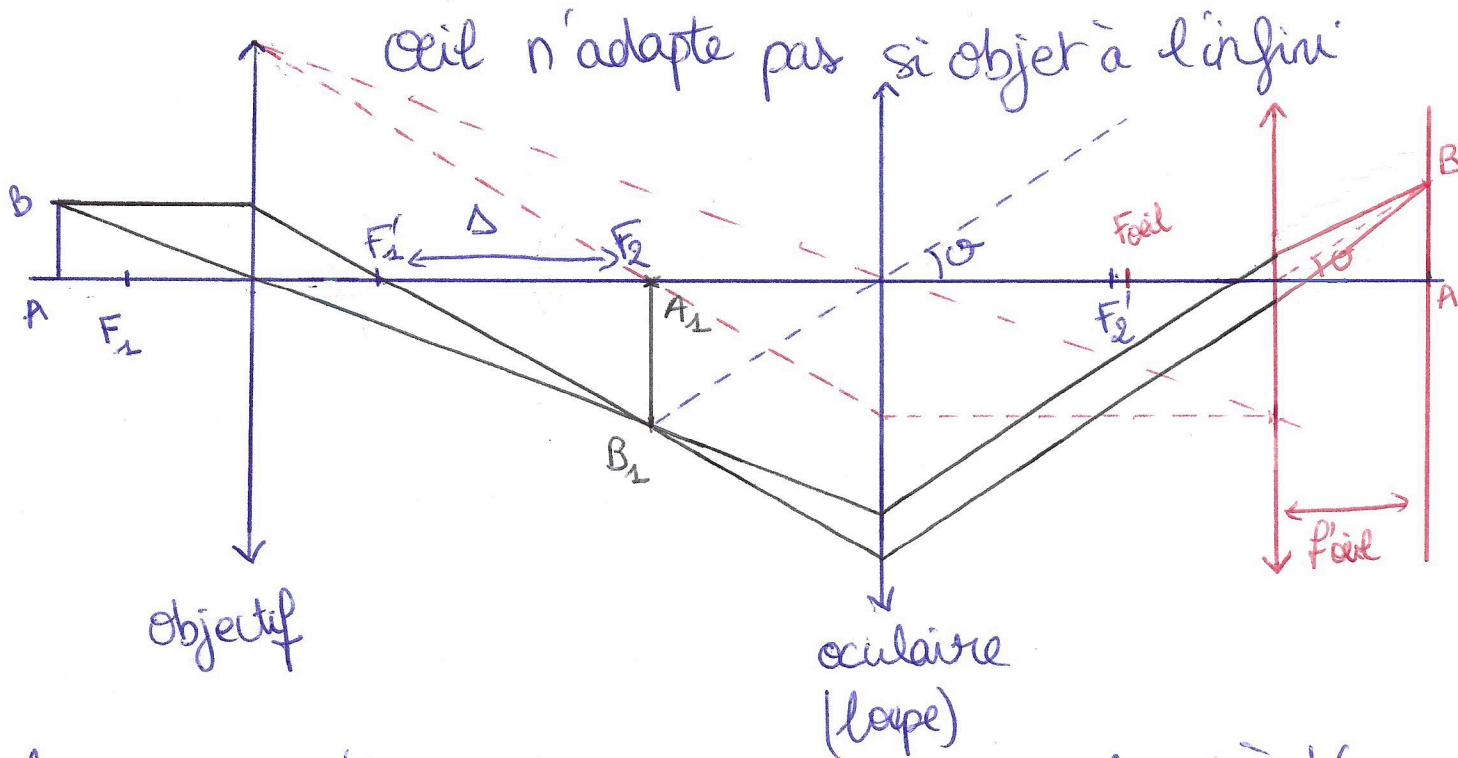
## I - Principe du microscope classique

Ideé: Comme une loupe mais au lieu d'observer directement l'objet, on en observe une image déjà agrandie une première fois.

# 1- schéma de principe

(9)

Décrire les composants réels vs modèles.



$\Delta$ : longueur optique du microscope. Normalisé à 16 cm.  
7min

## 2- Puissance et grossissement commercial

Objet fini  $\rightarrow$  Image finie = grossissement  
ici pour objectif  $\gamma_{obj} = \frac{A_1B_1}{AB} = -4$

Talès immédiat  $f'_1 = -\frac{\Delta}{\gamma_{obj}} \sim 40 \text{ mm}$ .

Objet infini  $\rightarrow$  Image infinie = Grossissement

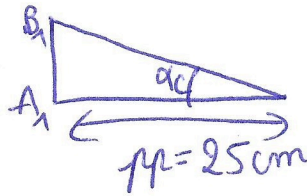
$I_c$  = objet fini  $\rightarrow$  Image infinie

$\Rightarrow$  puissance  $P = \frac{\theta}{AB}$  en dioptrie ( $\text{m}^{-1}$ )

$$P = \frac{\theta}{A_1B_1} \frac{A_1B_1}{AB} = P_{oc} |\gamma|_{obj}$$

Ce qui est donné pour l'oculaire c'est plutôt (3)

$$G_{oc} = \frac{\theta}{\alpha_c}$$



$$G_{oc} = \frac{\theta d_c}{A_1 B_1} = P_{oc} d_c$$

Comme  $\theta = \frac{A_1 B_1}{f'_2}$

on a  $f'_2 = \frac{d_c}{G_{oc}} \sim 25 \text{ mm}$

Pour le microscope global

$$G_c = G_{oc} | \delta_{obj} | = \frac{\Delta d_c}{f'_1 f'_2} = 10 \times 4 = 40 \quad (P = \frac{G_c}{d_c} = 160 \text{ s})$$

On va vérifier expérimentalement cette valeur de grossissement global. On modélise l'œil par une lentille et un écran (cristallin + rétine) Chercher cercle oculaire

$$A'B' = \theta f' = \frac{AB G_c f'}{d_c}$$

Pour réduire l'incertitude sur  $A'B'$ , on prend grand  $f'$ .  $B_{\min}$

Mesurer  $f'$  par Autocollimation au moins.

$$\Rightarrow G_c = \frac{A'B'}{AB} \frac{d_c}{f'}$$

Vérifier image inversée?

$$u(h_c) = G_c \sqrt{\left(\frac{u(A'B')}{A'B'}\right)^2 + \left(\frac{u(f')}{f'}\right)^2}$$

$$d_c = 25 \text{ cm} \quad f' = \left( \begin{matrix} \pm \\ 1,00 & 0,02 \end{matrix} \right) \text{ m}$$

$$AB = (0,002 \pm \text{?}) \text{ m}$$

$$\Rightarrow G_c = (42,9 \pm 1,1)$$

$$A'B' = \left( \begin{matrix} 0,343 \pm 0,006 \\ 34,7 - 33,8 \end{matrix} \right) \text{ m}$$

$$z_{score} = \frac{|G_c - 40|}{u(h_c)} = 2,6$$

$B_{\min}$

### 3- Profondeur de champ et mise au point

(4)

Pour l'œil = objet net entre pp et  $+\infty$ .

Si  $A_2$  à l'infini,  $A_1 = F_2$  et  $\overline{F_1 A_1} = \overline{F_1 F_2} = \Delta$

Par Newton ( $\overline{F_1 A} \cdot \overline{F_1' A_1} = -f_1'^2$ )

$$A_{(o)} F_1 = \frac{f_1'^2}{\Delta} = 1 \text{ cm}$$

Œil proche  $F_2'$

$$\text{Si } \overline{A_2 F_2'} = d_c$$

$$\overline{F_2 A_{(dc)}} = -\frac{f_2'^2}{F_2' A_1} = \frac{-f_2'^2}{\Delta + F_2' A_1} = \frac{-f_2'^2}{\Delta + \frac{f_2'^2}{d_c}}$$

$$A_{(o)} A_{(dc)} = A_{(o)} F_1 + F_1 A_{(dc)}$$

$$= \frac{f_1'^2}{\Delta} \left( 1 - \frac{1}{1 + \frac{f_2'^2}{d_c \Delta}} \right) = \frac{f_1'^2 f_2'^2}{\Delta (d_c \Delta + f_2'^2)}$$

$$= \frac{\Delta d_c^2}{f_c^2 (d_c \Delta + f_2'^2)}$$

diminue si  $|X_{obj}| \nearrow$   
mise au point avec

l'objectif le moins puissant.

A.N.  $A_{(o)} A_{(dc)} \approx 0,1 \text{ mm}$  (15  $\mu\text{m}$  avec jaune  
1  $\mu\text{m}$  avec noir).

Avec une mise au point parfaite, on peut ici penser qu'on peut arbitrairement augmenter le grossissement autant qu'on veut en diminuant  $f_1, f_2'$  ou en augmentant  $\Delta$  et on pourrait voir des choses arbitrairement petites. Malheureusement ce n'est pas vrai car on se heurte aux limites de ce microscopique classique.

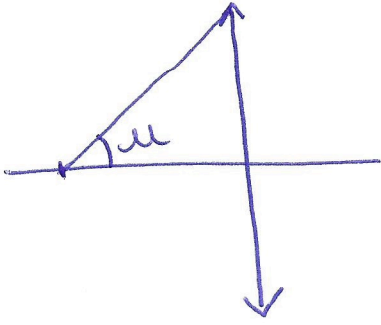
## II - des limites du microscope classique

(5)

### ① Aberations

On ne parle pas de chromatique.

Notion d'ouverture numérique



$$w_o = \sin \mu$$

indiquée sur objectif

$$\text{ici} = 0,1 \rightarrow \mu = 6^\circ$$

$$0,25 \rightarrow \mu = 14^\circ$$

$$0,65 \rightarrow \mu = 41^\circ$$

On sort des conditions de Gauss!

⇒ Aberations sphériques

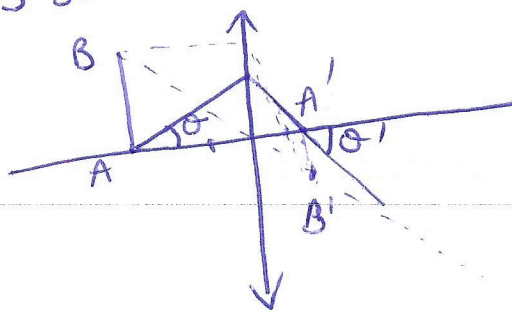
En fait, l'objectif n'est pas une simple lentille!

Conexions pour stigmatisme et pour aplanétisme

Relation des sinus d'Abbe:

pour  $A, A'$  stigmatiques,  $B$  et  $B'$  le sont aussi

$$s \cdot \overline{AB} \sin \theta = \overline{A'B'} \sin \theta'$$



↳ le rayon issu de A.

$$\frac{R_g}{f} w_{o,oc} = \sin \mu_1 = \frac{\overline{AB}}{\overline{A_1 B_1}} \sin \mu = \frac{w_{o,obj}}{|Y_{obj}|} \rightarrow 1,4^\circ \text{ pour } 4$$
$$1^\circ \text{ pour } 40$$

→ toujours Gauss. 24 min

# ② Pouvoir séparateur

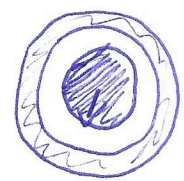
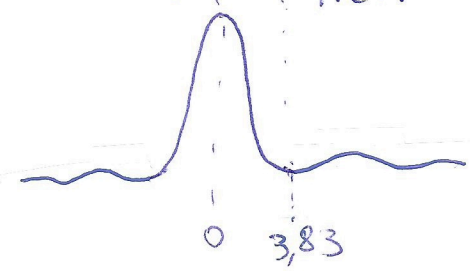
Rappels de diffraction = un point objet → tâche image

$$I(\xi) = I_0 \left( \frac{2J_1(\xi)}{\xi} \right)^2 \quad \xi = \frac{2\pi R \sin \varphi m}{\lambda} \quad \begin{matrix} \text{rayon} \\ \text{diaphragme} \end{matrix}$$

première annulation  $\xi = 3,83$

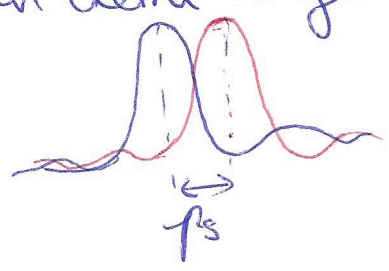
$$\hookrightarrow \varphi_1 \sim \sin \varphi_1 = \frac{\lambda}{mR} \times \frac{\xi}{2\pi} = 0,61 \frac{\lambda}{mR}$$

tâche d'Airy



$$\alpha_t = \frac{0,61 \lambda \text{ obs}}{mR_{\text{diaph}}}$$

Critère de Rayleigh = 2 points A et B sont résolus si les tâches d'Airy autour de leurs images A' et B' ne se recouvrent pas à plus de leur demi largeur. Valable pour des intensités égales.



Dans le côté image

$$r_{s1} = \alpha_t = \frac{0,61 \lambda \text{ obs}}{mR_{\text{diaph}}}$$

Pour l'objectif

$$r_{s1} = \frac{0,61 \lambda}{\tan u_1} \sim \frac{0,61 \lambda}{\sin u_1}$$

Par Abbe

$$r_s = r_{s1} \frac{\sin u_1}{\sin u}$$

du côté objet

$$r_s = \frac{0,61 \lambda}{\omega_0}$$

~~Abbe~~

Pour notre objectif en lumière blanche  
 (quartz-iodé source thermique) ⑦

$$\lambda_s = \frac{0,61 \times 550 \cdot 10^{-9}}{0,1} = 3 \mu\text{m}.$$

$\omega_0 < 1$  toujours donc dans le visible  $\lambda_s > 0,23 \mu\text{m}$   
 donc ne sert pas de toujours augmenter  
 le grossissement! 30 min

Rq : L'œil résolution de 1 min d'arc

$$P = \frac{\theta}{AB}$$

Si on met  $\theta_{\text{œil min}}$ , on a

$$\lambda_{\text{œil}}^s = \frac{\theta_{\text{œil min}}}{P} = 1,8 \mu\text{m}$$

Ce n'est pas l'œil qui limite la résolution!

Avec le microscope classique, on est "bloqués" par la diffraction. On peut baisser la longueur d'onde mais on sort alors de l'optique avec par exemple les microscopes électroniques. ~~Par exemple, les~~

③ Objets quasi-transparents NON

Microscope classique en transmission ou réflexion.  
 Pour les objets quasi-transparents donc presque tout le vivant (fait d'eau), on ne voit rien.

Image cellule

→ Microscope classique super mais 2 limites principales.

- objets transparents "invisibles"  $|t(x,y)|=1$   
 $\hookrightarrow$  fluorescence, à contraste de phase
- limite de résolution par diffraction

$\hookrightarrow$  immersion, connaissances a priori de l'échantillon, Champ proche.

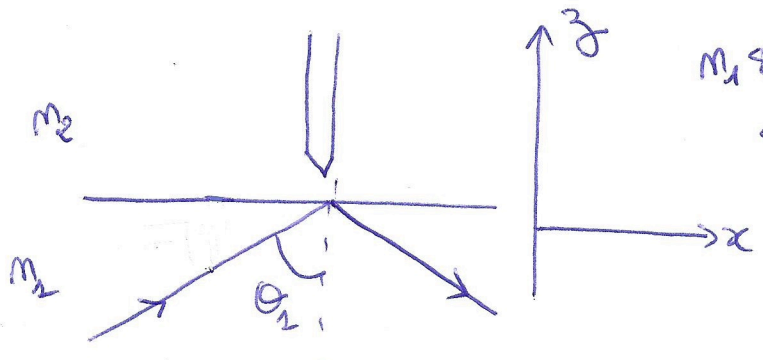
Rq: on peut combiner les axes.

NON

### III - Microscope en champ proche

#### 1) ondes évanescentes

$$k = \frac{2\pi m}{\lambda}$$



$$m_1 \sin \theta_1 = m_2 \sin \theta_2$$

$$\sin \theta_2 > 1 \text{ si } \frac{m_1}{m_2} \sin \theta_1 > 1$$

$$\sin \theta_2 > \frac{m_2}{m_1}$$

$$\text{si } m_1 > m_2 \rightarrow \theta_c = \arcsin \frac{m_2}{m_1}$$

Reflection totale,

Relations de passage, il ne peut pas y avoir rien en 2

NON

$$\vec{k}_i = k_1 \cos \theta_1 \vec{u}_z + k_1 \sin \theta_1 \vec{u}_x$$

Relation de passage

$$= m_1 k_0 \cos \theta_1 \vec{u}_z + m_1 k_0 \sin \theta_1 \vec{u}_x$$

$$\underline{E}_{x,1} = \underline{E}_{x,2}$$

$$\underline{E}_1 = \underline{E}_{0i} \exp(i(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega t)) + \underline{E}_{0r} \exp(i(\vec{k}_r \cdot \vec{r} - \omega t))$$

$$\underline{E}_2 = \underline{E}_{0t} \exp(i(\vec{k}_t \cdot \vec{r} - \omega t))$$

$$\underline{E}_{0i} \exp(i(\vec{k}_i \cdot \vec{r} - \omega t)) + \underline{E}_{0r} \exp(i(\vec{k}_r \cdot \vec{r} - \omega t)) = \underline{E}_{0t} \exp(i(\vec{k}_t \cdot \vec{r} - \omega t))$$

en  $z=0$  (cas particulier)

$$\underline{E}_{0i} \exp(i\omega t) + \underline{E}_{0r} \exp(-i\omega t) = \exp(-i\omega t) \underline{E}_{0t} \Rightarrow \omega = \omega_1 = \omega_2 = \omega$$

et  $\underline{E}_{0i} + \underline{E}_{0r} = \underline{E}_{0t}$  exponentielles libres

en  $z=0$

$$\underline{E}_{0i} \exp(ik_{ix}x) + \underline{E}_{0r} \exp(ik_{rx}x) = \underline{E}_{0t} \exp(ik_{tx}x)$$

$$k_{ix} = k_{tx} = k_{rx} = \frac{m_1 \omega}{c} \sin \theta_1$$

$$\|k_t\|^2 = \left(\frac{m_2 \omega}{c}\right)^2$$

(9)

$$k_{tz}^2 = \|k_t\|^2 - k_{tx}^2 = \left(\frac{m_2 \omega}{c}\right)^2 - \left(\frac{m_1 \omega}{c} \sin \theta_1\right)^2 = \frac{m_1^2 \omega^2}{c^2} \left(\frac{m_2^2}{m_1^2} - \sin^2 \theta_1\right)$$

$$= \frac{m_1^2 \omega^2}{c^2} (\sin^2 \theta_c - \sin^2 \theta_1)$$

$$\theta_1 > \theta_c \quad k_{tz}^2 < 0 \quad k_{tz} = ik''$$

$$\vec{k}_t = \frac{m_1 \omega}{c} \sin \theta_1 \vec{e}_x + ik'' \vec{e}_z$$

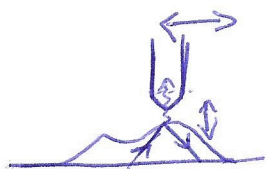
propagation selon  $\vec{e}_x$  mais décroissance exponentielle

selon  $\vec{e}_z$ .  $\delta = \frac{1}{k''} = \frac{c}{\omega \sqrt{m_1^2 \sin^2 \theta_1 - m_2^2}}$  épaisseur de pénétration

$$\sim \frac{\lambda}{2\pi}$$

35 min

② Principe de la microscopie optique en champ proche



pointe diélectrique très fine

⇒ émission dipolaire

⇒ propagation dans la pointe (fibre optique).

$\delta \sim \frac{1}{k''} \sim \frac{\lambda}{2\pi}$  donc difficultés mécaniques

piézoélectriques.

Pas de problème de résolution avec diffraction.

Résolution limitée par taille pointe et son mouvement. → images à hauteur constante

~~Conclusion~~

ou images à intensité constante.

39 min

Conclusion

On en revient à notre problème de l'introduction, comment faire pour voir plus petit qu'un cheveu. La réponse= si c'est 100 fois plus petit, un microscope classique suffit mais si c'est encore plus petit que ça (échelle de la matière), il faudra passer à des techniques plus modernes comme le microscope à champ proche ou le microscope électronique.

40 min.

# Bibliographie

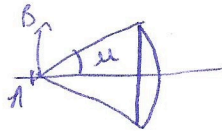
montages de physique, optique méca, Bellier p.102

Distance objetif-oculaire fixe.

si pas mis au point, image réelle très loin ou virtuelle.

$\Delta$ : intervalle optique.  $F_1 F_2$

résolution  $\overline{AB} \geq \frac{0,6 \lambda}{n \sin u}$



cerce oculaire = image de l'objectif par l'oculaire.  
(proche de  $F_2'$ )

A ce niveau, faisceau émergeant le plus concentré, max de luminosité pour l'œil.

$$g_{co} = \frac{n \sin u}{G_c}$$

même champ

Expériences de physique optique, mécanique, fluides Bellier p. 68

$f_{obj} \ll$  petite  $\sim$  mm oculaire: loupe. Même qu'avant juste autre nom.

Les instruments d'optique Etude théorique, Dettwiller p. 167

Longueur tube standardisée à 16 cm.

$f_{obj} \approx$  mm  $\Rightarrow \delta \rightarrow 100$

$N = n \sin u$  = ouverture numérique =  $n \sin u$

Rayleigh: tâches résolues  $\alpha$   $\sin$  intensité.

puissance de résolution angle  
 $E = 1,22 \frac{\lambda}{D}$   
 D = diamètre pupille d'entrée

$AB = LE$   
 taille limite résolue

Microskopie optique en champ proche

un peu trop détaillé.

~~Optique Géométrique et Instruments = Bellard p. 551~~

Recherche TD Arnaud puissance vs grossissement commercial

Imager l'invisible avec la lumière Gizon p. 99

Microskopie de fluorescence.

ouverture numérique  $\neq$  nombre d'ouverture!

Optique fondament et applications Pérez p. 78-81 + 117

$\Delta \alpha_0, \Delta k_x \geq 2\pi$   
 $-k \sin u \leq k_x \leq k \sin u$   $\Delta k_x = 2k \sin u$   
 optique Howard. p. 154.