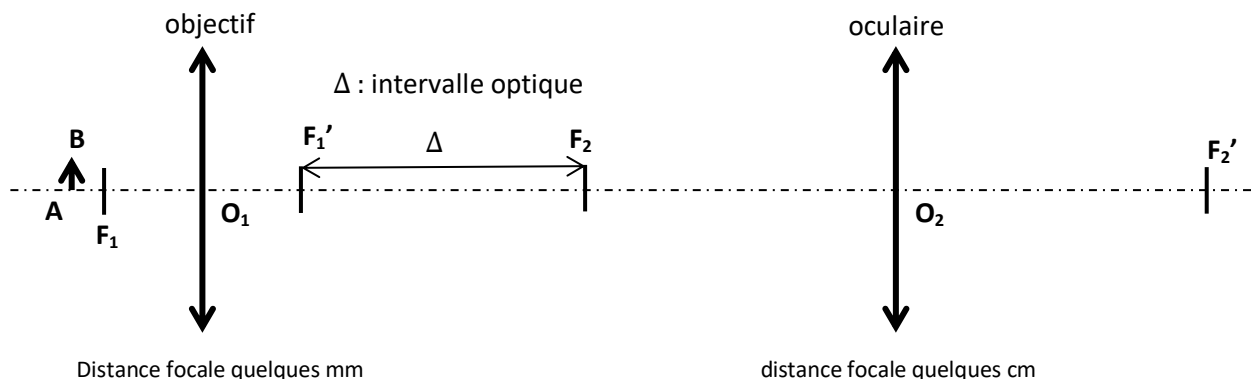


1. Principe du microscope

a. Modèle

- **Modéliser un microscope optique par un système optique simple.**



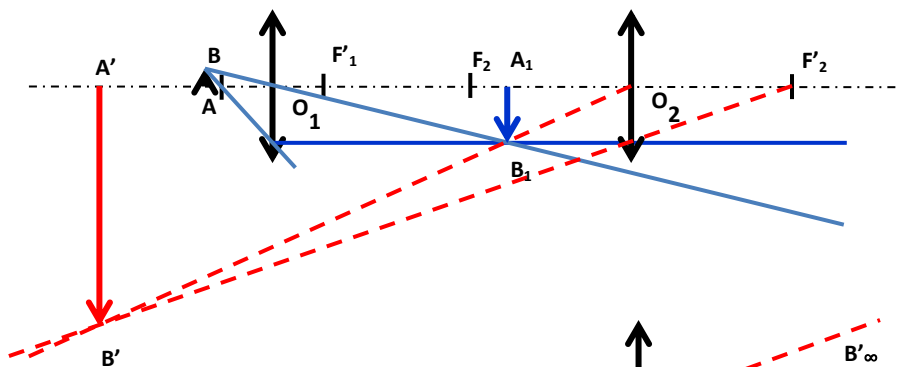
b. Description du principe du microscope

- **Réaliser et exploiter le tracé d'un faisceau de lumière pour décrire le principe du microscope.**

- **Exploiter les relations de conjugaison pour déterminer la position et la taille d'une image fournie par l'objectif d'un microscope.**

Pour obtenir l'image A'B' d'un objet AB il faut tracer les rayons donnant l'image A₁B₁ de AB à travers l'objectif, puis tracer les rayons donnant l'image A'B' de A₁B₁ à travers l'oculaire.

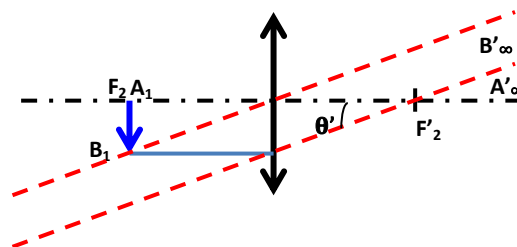
Pour calculer O_2A' et $A'B'$ on applique les relations de conjugaison successivement aux deux lentilles.



c. Réglage du microscope

Pour régler un microscope on place l'objectif le plus petit à la hauteur mini de la lame. Puis on éloigne l'objectif (avec la vis macrométrique puis la vis micrométrique) jusqu'à atteindre la netteté. Dans ce cas l'image A'B' de AB est à l'infini.

θ' est le diamètre apparent à travers l'instrument d'optique



d. Caractéristique du microscope

- **Extraire d'une documentation les caractéristiques utiles d'un microscope commercial pour le choisir et le mettre en œuvre.**

- **Définir le grossissement et le pouvoir de résolution d'un microscope optique.**

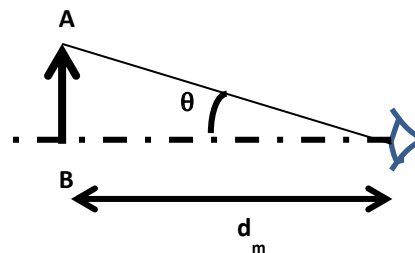
• Grossissement

On appelle grossissement le rapport $G = \frac{\theta'}{\theta}$

d_m distance minimum de vision distincte

Avec θ (diamètre apparent de l'objet) l'angle sous lequel on voit, à l'œil nu, l'objet situé à $d_m = 25$ cm.

$$\tan \theta \approx \theta = \frac{AB}{d_m} \text{ car } \theta \text{ est petit}$$



Et θ' (diamètre apparent de l'image) l'angle sous lequel on voit l'image de l'objet à travers l'instrument d'optique

Soit un microscope dont l'objectif a un grossissement γ_1 et dont l'oculaire a un grossissement G_2 , on définit le grossissement du microscope optique G tel que $G = |\gamma_1| \times G_2$

- **Puissance du microscope commercial**

La puissance intrinsèque P_i du microscope est le rapport : $P_i = \frac{\Delta}{f_1 \cdot f_2}$

La relation entre puissance et grossissement étant $G = P \times d_m$ on a pour expression de la puissance : $P_i = |\gamma_1| \times P_2$

Remarque : d_m étant fixé à 25 cm soit 0,25 m soit $\frac{1}{4}$ de m on peut écrire : $G = \frac{P}{4}$.

2. Diffraction & résolution du microscope

Mettre en évidence expérimentalement le phénomène de diffraction.

a. Diffraction

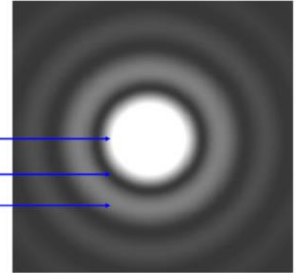
Définition : La **diffraction** est un phénomène lié au comportement des ondes lorsqu'elles rencontrent un obstacle ou une ouverture. Elle consiste en l'apparition de zones d'amplitudes maximales et minimales autour de la direction de propagation.

Lorsque la lumière arrive sur un objet très petit, il apparaît une figure de diffraction appelée tache d'Airy (cf. ci-contre).

Deux objets très proches du fait de ce phénomène vont se superposer rendant leur distinction difficile.

On considérera leurs images distinctes si la distance entre les centres est supérieure à la demi-largeur de la tache d'Airy.

Disque central brillant
Anneau sombre
Anneau brillant

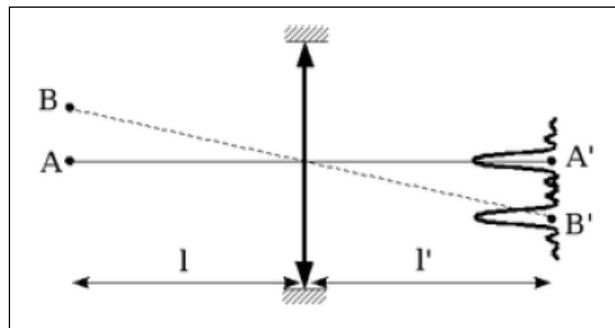


Conclusion : la résolution du microscope optique est limitée par le phénomène de diffraction de la lumière.

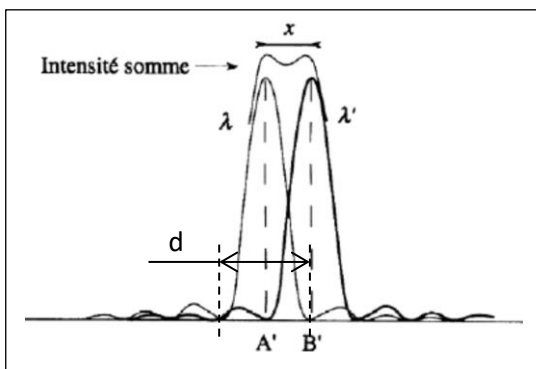
b. Pouvoir de résolution d'un microscope

Associer le pouvoir de résolution d'un instrument au phénomène de diffraction.

La résolution d'un microscope désigne sa capacité à séparer des détails très voisins. Indépendamment du capteur utilisé et des aberrations ou imperfections des lentilles, la résolution du microscope optique est fondamentalement limitée par la diffraction de la lumière. En effet, un point objet formera nécessairement une image en forme de tache d'Airy. Ainsi, les images A' et B' des 2 points objets A et B sont 2 taches d'Airy séparées par une distance x



Si A' et B' sont justes discernables, nous sommes à la **limite de résolution**.



Ici $x = d/2$ A', B' sont juste discernable (Le critère de Rayleigh), pour $x < d/2$ les deux images A' et B' ne sont plus discernables.

Résolution d'un microscope :

Prévoir les conséquences de la modification de la taille de l'objet diffractant et de la longueur d'onde sur une figure de diffraction.

On montre que pour un microscope, 2 points objets d'égale brillance, séparés par une distance d , forment des images résolues si :

$$d \geq 0,61 \times \frac{\lambda}{ON}$$

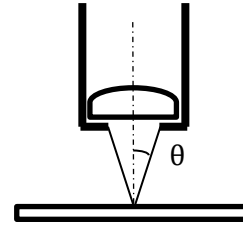
Avec : **l'ouverture numérique** $ON = n \cdot \sin \theta$

d : distance de séparation des 2 point (m)

λ : longueur d'onde de la radiation émise par les points objets

n indice de réfraction du milieu entre la platine et l'objectif

θ demi-angle du cône de lumière entrant dans l'objectif



Remarque : En anglais l'ouverture numérique s'appelle : *Numerical Aperture* (NA)

La résolution d'un microscope est d'autant plus importante que d est faible, c'est-à-dire que l'ouverture numérique (ON) du capteur (ici l'objectif) est grande et que la longueur d'onde du faisceau lumineux est petite .

Conséquence : Un microscope optique (ou photonique) ne permet pas d'observer des objets d'un **diamètre inférieur à 0,2 μm** .

3. Les microscopes

a. Choix d'un microscope

- Extraire d'une documentation les caractéristiques utiles d'un microscope commercial pour le choisir et le mettre en œuvre.

Pour choisir un microscope il faut savoir ce que l'on souhaite observer et vérifier que les différentes caractéristiques répondent à nos besoins.

Caractéristiques :

- L'objectif (exemple 40/0.65 puis 160 /0,17):
 - 40 $\times$ (avec ou sans $\times$) = γ_1 son grandissement ;
 - 0,65 = O.N son ouverture numérique ;
 - 160 = Δ son intervalle optique associé ;
 - 0,17 = épaisseur de la lamelle couvre objet.
- L'oculaire (exemple $\times 10/20$):
 - $\times 10$ est son grossissement G_2 ;
 - 20 est son indice de champ (qui divisé par γ_1 de l'objectif donne le diamètre du champ observé dans l'oculaire)
 - Il est aussi préciser son type : monoculaire, binoculaire, ou trinoculaire si on ajoute un appareil photo ou une caméra.
- Le type de diaphragme ;
- Le condenseur ;
- Le mode d'éclairage.



Déterminer expérimentalement quelques caractéristiques d'un appareil commercial.

Il arrive que les caractéristiques de l'oculaire soient absentes

- Mesure de la distance focale de l'oculaire : , on déplace un écran après l'oculaire lorsqu'il est dirigé vers le soleil jusqu'à obtenir l'image la plus petite (ou prendre un objet très éloigné pour simuler l'infini). Mesurer alors la distance entre la lentille et l'écran c'est la distance focale f'_2 .
- Calculer le diamètre apparent $\theta = \frac{AB}{d_m}$ d'un objet de taille $AB = 1 \text{ mm}$ avec $d_m = 0,25 \text{ m}$.
- Repérer sur l'objectif son grandissement γ_1 et calculer la taille A_1B_1 de l'image : $A_1B_1 = \gamma_1 \times AB$
- Calculer le diamètre apparent θ' sous lequel est vu l'objet en sortie du microscope : $\theta' = \frac{A_1B_1}{f'_2}$
- Calculer le grossissement : $G = \frac{\theta'}{\theta}$

b. Le capteur

Associer le pouvoir de résolution d'un instrument aux propriétés du capteur.

Le grossissement réel du microscope dépend également du pouvoir séparateur du capteur.

L'œil Humain moyen a un pouvoir séparateur de 0,15 mm. Des capteurs comme la pellicule photographique (le grain) ou les capteurs bolométriques peuvent avoir des pouvoirs de résolution meilleurs.

c. Amélioration de la résolution

Le microscope photonique ne permet pas d'avoir une résolution inférieure à 0,2 μm . Cependant certaines techniques dérivées permettent de mieux discerner les détails microscopique : microscopie à fluorescence (utilisation d'un marqueur fluorescent), microscopie polaroïde (utilisant des filtres polarisés).

Pour augmenter la résolution d'après la relation $d \geq 0,61 \times \frac{\lambda}{\text{ON}}$ il nous faut diminuer la longueur d'onde. Les électrons ont également une dimension ondulatoire comme la lumière mais avec des longueurs d'ondes 1000 fois plus petites. On a donc inventé les microscopes électroniques qui ont des grossissements pouvant atteindre 2 millions.