

L16: Microscopies optiques.

(1)

(L2)
ou L3

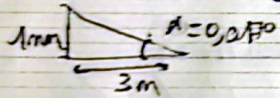
- PRÉRÉQUIS
- Optique géométrique et œil
 - Diffraction
 - Ondes (progressives / évanescentes)
 - FM

INTRODUCTION

Pour comprendre le monde, l'homme a toujours voulu observer ce qui l'entoure, que ce soit les détails sur objets (nature) $\rightarrow$ microscope
ou de très lointains (étoiles) $\rightarrow$ lunette astr.

Grec: microscope $\approx$ examiner le petit

Le utilise car l'œil humain a une limite de résolution = 1 minute d'arc
angle max sous lequel on peut voir l'objet = $0,017^\circ \approx 1/30^\circ$



$\Rightarrow$ Pour un objet à 3m, on pourra voir des détails au max de $\tan \alpha \approx 3m \approx 1mm$

- 3 types de microscope:
- optique $\equiv$ rayon lumineux (qd a fort des flux lumineux)
 - électronique $\equiv$ avec faisceau e^-
 - sonde locale $\equiv$ où on cartographie le relief d'un échantillon

Ici on s'intéresse à visible $\rightarrow$ microscope optique.

I. La loupe $\equiv$ microscope à une lentille.

1. Présentation.

Pour bien observer 1 objet, il faut le placer au PP (pointum proximum $\approx 25cm$) de l'œil. $\Rightarrow$ fatigue importante de l'œil.

$\Rightarrow$ Utilisation de la loupe $\equiv$ microscope le + ancien et + simple $\Rightarrow$ permet d'observer de gros l'image de l'objet

Loupe = lentille convergente qui permet l'angle sous lequel on voit l'objet

↳ Pour cela, il faut placer l'objet entre la lentille et son foyer objet
 ⇒ image virtuelle agrandie (à de soi par l'œil qui la prend comme objet réel)

En pratique, l'objet est placé dans le plan focal objet ⇒ image virtuelle à ∞
 ⇒ position de l'œil n'a pas d'importance ⇒ il ne fatigue pas
 ↳ mieux qd m si proche de la loupe car aberrations géométriques liées à la loupe ⊕ négligeable car on sélectionne rayons peu inclinés l'axe optique.

2 - Caractéristiques et limites.

* Profondeur de champ (= latitude de mise au point) distance entre 2 positions extrêmes de l'objet telle que l'image soit nettement cad / par l'œil placé en F', l'image se forme entre - PR (Point de Rendement Dm): objet en F, image à ∞
 - PP: objet en A image à dm

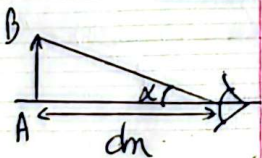
$$\Delta p = \overline{A_2 A_1} = \overline{A_2 F} + \overline{F A_1} = \frac{f'^2}{d_m} - \frac{f'^2}{D_m} \approx \frac{f'^2}{d_m} \quad \text{dém. cf lien avec } \overline{F A'} \cdot \overline{F A} = f'^2$$

$$\Rightarrow \boxed{\Delta p = \frac{f'^2}{d_m}} \Rightarrow \Delta p \text{ d'autant plus faible que } f' \text{ est petite.}$$

* Grossissement $\boxed{G = \frac{\alpha'}{\alpha}}$ α = angle sous lequel on voit l'objet à l'œil nu
 $\alpha' =$ l'image de l'objet est vue à travers l'instrument

$$\Rightarrow G = \frac{AB/f'}{AB/\text{objet}} = \frac{\text{objet}}{f'} \Rightarrow \text{pas très intéressant car dépend de la distance de l'objet à l'œil.}$$

⇒ Grossissement commercial ⇒ objet est au PP ⇒ $\boxed{G_c = \frac{d_m}{f'}}$
 ↳ par œil nu
 ↳ et au PR pour instrument



en dioptrie δ

* Puissance $P = \left| \frac{\alpha'}{AB} \right| = \frac{1}{f'}$ si image à $\infty \Rightarrow$ puissance intrinsèque
ici qd l'œil est en F

Expe quant: calcul G_c de la p
+ construction l'œil fictif

ODG: Avec lentille $f' = 5\text{cm} \Rightarrow G_c = 5$ ok pour petites écritures mais pas plus.
Si on veut $G_c = 100 \Rightarrow f' = 2,5\text{mm}$ = très petit et difficile techniquement

$\Rightarrow$ Intérêt du microscope à 2 lentilles, plutôt que grossir l'objet avec la lentille, on va grossir l'image de l'objet faite par une autre lentille.

II. Microscope à deux lentilles.

1. Présentation.

Objectif: avoir un instrument qui permet de regarder un objet avec l'œil sans accommodation
 $\Rightarrow$ image à ∞ d'un objet à distance finie.
virtuelle

* Image d'un vrai microscope au sec paillasse

Un microscope comprend 2 systèmes importants: faire schéma au tableau

- $\rightarrow$ Objectif: crée une image intermédiaire réelle, inversée et agrandie de l'objet AB.
- $\rightarrow$ Occulaire: fait l'image virtuelle, agrandie, non renversée de l'image intermédiaire devenue objet à l'oculaire.

rmq: pour que l'œil puisse observer sans accommodation, il faut que l'image $A'B'$ soit à l'infini $\Rightarrow A'B'$ soit au foyer objet de l'oculaire (F_2)
 $\Rightarrow$ on déplace l'objet de sorte que l'image $A'B'$ se forme en F_2 .

Distance entre objectif et oculaire fixe (par un tube métallique)
 $\Rightarrow$ intervalle optique $|\Delta = \overline{F_1'F_2} = \text{cst}|$ (pour ensemble objectif-oculaire)

$\Rightarrow$ Pour faire la mise au point on déplace soit l'objet soit le tube métallique de sorte à faire image de AB en F_2 par avoir $A'B'$ à ∞ .

ODG: - focale objectif courte (2-45 mm) pour minimiser encombrement des microscopes commerciaux $\Rightarrow$ place objet très proche du plan focal
 - focale oculaire $\sim 125 - 50$ mm
 - $\Delta \sim 160$ mm (standardisé)

$\Rightarrow$ Monter le microscope.

2. Caractéristiques.

* Cercle oculaire (à placer avant peut-être) image géométrique du contour de l'objectif par l'oculaire.

$\hookrightarrow$ contient max luminosité du Σ en sortie car tous les rayons lumineux entrant dans l'oculaire passent par lui.

$\Rightarrow$ il faut placer l'œil au niveau du cercle oculaire.

Position C' (avec formule de conjugaison) - $\frac{1}{O_2O_1} + \frac{1}{O_2C'} = \frac{1}{f_2}$

$\hookrightarrow$ Expe qual/quant $\Rightarrow$ montrer le cercle et déterminer sa position

ODG: diamètre ^{cercle} oculaire $\sim 0,4$ mm } $\Rightarrow$ on récupère toute la lumière.
 ——— pupille ~ 1 mm
 en vrai position C' très proche de F_2'

* Grossissement: commercial $G_c = \frac{\alpha'}{\alpha} = \frac{\left| \frac{\overline{A'B'}}{\overline{F_2'O_2}} \right|}{\left| \frac{\overline{AB}}{d_m} \right|} = \underbrace{\left| \frac{\overline{A'B'}}{\overline{AB}} \right|}_{G_{\text{obj}} \times} \underbrace{\frac{d_m}{f_2'}}_{G_{\text{oc}}}$

$\Rightarrow \boxed{G_c = -\gamma_{obj} G_{c,oc}} \Leftrightarrow \text{car image retournée.}$

Or (théor.) $\left[\gamma_{obj} = \frac{\overline{A'B'}}{\overline{AB}} = \frac{\overline{A'B'}}{\overline{O_1 I}} = \frac{\overline{F_1' A'}}{\overline{F_1' O_1}} = \frac{\Delta}{-f_1'} \right]$

$\boxed{G_c = \frac{\Delta d_m}{f_1' f_2'}}$

* Puissance $\left[P = \left| \frac{\alpha'}{\overline{AB}} \right| = \left| \frac{\alpha'}{\overline{A'B'}} \cdot \frac{\overline{A'B'}}{\overline{AB}} \right| = P_{oc} |\gamma_{obj}| \right]$

$\boxed{P = \frac{\Delta}{f_1' f_2'}}$

$\Rightarrow \underline{G_c = P d_m}$

Or pour œil observant $\alpha \rightarrow P_{oc} = \frac{1}{f_2'}$

ODG: G_c commercial ~ 40 à $1000 \rightarrow G_c$ et $P \nearrow$ avec ajout de 2 lentille.

Expe quant: On calcul G_c et P et γ_{obj} du microscope monté en direct et on mesure $G_c = f(\Delta)$ et $P = f(\Delta)$

On a fait varier Δ en changeant l'objectif comme dans vrais microscopes.

Microscopes semblent bien marcher, pk on a inventé des techniques $\oplus$ compliquées?
 $\Rightarrow$ Limites.

Expe pour améliorer image cf Bellier

- $\rightarrow$ diaphragme de champ avant œil $\Rightarrow$ on limite la taille angulaire du faisceau $\Rightarrow$ conditions de Gauss
- $\rightarrow$ dépoli au niveau du condenseur $\Rightarrow$ casse la cohérence et être embêté par la tâche liée au filament
- $\rightarrow$ diaphragme ouverture avant objectif: taille image change ϕ mais éclaircissement $\downarrow$

3- Limites

* Aberations géométriques: pour avoir un grand champ (cad voir bcp de choses) il faut avoir des grands angles $\Rightarrow$ à l'encontre de l'approximation de Gauss
 $\hookrightarrow$ On peut les limiter avec un diaphragme de champ

Rappel conditions de Gauss $\equiv$ rayon incident paraxial $\rightarrow$ proche de l'axe optique
 $\rightarrow$ peu incliné l'axe optique.

- stigmatisme rigoureux : image d'un point est un point
- approche : petite tâche $\rightarrow$ ok si $\ll$ taille capteur
- aplanétisme rigoureux : image plane d'un objet plan.
- approche

* Aberations chromatiques : si lumière non monochromatique, chaque rayon $\lambda \neq$ converge à des endroits $\neq$ car lentille verre $\equiv$ milieu dispersif qui suit la loi de Cauchy : $n = n_0 \left(1 + \frac{B}{\lambda^2}\right) \Rightarrow n$ dépend de λ
 $\Rightarrow$ Snell Descartes $n_1 \sin i_1 = n_2 \sin i_2$
 $\Rightarrow$ Les $\pm \lambda$ n'ont pas le même n car $n(\lambda)$.
 $\rightarrow$ 1 solution consiste à accoler 2 lentilles pour compenser dispersion.

* Profondeur de champ : (latitude de mise au point)

Considérons un objet AB , d'image intermédiaire A_1B_1 et finale A_2B_2
 Image nette pour l'œil si $F_2', A_2 \in [-\infty, -d_m]$

Newton

$$\Delta p = \overline{A_0 A_m} = \overline{A_0 F_1} - \overline{A_m F_1} = \frac{-f_1'^2}{\overline{A_0, 1 F_1'}} + \frac{f_1'^2}{\overline{A_m, 1 F_1'}} = \frac{-f_1'^2}{\overline{F_2' F_1'}} + \frac{f_1'^2}{\overline{A_m, 1 F_2' + F_2' F_1'}}$$

$$\Rightarrow \Delta p = \frac{f_1'^2}{\Delta} + \frac{f_1'^2}{\frac{-f_2'^2}{\overline{A_m, 2 F_2'}} - \Delta} = \frac{f_1'^2 \left(\frac{f_2'^2}{\Delta m} + \Delta \right) + f_1'^2 \Delta}{\Delta \left(\frac{f_2'^2}{\Delta m} + \Delta \right)}$$

$$\Rightarrow \Delta p = \frac{f_1'^2 f_2'^2}{\Delta \Delta m \left(\frac{f_2'^2}{\Delta m} + \Delta \right)} = \frac{f_1'^2 f_2'^2}{\Delta (f_2'^2 + \Delta \Delta m)} = \frac{\Delta}{p^2 (f_2'^2 + \Delta \Delta m)} = \Delta p$$

$\Rightarrow \Delta p \searrow$ rapidement avec la puissance du microscope / grossissement

$\Rightarrow$ Compromis entre puissance et profondeur de champ.

$\Rightarrow$ c'est pourquoi on utilise des objectifs dans ordre $G \rightarrow P$ en restant net au cours du changement

* Diffraction $\equiv$ @ grosse limite.

objet ponctuel qui passe par une lentille circulaire $\Rightarrow$ tâche d'Airy $R = 0,6 \frac{\lambda D}{R_{\text{trou}}}$ ^{rayon tâche}
 $\Rightarrow$ limite de résolution angulaire = critère de Rayleigh

Pouvoir de résolution = capacité Σ à distinguer des détails
 $\equiv$ distance min devant séparer 2 points pour qu'ils soient correctement séparés à travers Σ optique.

Critère de Rayleigh: 2 objets ponctuels sont séparables si la première annulation d'une tâche correspond au centre max de l'autre.
 $\Rightarrow$ séparation angulaire $\Delta\theta = 0,6 \frac{\lambda}{R_{\text{trou}}} = \theta_r$ avec $R_{\text{trou}} = \frac{D}{2}$

★ Schéma $\Rightarrow u_i = \frac{R_{\text{trou}}}{OA'}$ et $\theta_r = \frac{A'B'}{OA'}$ $\Rightarrow \boxed{A'B' = 0,6 \frac{\lambda}{u_i}}$

Or si lentille respecte condition d'Abbe pour schématisation approchée: $n AB \sin u = n' A'B' \sin u_i$
 $\Rightarrow A'B' \sin u_i = AB' u_i$ $\frac{n AB \sin u}{n'} \approx 0,6 \lambda$ ^{l'indice du verre}

$\Rightarrow$ Si $n' = 1$ car air $\Rightarrow \boxed{(AB)_{\min} = 0,6 \frac{\lambda}{n \sin u}}$ $\rightarrow ON =$ ouverture numérique

rmq diffraction de l'objectif limitante car $|\gamma_{\text{obj}}| > 1$
 $\hookrightarrow$ & celle de l'oculaire ($|\gamma_{\text{oc}}| < 1$)

On peut $\downarrow (AB)_{\min}$ en: $\hookrightarrow$ do mais limite visible $\Rightarrow \lambda_0 > 400 \text{ nm}$
 $\hookrightarrow$ n mais on veut lentille convergente $\Rightarrow n < 1,5$
 $\hookrightarrow$ $\sin(u)$ mais $\sin(u) \leq 1$

$\Rightarrow$ ODG $(AB)_{\min} \approx 0,6 \times \frac{400 \cdot 10^{-9}}{1,5} \approx 0,2 \mu\text{m}$ taille min qu'on peut voir

$\Rightarrow$ Si on veut voir @ petit $\Rightarrow$ nouveaux microscopes.

$\hookrightarrow$ champ proche

$\hookrightarrow$ fluorescence. $\lambda_0 < 400 \text{ nm} \Rightarrow (AB)_{\min} \uparrow$.

III - Microscope à champ proche.

1. Utilisation d'ondes évanescentes.

Lumière a des propriétés ondulatoires $\Rightarrow$ elle peut être décrite par un champ $\vec{E}$

Si on considère une onde plane monochromatique on a $\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}$

avec $\vec{k} = (k_x, k_y, k_z)$

composantes transverses

composante longitudinale, généralement direction principale de propagation.

$\vec{E}$ dans eq de d'Alembert $\Rightarrow$ relation de dispersion:

$$|\vec{k}|^2 = k_x^2 + k_y^2 + k_z^2 = \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 = k_0^2 \text{ avec } k_0 = \frac{2\pi}{\lambda}$$

* $\vec{E}_i(x, y, z, t) = \vec{E}_i(x, y, z) e^{-i\omega t}$ $\Rightarrow$ après un objet diffractant il est de la forme *
car avec Fourier le champ diffracté peut être décomposé en ondes planes de vecteur d'onde $\vec{k}$

$$\Rightarrow k_z^2 = k_0^2 - k_x^2 - k_y^2$$

• si on a des basses freq spatiales $\Rightarrow k_x^2 + k_y^2 \leq k_0^2 \Rightarrow k_z \in \mathbb{R}$
 $\Rightarrow$ onde se propage selon z et peut être captée à toute distance.

• si on a des hautes freq spatiales $\Rightarrow k_x^2 + k_y^2 > k_0^2 \Rightarrow k_z \in \mathbb{I}$
 $\Rightarrow k_z$ est imaginaire pur $\Rightarrow$ ondes évanescentes, ne se propagent pas selon z et dont l'amplitude $\propto e^{-k_z z} / E(z) \sim e^{-k_z z}$

Or si on veut étudier des détails très fins $\approx 100 \text{ nm}$ par exemple

$\Rightarrow k_{\text{max}} \approx \frac{2\pi}{\lambda} \approx 6.3 \times 10^7 \text{ m}^{-1}$ or on utilise $\lambda = 680 \text{ nm} \Rightarrow k_0 \approx 9.3 \times 10^7 \text{ m}^{-1}$

$\Rightarrow k_{\text{max}} > k_0 \Rightarrow$ on a des hautes freq spatiales $\Rightarrow$ ondes évanescentes.

$\Rightarrow$ si on place un capteur proche de l'objet ($\approx 1/k_z$) on peut recueillir l'info $\Rightarrow$ on se passe du critère de Rayleigh.

$\Rightarrow$ par objet $\otimes$ petit que $\lambda \Rightarrow$ champ proche pour récupérer info.

2 - Principe de fonctionnement.

- ① Source de lumière (laser, hélium néon) éclaire sous la surface à analyser avec un angle d'incidence $\theta_i >$ angle limite θ_c
 $\Rightarrow$ réflexion totale
 $\Downarrow$
 Onde évanescente à l'interface entre les milieux 1 et 2 en l'absence d'objet.
 $\sin \theta_c = \frac{n_2}{n_1}$ avec $n_1 = n_{\text{verre}}$ et $n_2 < n_1$
- ② $\Rightarrow$ L'objet diffracte cette onde évanescente
- ③ Sonde collecte l'onde évanescente et la convertit en onde propagative
 $\hookrightarrow$ doit être proche de la surface $\leq 1/\lambda_2$
 $\hookrightarrow$ se déplace à la surface $\Rightarrow$ cartographie des détails avec résolution $\sim nm \ll \lambda$

CONCLUSION

- $\rightarrow$ On a vu le principe de la microscopie optique qui a pour objectif de voir le $\oplus$ petit possible.
 - $\hookrightarrow$ la loupe
 - $\hookrightarrow$ microscope à 2 lentilles
 } on a étudié leurs caractéristiques.
- $\rightarrow$ Mais $\neq$ limites, dont celle liée à la diffraction qu'on ne peut pas corriger comme les aberrations.
- $\Rightarrow$ Microscopie à champ proche qui dépasse cette limite en utilisant les ondes évanescentes.
- $\rightarrow$ 3^e autre microscopie d'optique à effet tunnel = m^e principe de champ proche mais avec des e^-