

CH IV microscopie optique

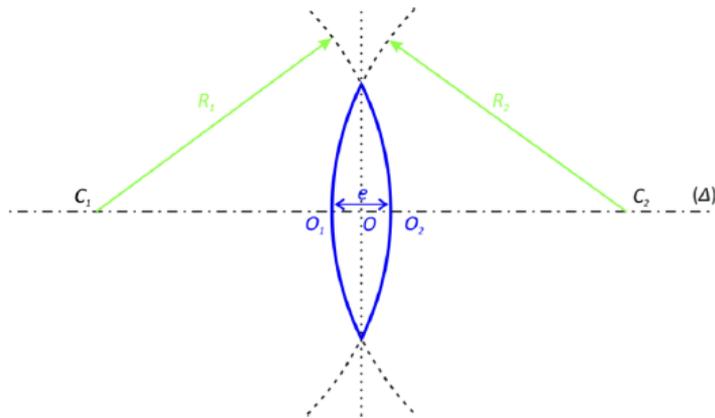
I. définition :

Le microscope optique ou microscope photonique est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions (ce qui caractérise son grossissement) et de séparer les détails de cette image (et son pouvoir de résolution) afin qu'il soit observable par l'œil humain. L'objectif et l'oculaire sont des lentilles minces convergentes.

II. Lentilles minces :

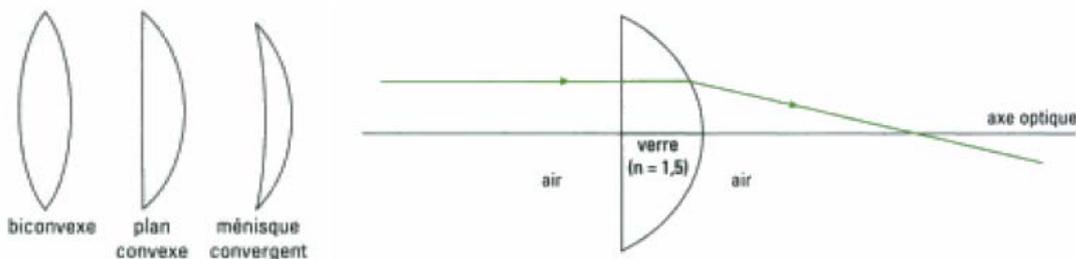
1. définition :

Une lentille sphérique est un milieu transparent homogène et isotrope limité par deux dioptries sphériques (de centres C_1 et C_2) ou un dioptre sphérique et un dioptre plan. L'axe de révolution (symétrie) de cette lentille est son axe optique. La lentille est dite mince si son épaisseur $e = O_1O_2$ sur l'axe optique est petite devant les rayons R_1 et R_2 des deux dioptries sphériques. Dans ce cas, on peut confondre les intersections des deux faces avec l'axe optique en un même point O appelé centre optique de la lentille.

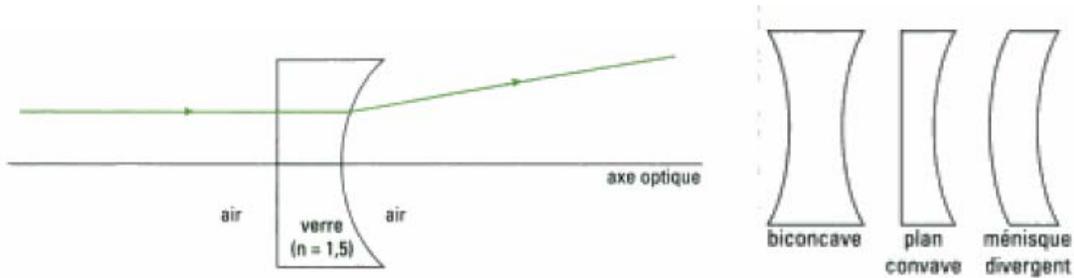


Il existe deux types des lentilles :

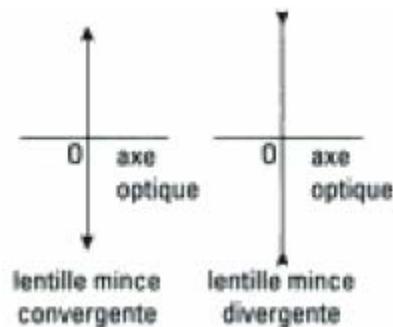
Lentilles convergentes : le rayon lumineux émergent de la lentille est dévié vers l'axe optique. Il existe 3 types de lentilles convergentes



Les lentilles divergentes : le rayon lumineux émergent de la lentille s'écarte de l'axe optique.



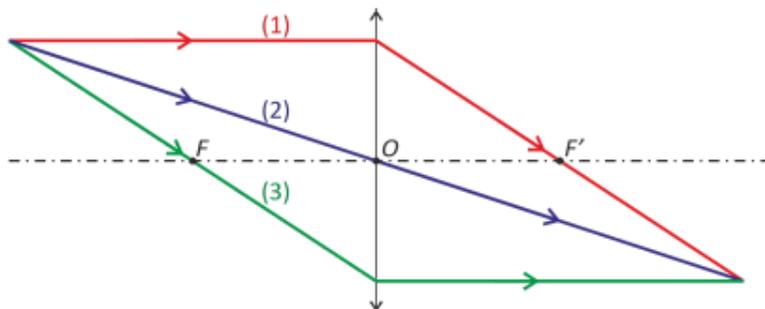
Les symboles des lentilles sont donnés par



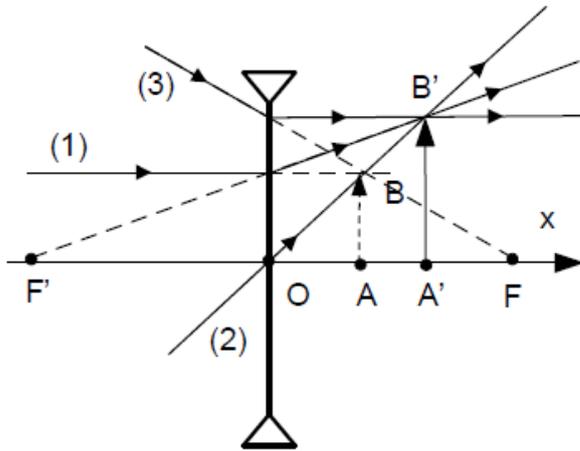
2. Construction d'images :

Après avoir traversée d'une lentille mince convergente :

- un rayon parallèle à l'axe principal passe par le foyer principal image F' ;
- un rayon passant par le centre optique O n'est pas dévié ;
- un rayon passant par le foyer principal objet F sort de la lentille parallèlement à l'axe principal.



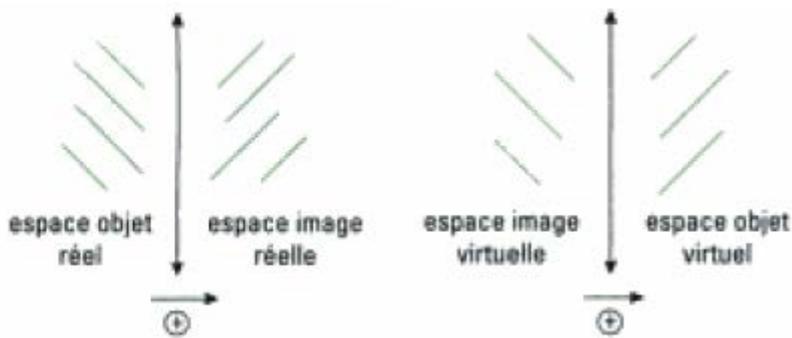
Pour une lentille divergente on a



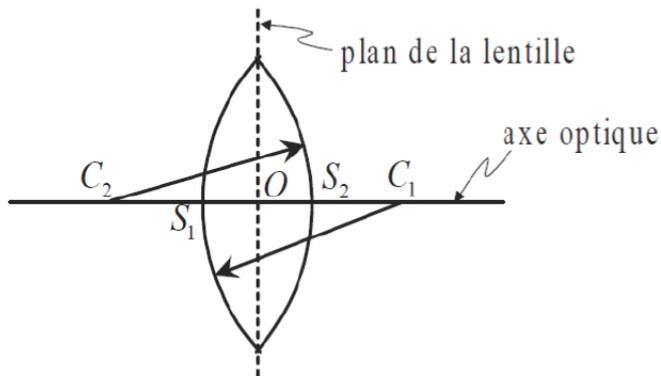
Remarques :

Les foyers sont symétriques par rapport au centre optique et sont :

- Réels pour une lentille convergente
- Virtuels pour une lentille divergente



3. Formules de position :



Pour une lentille mince on a : $S_1=S_2=O$

La formule de conjugaison est donnée par : $\frac{1}{OA'} - \frac{1}{OA} = \frac{1}{f'} = -\frac{1}{f} = V$

Si on pose $p=OA$ et $p'=OA'$ on a $\frac{1}{p'} - \frac{1}{p} = \frac{1}{f'} = -\frac{1}{f}$

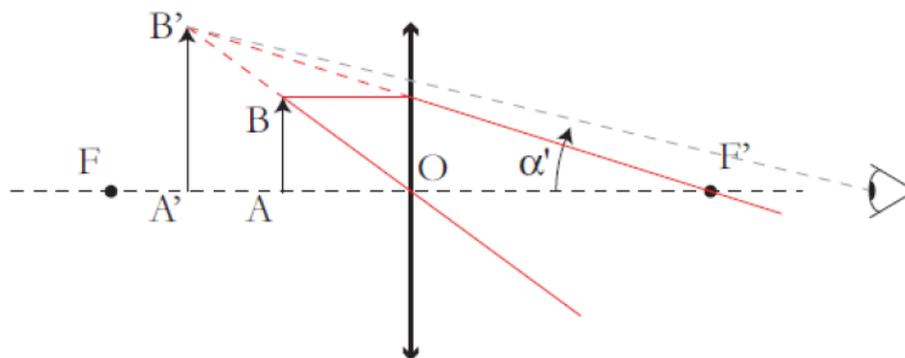
Et le grandissement $G = \gamma_1 \gamma_2 = \frac{\overline{OA'}}{\overline{OA}} = \frac{p'}{p} = \frac{\overline{A'B'}}{\overline{AB}}$

III. Microscope optique :

1. Généralités

Puissance :

La puissance P d'un instrument est le rapport de l'angle sous lequel on voit l'image virtuelle donnée par l'instrument et de la longueur de l'objet : $P = \alpha' / AB$
Où AB est la taille algébrique de l'objet, et α' l'angle d'observation de l'image virtuelle. Cet angle varie selon la position de l'observateur. La puissance P s'exprime en dioptries, α' en radians et AB en mètres.



Grossissement :

Le grossissement est le rapport entre angles apparents sous lequel on voit l'objet à l'œil nu α et sous lequel on voit l'image virtuelle α' . $G = \alpha' / \alpha$

2. Anatomie d'un microscope

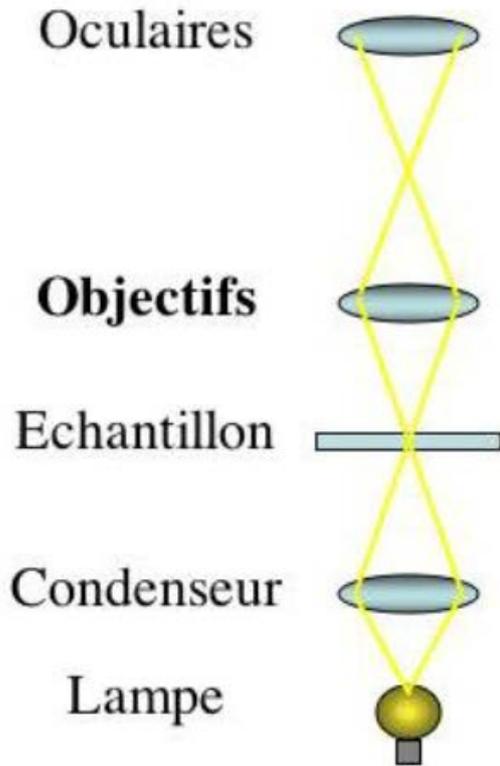
Un microscope à transmission comporte principalement les éléments suivants : une source lumineuse, un condenseur, un objectif et des oculaires (voir figure ci-dessous).

Source

La première source utilisée était le soleil. Maintenant, la lampe allogène a remplacé la source naturelle, offrant plus de puissance.

Condenseur

C'est principalement une lentille servant à concentrer la lumière de la source lumineuse sur l'échantillon. Son rôle est essentiel pour la qualité des images, notamment le contraste et la résolution.



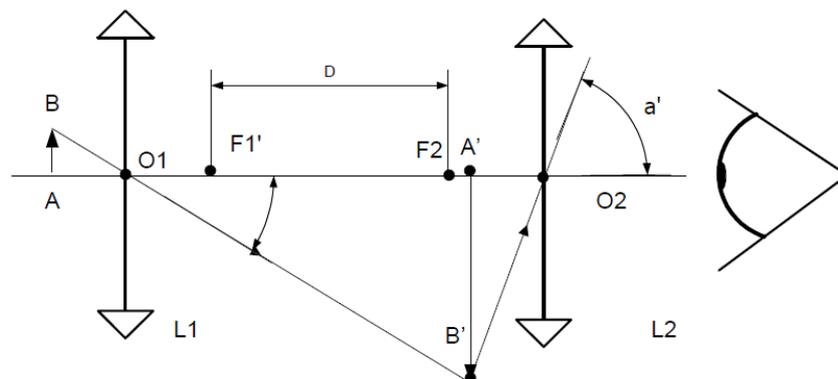
Objectif

L'objectif est le cœur du microscope, l'élément essentiel. Il peut se résumer à une simple lentille à fort pouvoir grossissant. C'est lui qui détermine la résolution optique du microscope.

Oculaires

Les oculaires servent à grandir l'image fournie par l'objectif (comme une loupe) et à pouvoir regarder l'échantillon sans que l'œil doive accommoder, pour le confort de l'utilisateur.

3. Principe optique du microscope



Le microscope est constitué de l'association de deux lentilles convergentes, L1 et L2, la première étant appelée l'objectif de distance focale f_1' (de l'ordre du

millimètre) et la dernière l'oculaire de distance focale f_2' (de l'ordre du centimètre). La distance entre F_2 et F_1' est caractéristique de l'instrument ; elle sera notée D par la suite. La distance de L_1 à l'objet peut en revanche être réglée par un système à crémaillère. Soit (A',B') l'image de (A,B) à travers la lentille L_1 . L_2 donne de (A',B') une image virtuelle (A_1B_1) . Pour observer l'image (A_1B_1) avec l'œil sans accommoder, il faut qu'elle soit placée à l'infini et donc placer $(A'B')$ sur le plan focale objet de L_2 .

La puissance peut s'écrire de manière générale comme :

$$P = \left| \alpha' / \overline{AB} \right| = \left| \frac{\overline{A'B'}}{\overline{AB}} \frac{\alpha'}{\overline{A'B'}} \right| = |\gamma_1| P_2$$

Où P_2 est la puissance de l'oculaire et γ_1 le grandissement de l'objectif.

Pour observer l'image $A'B'$ sans accommoder (autrement dit sans fatiguer l'oeil), il faut que cette image soit placée à l'infini. Pour cela il suffit de placer l'objet au niveau du plan focal objet de la loupe, soit $AO=f'$ ' d'où $a' = AB/f'$ de sorte que la puissance vaut alors : $P_i = 1/f'$ dite puissance intrinsèque.

Le grossissement commercial (G_c) est la valeur particulière de G lorsque que l'on observe l'objet à l'œil nu en le plaçant au punctum proximum (d_m) On a alors :

$$G_c = d_m / f', \text{ soit également } G_c = d_m P_i$$

Par ailleurs le microscope est construit de manière à ce que $f_1' \ll D$. On établit alors les relations suivantes :

$$P_2 = 1 / f_2' \quad \text{et} \quad \gamma_1 = \frac{\overline{O_1A'}}{O_1A} = \frac{f_1' + D}{O_1A} \approx -D / f_1'$$

$$d'où \quad P_i = \frac{D}{f_1' f_2'}$$

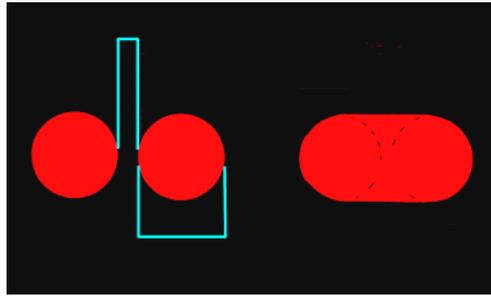
Le grossissement commercial, G_c est

$$G_c = \frac{D d_m}{f_1' f_2'} \text{ qui peut s'écrire aussi : } G_c = |\gamma_1| G_{c2}$$

avec G_{c2} le grossissement commercial de l'oculaire.

4. Résolution optique

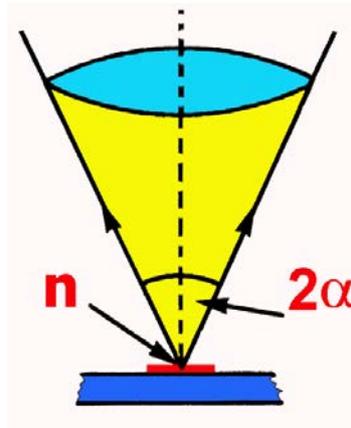
Le pouvoir séparateur est la capacité de distinguer deux points adjacents comme distincts. L'oeil a la capacité de distinguer des particules d'un diamètre pouvant atteindre $0.1 \mu\text{m}$. Toutefois, elles doivent être séparées entre elles d'une distance d'au moins $5 \mu\text{m}$. Le pouvoir séparateur de l'oeil est de $5 \mu\text{m}$.



Plus précisément, la résolution est définie comme la distance minimale entre deux points séparables sur l'image finale et se calcule par la formule suivante :

$$d = 0,61 \lambda / ON, \text{ C'est la loi d'Abbe.}$$

où λ est la longueur d'onde et ON l'ouverture numérique de l'objectif (valeur entre 0,2 et 1,4, toujours inscrite sur l'objectif).



$$O.N = n \sin \alpha$$

Cette expression indique la largeur maximale du cône de lumière pénétrant dans la lentille. On peut voir que l'ouverture numérique est directement proportionnelle à l'indice de réfraction n du milieu situé entre l'échantillon et la lentille de l'objectif (fig.4).

La qualité d'un microscope ne dépend pas du grossissement mais du pouvoir séparateur, c'est-à-dire de la capacité que possède cet instrument pour séparer 2 points voisins. Rien ne sert d'agrandir une image qui serait floue ! Le pouvoir séparateur est inversement proportionnel à ON et à l'indice de réfraction du milieu, alors qu'il est directement proportionnel à la longueur d'onde de la lumière.

Pour accroître le pouvoir séparateur on peut faire varier λ , n ou $\sin \alpha$. Pour faire varier α il faut utiliser de courtes focales. Dans ces conditions, on se rapproche de l'objet et intuitivement, on comprend que la lumière sera moins dispersée. On peut aussi faire varier λ . Dans ces conditions, il faut utiliser une lumière

monochromatique de courte longueur d'onde. Pour faire varier n , on utilise l'immersion, en général une interface d'huile, autrefois l'huile de cèdre, maintenant une huile synthétique. L'indice à 20°C est fixé à 1.514 par convention. D'une manière générale le pouvoir séparateur d'un bon microscope se situe aux environs de 0.2 μm

On ne peut dépasser la valeur de l'O.N. de 1.40, car pour augmenter l'ouverture numérique, l'objectif doit être de plus en plus proche de la surface de l'échantillon et la distance de travail, DT , n'est jamais nulle. L'angle 2α maximum (180°) est formé lorsque la lentille frontale touche l'échantillon, or ceci est bien sûr irréalisable.

5. Les aberrations

Les images formées par un système optique, même aussi simple qu'une lentille, comportent dans la réalité des défauts. Ces défauts sont appelés aberrations et nous allons en apercevoir trois dans cette section.

- L'aberration chromatique : ce défaut provient du fait que des rayons lumineux de longueurs d'onde différentes ne sont pas focalisés au même point de l'axe optique. Cette aberration peut être corrigée en ajoutant d'autres lentilles. Ceci explique que les objectifs de microscope avec une correction chromatique sont plus complexes.

- L'aberration de sphéricité : elle est due à une focalisation des rayons lumineux à une distance différente de la lentille suivant la distance entre le centre de la lentille et le point d'incidence du rayon sur cette dernière. Ceci implique que le plan image n'est pas bien défini.

- La coma : c'est une aberration due à une différence de focalisation des rayons ayant un angle important par rapport à l'axe optique. Lorsque l'angle incident des rayons change, l'angle de sortie change lui aussi d'après les lois de la réfraction. De ce fait, les rayons arrivant au centre de la lentille et ceux arrivant en périphérie ne sont pas focalisés au même endroit. Le résultat est une image déformée.