LPS 16 : Microscopies optiques.

Alexandre Pricoupenko Rémi de Guiran

Niveau : L2

Prérequis : Optique Géométrique. Modèle de l'oeil. Diffraction. Ondes ELM.

Expérience quantitative : Mesure de grossissement d'un microscope à deux lentilles.

Références : Composition de Physique 2015. Agreg. externe de Physique-Chimie option Physique.
Nouvelles microscopies (Aigouy).
Une intro au champ proche
Un cours beaucoup plus complet (voir preface p.22 cool quand on connait deja un peu)

Table des matières

I Microscope à deux lentilles **2**
I.1 Présentation du système 2
I.2 Caractéristiques 3

II Limites du microscope à deux lentilles **4**
II.1 Aberrations 5
II.2 Limite de diffraction 5

III Microscopie à champ proche **7**

IV Connaitre d'autres types de microscopies **11**

Introduction

Aujourd'hui on va parler des microscopes optiques i.e. d'appareils optiques permettant d'étudier des détails à petite échelle ($\sim$ microscopiques ou plus petit !) à une échelle macroscopique.

Le premier "instrument d'optique" que l'on connaît, c'est notre oeil, rappelons brièvement ici ses caractéristiques.

On a vu que l'oeil pouvait être modélisé par l'association d'une lentille mince convergente avec une focale que l'on peut varier (cf muscles oeil) et d'un écran (rétine). On avait alors défini un intervalle de points objets (défini via la distance objet-oeil) dont on peut obtenir une image nette via le système optique de l'oeil (via l'accomodation).

$$[\text{PR,PP}] \xrightarrow{L_{oeil}} \text{image nette (sur la rétine)}$$

Le Punctum Remotum (PR) : Le point le plus éloigné que l'œil puisse voir net sans mettre en jeu son accommodation. Pour un oeil normal PR = - ∞.

Le Punctum Proximumn (PP) : Le point le plus proche que l'on peut voir distinctement (cf accomodation maximum). Pour un oeil normal PP = -25 cm.

Prenons maintenant un objet AB et plaçons nous dans l'intervalle [PR,PP], on observe alors nettement l'objet avec un diamètre apparent α. (Schéma). Ce dont on avait également parlé, c'est qu'il existe une limite en résolution pour l'oeil, i.e. qu'on ne peut pas percevoir les détails d'un objet à l'oeil nu au delà d'un angle minimum ($\alpha_{min} \sim 2,9.10^{-4}$ rad). Cela nous permet de remonter à la distance minimale de résolution entre deux points. [1]

$$AB = \alpha d \qquad AB_{min} = \alpha_{min} \underbrace{d_{min}}_{PP} \sim 73\mu m \tag{1}$$

ODG : Cellules eucaryotes (animaux, plantes, champignons) : $10 - 100$ μm
Bactéries $0.5 - 5$ μm
Virus $0.01 - 0.1$ μm
Molécules (+ étude double hélice d'ADN ...) : $10^{-9} - 10^{-8}$ m

$\rightarrow$ On va donc devoir utiliser autre chose que notre oeil !

Transition : Ce qu'on remarque aussi à travers le schéma, c'est que grossir l'image [2], ça permet, jusqu'à certaines limites [3], de pouvoir augmenter notre résolution de l'objet.

(Alors bon, on sait qu'avec une lentille convergente on peut faire une loupe ou un microscope simple, mais on va plutôt préférer un montage à 2 lentilles, certes cela rajoute a priori plus d'aberrations, mais ça va permettre de renvoyer l'image à l'infini.)

I Microscope à deux lentilles

I.1 Présentation du système

Schéma. On prend un objet AB que l'on souhaite grossir/dont on souhaite avoir une bonne résolution. On met en aval une 1ère lentille L_{ob}, appelée objectif, dont le but est de créer une image intermédiaire agrandie de A_1B_1 (On place alors A situé juste avant F1) [4]. On verra également que la taille de cette lentille joue une rôle crucial plus tard. Une deuxième lentille L_{oc}, appelée oculaire est disposé après, et va servir à renvoyer une image agrandie à l'infini, pour que l'oeil n'ait pas à accomoder pour voir l'image de l'objet par le système optique. Schéma. Tracé des rayons en direct.

Introduire $\Delta = \overline{F'_{ob}F_{oc}}$. On peut aussi mettre l'oeil sur le schéma : d la distance oeil/objet.

$$A \xrightarrow{L_{ob}} A_1 = F_{oc} \xrightarrow{L_{oc}} \infty \Big(\xrightarrow{L_{oeil}} A_2 \text{ sur rétine } [5] \Big) \tag{2}$$

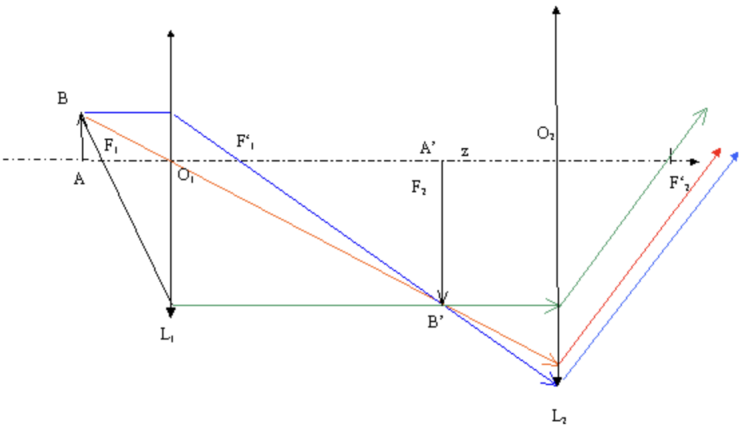
Comment se répartie l'intensité en sortie du système optique ? (attention aux notations)

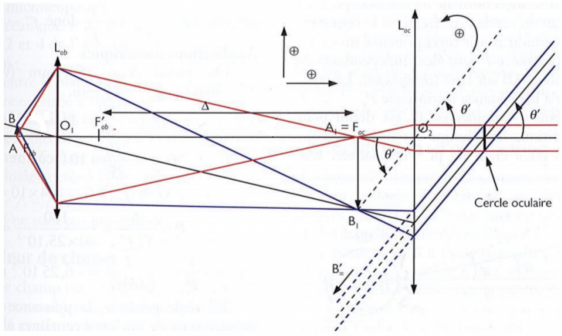
Slide ?

On assimile le diaphragme d'ouverture (appelée pupille d'entrée) aux limites de notre première lentille. L'image de ce diaphragme par le système optique est appelée cercle oculaire. C'est là où se trouve l'intensité lumineuse et où il faut placer son oeil.

ODG : Son rayon est de l'ordre de 0,1mm, plus petit que le rayon de notre pupille.

1. On pourra alors remarquer, que comme on s'y attendait naturellement, la distance à laquelle on doit se place vis à vis de l'objet est la distance minimum de vision nette, qui maximise elle-même le diamètre apparent de l'objet que l'on observe.
2. Qui revient dans le cas de l'oeil seul à maximiser le diamètre apparent de l'objet, et dans le cas de systèmes optiques en amont de l'oeil qui rejettent l'image à l'infini, à maximiser le grossissement de ces systèmes optiques.
3. Dans le cas ici d'une observation à l'oeil nu, on a la limites de vision nette + limite de résolution angulaire
4. Pour avoir un bon grossissement et un faible encombrement, on choisit une faible focale.
5. Image nette sans accomodation





NB : Ne pas parler de diaphragme de champ je crois. Savoir qu'il limite la dimension transverse du champ objet observable.

I.2 Caractéristiques

Pour étudier le microscope, on va se placer pour l'instant dans l'approximation de Gauss afin de pouvoir utiliser l'optique géométrique.

On introduit le grossissement G, définie comme :

$$G = \frac{\theta'}{\theta} \tag{3}$$

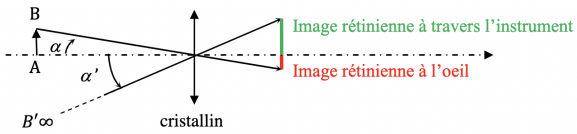
θ' l'angle sous lequel on voit l'objet en sortie du microscope et θ l'angle sous lequel on voit l'objet à l'oeil nu.

Comme on le voit, G mesure en fait le rapport des tailles des images rétiniennes lorsque l'objet est vu respectivement à travers le microscope et à l'oeil nu. (attention être consistent dans les notations avec les schémas précédents)

Calcul théorique. On a $\theta = \overline{AB}/d$ et $\theta' = \overline{A_1B_1}/f'_{oc}$. Thalès papillon $O_1 B_{proj} F'_{ob}$ [6] et $F'_{ob} A_1 B_1$. ($\overline{A_1B_1}/\overline{AB} = -\Delta/f'_{ob}$)

$$G = \frac{\theta'}{\theta} = -\frac{\Delta}{f'_{ob} f'_{oc}} d \tag{4}$$

6. B_{proj} est le projeté orthogonal de B sur l'objectif.



EXPERIENCE. Mesure d'un grossissement.

Matériel : Lampe QI + Filtre calorique + Objet lettre T.

+ Objectif de focale 10 cm + oculaire de focale 20 cm qu'on fixe ensemble à une distance de ? ?. Prendre des achromats ? (si oui le mentionner plus tard ou mtn ?).

+ Oeil qu'on modélise par une focale (cristallin) de 50 cm avec écran (rétine) situé dans son plan focal image (cf relation de Descartes a l'infini)

La distance objet-oeil est fixée à environ 1m50.

On calcule la taille $l = ... \pm 0.5mm$ de l'image sans microscope puis la taille $l' = ... \pm 0.5mm$ avec microscope et on en déduit un grandissement équivalent au grossissement. (rapport longueur = rapport des angles cf schéma)

Rq à toi remi : J'ai pris une incertitude de 0.5mm = 1mm (1 graduation)/2 mais y a moyen de faire le mec vener des incertitudes avec des formules plus compliqués il me semble, a voir on en discutera.

$$G = \frac{l'}{l} = ... \pm ... \qquad \delta G = G\sqrt{(\frac{\delta l}{l})^2 + (\frac{\delta l'}{l'})^2} = G\delta l\sqrt{(\frac{1}{l})^2 + (\frac{1}{l'})^2} \tag{5}$$

Comparaison valeur théorique ?

→ Et avec de vrais paramètres de microscope ? On définit en fait le grossissement commercial $G_c = |G(d = d_{min})|$ où $d_{min} = PP = -25cm$. ODG avec vrais paramètres de microscope $f'_{ob} = 8mm$; $f'_{oc} = 2.5cm$; $\Delta = 16cm$; on trouve $G_c = 200$

En fait, on peut introduire la puissance d'un microscope pour comparer le notre avec celui dans le commerce :

$$P = \frac{\theta'}{AB} = -\frac{\Delta}{f'_{ob}f'_{oc}} \tag{6}$$

Cette valeur ne dépend pas de la distance objet-oeil et caractérise ainsi un microscope.

ODG : $P = 800m^{-1}$ (1 dioptrie = $1m^{-1}$), pour nous $P = G/d \sim ...$

- On peut aborder la notion de latitude de mise au point (ou profondeur de champ en microscopie visuelle) : c'est la distance entre les deux positions de l'objet compatible avec une vision nette de l'image finale. Cette distance est très faible pour un véritable microscope de l'ordre de μm et on peut montrer qu'elle diminue avec la puissance du microscope, (Calcul compo physique 2015 A Q.11-12), donc compromis à faire !

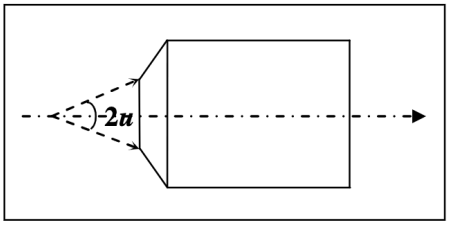
II Limites du microscope à deux lentilles

On aborde ici les limitations d'un point de vue plutôt historique.

II.1 Aberrations

- On doit faire face à des aberrations chromatiques car les lentilles sont des milieux dispersifs. Plus particulièrement, la focale des lentilles dépend de de l'indice du milieu dans lequel elles sont taillées, indice qui dépend de la longueur d'onde (le bleu est plus dévié que le rouge). On pourra citer la loi de Cauchy ou la laisser pour les questions.

- Ce qu'on va voir dans la prochaine sous partie, c'est que les objectifs doivent en fait accepter de grands angles pour avoir une meilleure résolution. Ainsi on définit l'ouverture numérique $\omega_0 = n\sin(u_{max})$, la caractéristique la plus importante de l'objectif.



ODG : Exemple : Ouverture numérique de 0,5 : $u \approx 30^o$.

→ On est plus dans les conditions de Gauss, on entre dans l'optique non paraxiale !

On a donc apparition d'aberrations géométriques importantes qu'il faut corriger !
Développer si on est chauds [7]

→ Comment palier à ces problèmes ?

On présente l'idée avec l'exemple du dispositif d'Amici Lister (milieu du XIXe siècle).

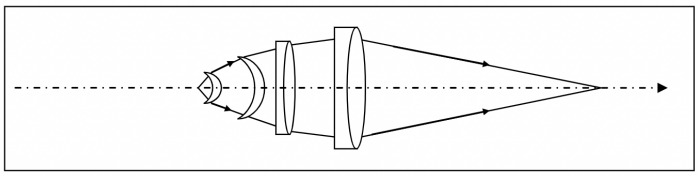


FIGURE 1 – Objectif de Lister-Amici. Composé de ménisques constitués chacun de deux dioptres sphériques en entrée qui permettent de diminuer les angles pour retourner le plus possible dans l'optique paraxiale suivi de doublets achromatiques [9] pour régler essentiellement les aberrations chromatiques (et un peu sphérique aussi cf wiki). Détails Composition Physique A 2015

II.2 Limite de diffraction

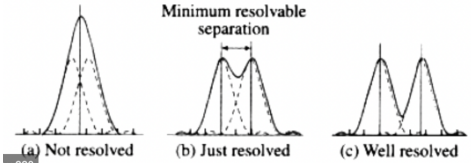
Comme on va le voir ici, il y a une limite de résolution impossible à franchir en optique "classique" (ce terme faisant ici référence à la microscopie *habituelle* [10], et pas à une opposition à la quantique, bien que l'optique y est très différente !).

7. Aberrations principales géométriques ; sphérique (liée à l'ouverture du faisceau et responsable de la perte de stigmatisme), coma (liée à la largeur du champet responsable de la perte d'aplanétisme) distorsion astigmatisme (extrait du corrigé composition physique A 2015)

10. Dont l'exemple type est le microscope à 2 lentilles, présenté dans la première partie de la leçon.

L'image d'un objet ponctuel par l'objectif [11] n'est pas un point mais un disque d'Airy centré sur son image géométrique et de demi-largeur angulaire $\delta\phi = 0,61\lambda/R$ où R est le rayon du diaphragme circulaire d'ouverture qu'on supposera situé au niveau de l'objectif. [12]

On rappelle alors qu'on résout deux points AB lorsqu'on peut distinguer leurs tâches de diffractions respectives. On utilise couramment le critère de Rayleigh défini dans un cours précédent : deux objets ponctuels sont tout juste résolus si le premier minimum de la tache de l'un correspond au maximum de l'autre. Faire schéma 3 cas. (image de sarthaks.com)



On peut déduire du critère de Rayleigh, et en supposant que le microscope est aplanétique [13], que la résolution minimum du microscope s'écrit [14]

$$AB_{min} = \frac{0,61\lambda_0}{n\sin(u_{max})} \tag{7}$$

- On peut donc diminuer λ. Néanmoins on souhaite rester dans le visible donc il y a une limite, et puis cela peut être dangereux pour l'échantillon.

- On peut augmenter l'indice optique du milieu dans lequel se trouve l'objectif (ex : huile). On parle d'objectif *à immersion*.

- On peut augmenter l'ouverture numérique, mais alors on accentue le fait qu'on sort de l'optique paraxiale (et j'imagine qu'il faut rajouter des lentilles pour revenir à des petits angles, donc galere niveau encombrement et achromatisme je crois). Par ailleurs, on retrouve ici que plus on augmente la taille du diaphragme (circulaire) d'ouverture, plus on augmente l'extension transversale du faisceau lumineux incident et donc des fréquences spatiales accessibles relatifs à nos angles d'incidence.

11. cf compo phys agreg 2015. Dans un microscope, le diaphragme responsable de la diffraction est le diaphragme d'ouverture du microscope, de rayon R,que l'on supposera dans les questions 36, 37, 38au niveau de la lentille de l'objectif.

12. Cette tâche d'Airy provient de la diffraction de Fraunhofer d'une ouverture circulaire, ici le diaphragme d'ouverture. Il y a là un point délicat mais important et que l'on peut montrer : la diffraction de Fraunhofer, que l'on présente dans le cas de la diffraction à l'infini, intervient aussi inévitablement dans la formation des images par des systèmes dioptriques cf montage a 2 lentilles équivalent a 1 lentille compo 2015

13. La condition d'aplanétisme étend la notion de stigmatisme au voisinage de l'axe dans des plans perpendiculaire à l'axe optique. Un objet étendu perpendiculaire à l'axe optique forme une image perpendiculaire à l'axe optique. L'aplanétisme peut s'exprimer mathématiquement par la condition des sinus d'Abbe. (voir wiki/ autres pours details)

14. Attention il faudra surement savoir redemontrer ça pour les questions et perso je trouve ça pas super clair en fait d'où mon choix de laisser ça aux questions. Pour faire les choses *plutot* bien il faut suivre la compo physique A 2015. Dire tout d'abord que le diaphragme responsable de la diffraction est le diaphragme d'ouverture du microscope, qu'on suppose alors situé au niveau de l'objectif. Il faut plus ou moins faire Q.35 et 36 (sujet + corrigé pour comprendre les calculs et avoir un dessin). On peut faire comme le sujet/corrigé l'indique, qui est le truc le plus propre, en gros remonter à r'_{min} puis trouver r_{min}. Sinon (mais ptetre pas ouf en fait) je propose en gros de faire un dessin cf Figure 14 objet A et image conjugué A' et les angles limites (attention on quitte nos notations de leçon), on a $tanu_3 = R/d'$ mtn. On prend un objet AB pour caractériser la résolution. On peut tracer son image rapide ? (est ce qu'on est dans les conditions de Gauss si Abbe est vérifié, qui est ici l'hypothese ? damn pas ouf ptetre du coup). En tout cas, on utilise la relation des sinus d'Abbe avec les angles limites u et u_3 : $nsinuAB = n'sinu_3A'B' \sim n'tanu_3A'B' = n'(R/d')A'B'$ (cf tan $\sim$ sin). Or $A'B' \sim d'\delta\phi$ à la limite de résolution avec $\delta\phi = 0,61\lambda/R$ et on conclut sur AB_min. On peut aussi démontrer ça rapidement à partir de la leçon de Monnet Microscopies mais en fait c'est poison je trouve. C'est pas clair, d'autant plus qu'en sortie du microscope l'image est renvoyée a l'infini et pas sur l'axe optique mais bon si on met l'oeil dedans, donc son L serait surement la focale de l'oeil et R bah là c'est pas clair pcq justement c'est pas le rayon de la pupille R de l'oeil qui doit rentrer en jeu mais plutot l'objectif du microscope... Bref je trouve que les choses sont mal définies, qu'on sait pas trop ce qu'on fait, d'ailleurs y'a une faute de frappe avec n au lieu de n' dans la relation des sinus d'Abbe.

ODG : On arrive à atteindre une résolution $AB_{min} \sim 0,2\mu m \rightarrow$ C'est suffisant pour observer des cellules ou bactéries mais insuffisant pour résoudre des virus et encore moins des molécules.

Transition : Dans tous les cas, en opt. "classique", on est limité par une valeur lim. de rés. $\sim \lambda$. Peut on néanmoins observer des détails sub-longueur d'onde avec des techniques optiques ? La réponse est oui, et il faut alors regarder dans les fondements de l'optique ondulatoire pour comprendre comment cela est réalisable.

III Microscopie à champ proche

Résumé rapide avant de faire les calculs ? Le champ diffracté par un objet va contenir des ondes propagatives et des ondes évanescentes (qui ne se propagent pas en champ lointain et n'*existent*, au sens d'une amplitude non négligeable, que dans une zone appelée *champ proche* située au voisinage de la surface de l'objet). Ces dernières vont en fait contenir les informations sur les détails plus petit que la longueur d'onde. Comme leur amplitude décroit exponentiellement avec la distance à l'objet, on mettra une sonde au plus proche de l'objet pour capter ces informations.

Ces calculs se basent, avec de légers changements néamoins, sur une des réf. [15].

On prend un objet situé en $z < 0$ sur lequel est envoyé un signal incident. On suppose connu le champ en $z = 0$ et on s'intéresse à la propagation du signal sur le demi-espace $z > 0$ (dans le sens des z croissants). On assimile l'air à un diélectrique LHI d'indice $n = 1$. Une composante scalaire du champ $\mathbf{E}$ que l'on notera E_α, satisfait l'équation de d'Alembert que l'on connait bien :

$$\Delta E_\alpha + \frac{1}{c^2}\partial_{t,t} E_\alpha = 0 \tag{8}$$

On cherche donc E_α sous la forme $E_\alpha(x, y, z, t) = E(x, y, z)e^{-i\omega t}$. E vérifie alors l'équation dite de Helmholtz :

$$\Delta E + \frac{\omega^2}{c^2} E = 0 \tag{9}$$

On introduit la décomposition de Fourier de E selon le plan (x, y) (ça correspond à ce qu'on appelle une TF j'imagine, même si on laisse la variable z tranquille) et notée $\tilde{E}$:

$$\tilde{E}(k_x, k_y, z) = \iint E(x, y, z)e^{-i(k_x x + k_y y)} dxdy \tag{10}$$

Il me semble qu'on doit sauter des étapes ici (quitte à avoir des questions) et aller directement à Eq.13 ou même à l'Eq.15 :

On peut inverser la relation précédente (TF inverse ?) :

$$E(x, y, z) = \frac{1}{(2\pi)^2} \iint \tilde{E}(k_x, k_y, z)e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y \tag{11}$$

On injecte ça dans l'équation de Helmholtz, et on obtient :

$$\iint \left\{ \frac{\partial^2 \tilde{E}(k_x, k_y, z)}{\partial^2 z} + \Big(\frac{\omega^2}{c^2} - k_x^2 - k_y^2\Big)\tilde{E}(k_x, k_y, z) \right\} e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y = 0 \tag{12}$$

Ce qui entraîne [16] :

15. En effet on s'inspire du calcul de la ref Un cours beaucoup plus complet p.30/31 mais je prends pas les mêmes notations et leur def de la decomposition de Fourier (TF ?) selon (x,y) est pas la même cf facteurs 2π...

16. Cf. theoreme maths je crois mais lequel ?

$$\frac{\partial^2 \tilde{E}(k_x,k_y,z)}{\partial^2 z} + \Big(\frac{\omega^2}{c^2} - k_x^2 - k_y^2\Big)\tilde{E}(k_x,k_y,z) = 0 \tag{13}$$

On a alors une équation du second ordre en z dont la solution générale s'écrit :

$$\tilde{E}(k_x,k_y,z) = A(k_x,k_y)e^{ik_z z} + B(k_x,k_y)e^{-ik_z z} \quad \text{tq} \quad k_z^2 = \frac{\omega^2}{c^2} - k_x^2 - k_y^2 \tag{14}$$

On s'intéresse au champ qui se propage selon les z croissants donc $B = 0$ et $A(k_x,k_y) = \tilde{E}(k_x,k_x,0)$.

Finalement, on peut réécrire, pour $z > 0$ le champ E :

$$E(x,y,z) = \frac{1}{(2\pi)^2}\iint \tilde{E}(k_x,k_y,0)e^{i\mathbf{k}.\mathbf{r}}dk_x dk_y \tag{15}$$

Le champ en tout point du demi-espace $z > 0$ est donc une superposition d'ondes planes [17] qui obéissent à la relation de dispersion suivante :

$$k_z^2 = \frac{\omega^2}{c^2} - k_x^2 - k_y^2 = \Big(\frac{2\pi}{\lambda}\Big)^2 - k_x^2 - k_y^2 \tag{16}$$

Les intégrations portent sur toutes les fréquences spatiales (en toute rigueur les fréquences spatiales sont $(k_x/2\pi, k_y/2\pi)$) k_x et k_y de $-\infty$ à $+\infty$, où $\tilde{E}(k_x,k_y,0)$ est a priori non nul.

On peut remarquer que le champ comporte deux types de contribution :

- Pour $k_x^2 + k_y^2 < (\frac{2\pi}{\lambda})^2$ on a k_z réel : on a donc affaire à des ondes planes qui se propagent, sans atténuation. Ces onde propagatives sont détectables en champ lointain.

- Pour $k_x^2 + k_y^2 > (\frac{2\pi}{\lambda})^2$, on a k_z imaginaire pur : on a donc affaire à des ondes qui sont exponentiellement atténuées selon z. Ces ondes, que vous reconnaissez peut être, sont appelées ondes évanescentes. Elles n'existent, de par la décroissance exponentielle de leur amplitude, qu'au voisinage de l'endroit d'où elles émergent, dans une zone appelé *champ proche* de distance typique $d \sim 1/|k_z|$. Elles ne sont pas détectables en champ lointain.

Maintenant, il est temps de faire le lien avec notre objet. Le calcul du champ diffracté par un objet, qui présente notamment des rugosités, est un problème difficile, l'idée ici était de se mettre juste au-dessus et d'étudier la propagation des ondes diffractés par cet objet.

On admettra alors ici que :

- Pour un objet de dimension L suivant l'axe x, celui-ci diffracte la lumière qu'il reçoit dans un spectre de fréquences spatiales k_x s'étalant entre 0 et $1/L$.

- $\tilde{E}(k_x,k_y,0)$ contient les informations relatives aux fréquences spatiales de l'objet.

Ainsi, et c'est l'idée cruciale de la microscopie en champ proche : l'information sur des détails de l'objet de taille δx (associée à une fréquence spatiale $k_x = 2\pi/(\delta x)$) inférieure à λ est contenue dans les ondes évanescentes (cf Eq.16).

On remarquera également avec l'Eq.16 que les ondes qui se propagent sans atténuation (i.e. qui vérifient k_z réel), et qui sont les seules ondes diffractés par l'objet que l'on détecte en *champ lointain* (et donc les seules que l'on détecte en microscopie "classique"), ne contiennent des informations que sur des détails de l'objet au mieux de l'ordre de la longueur d'onde. On retrouve donc l'ordre de grandeur de notre limite de résolution "classique" définie auparavant !

17. On peut parler, cf littérature, de spectre d'onde planes

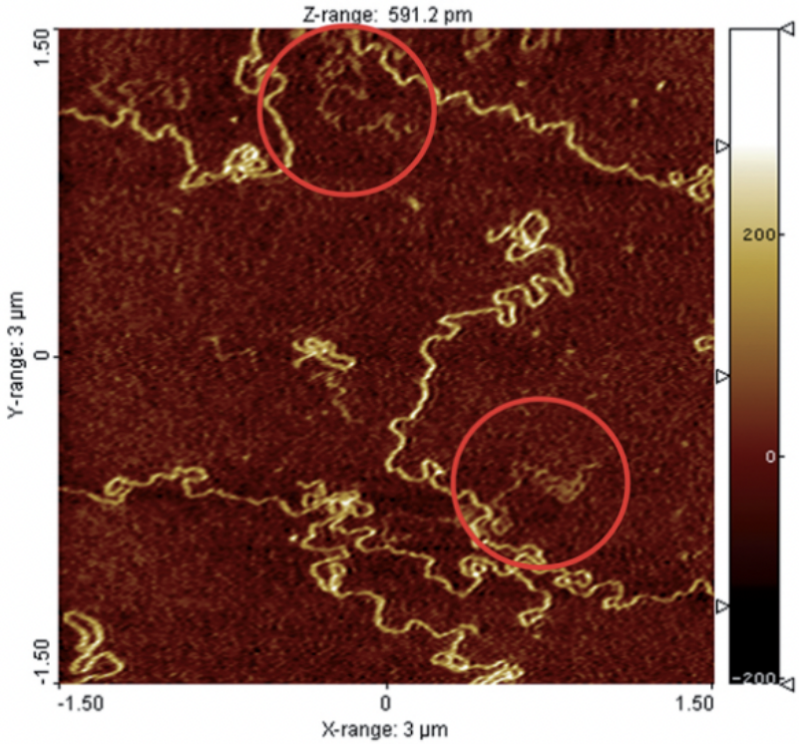
Il pourra être intéressant de dire que la propagation du champ selon $z > 0$ agit comme un filtre passe-bas vis à vis des fréquences spatiales contenues dans le champ.

→ La microscopie en champ proche repose alors sur une idée simple : placer une sonde le plus proche de la surface de l'objet pour récupérer l'information sur des détails sub-longueur d'onde. On peut alors montrer avec les équations ci-haut, que plus on veut distinguer des détails petits, plus la distance $d \sim 1/|k_z|$ sur laquelle se trouve l'information est petite, et donc plus on doit s'approcher de la surface. On voit ainsi que la *résolution* [18] de ce dispositif dépend de la distance sonde-objet.

→ La résolution semble alors théoriquement infinie car il suffit de regarder toujours plus près de la surface pour avoir des détails infiniment petits. En pratique, on est limité par notre capacité à gérer cette distance sonde-objet [19] (et aussi par la taille typique d de la sonde qui doit être de l'ordre de la taille minimum qu'on veut observer voir préface ici p.22 , mais pas super clair cette histoire je trouve)

Il y a en fait beaucoup de configurations possibles de microscopie à champ proche. Je n'entre pas dans les détails mais on peut voir les refs. [20]. Ici on peut quand même faire un schéma : onde incidente sur objet (en transmission/reflexion) et flèches ondes evanescentes et sonde optique.

→ Expérimentalement, on atteint une résolution de l'ordre de $\sim$ 10 nm. Finir sur une image de brins d'ADN de chercheurs de l'EPFL obtenue en champ proche.



18. La résolution est en fait théoriquement compliquée à définir en microscopie en champ proche, car elle va être relié à la sonde etc ...

19. Si on est chaud sur les piézo, dire que le contrôle de la position nécessite (tjrs ou pas ?) l'utilisation de céramiques piézo-électriques.

20. A noter qu'en mode collection, la sonde doit permettre, de ce que j'ai compris, de transformer les ondes évanescentes en ondes propagatives. On peut alors utiliser une fibre optique de la sonde au détecteur qui a l'avantage de ne pas atténuer l'onde (être chaud pour les questions sur la fibre alors, sinon ne pas en parler)

Conclusion

On peut revenir sur le microscope classique à 2 lentilles en rappelant le compromis entre accepter les grands angles et les problèmes d'aberrations.

On peut également parler du fait que beaucoup d'objets en biologie sont transparents et que la microscopie classique à 2 lentilles en transmission ne permet donc pas d'observer de différences d'absorption qui permettent normalement de voir les détails de l'image. Néanmoins ces objets déphasent la lumière et on peut donc ouvrir sur la strioscopie ou plus particulierement le microscope à contraste de phase (mais etre chauds sur ça alors blabla ..).

Ouverture : La microscopie en champ proche utilise la notion d'ondes évanescentes, qui (pour certaines configurations) sont captés par une sonde qui va diffuser le signal. On peut donc voir ça comme l'analogue optique de l'effet tunnel quantique utilisé dans la microscope à effet tunnel avec des électrons (bien dire ici que ce n'est donc pas une microscopie optique !) pour étudier des surfaces conductrices [21]. Sa résolution [22] est encore meilleure que le champ proche : elle est de l'ordre de la taille d'un atome $\sim 0,1nm$.

Histoire : Année 1980 Microscope à effet tunel prévu de longue date par la méca quantique [23]

Principe du microscope à affet tunnel à courant constant : courant maintenu constant lors du balayage par le biais d'un asservissement piézo-électrique qui commande le déplacement de la sonde et qui permet de reconstituer le profil de la surface analysée.

Remarques

Rmq 1 : On comprend que pour éviter des problèmes d'encombrement, il est astucieux de donner à la sonde une forme de pointe.

Rmq 2 : De manière remarquable, on pourra également dire ou retenir, sans le démontrer en tout cas car pas le temps, que pour des détails suffisamment petits par rapport à la longueur d'onde λ, cette technique de résolution ne dépend théoriquement idéalement [24] pas de λ .

Démo : Soit d la distance caractéristique caractérisant l'onde évanescente et relative à des détails $(\delta x, \delta y)$

$$d = \frac{2\pi}{|k_z|} = \frac{2\pi}{\sqrt{k_x^2 + k_y^2 - (\frac{2\pi}{\lambda})^2}} \sim \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{\delta_x^2} + \frac{1}{\delta_y^2}}} \text{ lorsque } \delta_x^2 + \delta_y^2 \ll \lambda^2 \tag{17}$$

Rmq 3 : Il est peut être intéressant de mentionner le principe d'incertitude d'Heisenberg pour la lumière pour expliquer qualitativement brièvement beaucoup de choses de la leçon (voir Aigouy) :

$$\Delta x \Delta k_x \geq 2\pi \tag{18}$$

Pour avoir Δx aussi petit que possible, on souhaite Δk_x aussi grand que possible mais on va donc avoir affaire à des ondes évanescentes qu'il faudra capter proche de la surface.

21. On pourra regarder la fin de la compo de physique 2015 qui traite de ce sujet
22. Ca vaut pour tout type de techniques de résolution d'objets mais faire attention avec ces histoires de résolution en fait, qui peuvent être relatives à différentes directions. On parle par exemple de résolutions transversales/longitudinales dans la fin de la composition de physique 2015 sur le microscope à effet tunnel
23. Particule dénergie E a une proba non nulle de franchir barrière de potentiel Ep >E
24. Où on ne prend pas en compte les histoires associées aux processus de détection, les interactions possibles sonde-objet, etc ...

Rmq 4 : Comme déjà mentionné, on a beaucoup de configurations possibles pour la microscopie à champ proche [25]. On fera attention si on choisit de présenter le STOM (Scanning Tunneling Optical Microscop) (aussi appelé PTSM), qui peut être le cas d'anciennes leçons : je trouve, mais j'ai peut etre rien compris, qu'on s'embrouille vis à vis de la leçon en parlant d'éclairage en réflexion totale interne. Car les étudiants mélangeraient sûrement le concept de l'onde évanescente dûe à la réflexion totale avec les ondes évanescentes diffractés par l'objet dont on a parlé, qui ne nécessitent pas forcément un éclairage avec des ondes évanescentes pour exister ! Néanmoins savoir, de ce que j'ai compris, que cela permet en fait d'éliminer naturellement le signal de champ lointain qui traverse l'échantillon et rejoint le détecteur, beaucoup plus intense que le signal d'intérêt sur l'objet diffusé (diffracté ?) par la sonde (cf p.122 Aigouy). De manière remarquable pour cette configuration (et peut etre d'autres configurations ?), l'intensité du détecteur est alors exponentiellement décroissante avec la distance à l'objet comme le microscope a effet tunnel avec des électrons.

IV Connaitre d'autres types de microscopies

+ Connaitre éclairage, dit "illumination de Köhler" (voir wiki)

Savoir expliquer brièvement le principe des différentes microscopies ci-dessous.

Microscopie en fond noir

Microscopie à contraste de phase

Ce type de microscope permet d'observer des echantillons transparents comme des cellules sans devoir les colorer. Un anneau de phase modifie le faisceau lumineux. Quand un échantillon est inséré il diffuse une partie de la lumière également refocalisé par l'objectif. suite ?

Microscopie fluorescence

Microscopie force atomique

Microscopie confocale

Microscopie électronique (p.163 Houard) :

On abaisse la résolution du microscope en abaissant la longueur d'onde des particules mises en jeu en remplaçant le flux de photons par un flux d'electrons fortement accélérés sous une tension U $\sim$ 100 kV qui acquièrent une qté de mvmt P. On a $\lambda = h/P$ et on atteint des longueurs d'onde 10^5 fois plus court que la long. d'onde moyenne des photon du domaine visible. (ne pas conclure trop vite qu'on améliore de 10^5 la résolution car pas le même système quand meme ...).

Détails : Faisceau d'électrons focalisé par un système de lentilles magnétiques ou électrostat équivalent à celui d'un microscope optique. Image obtenue repose sur la diffusion des électrons acceleres par l'échantillon de matière. échelle moléculaire. Années 1930 1er Micro Elect

MEB (micro elec à balayage) : image pas obtenue globalement mais séquentiellement. Résolution à l'échelle moléculaire (et grossissement max de 5.10^5). Focalisation flux d'electrons exige fctnnmt sous vide donc complique la préparation.

Autres Remarques

2 types d'objets (video) ici)

- Absorbants ou d'amplitude observé au microscope ordinaire. Ce sont les différences d'absorption qui permettent de voir les détails de l'image.

25. Transmission, reflexion ; sonde en mode collection et/ou illumination ou perturbation

- Transparents ou déphasants. Eau et glycérine. Exemple variation d'indice de refraction. Biologie. On peut utiliser le fond noir cf anneau de cette maniere le signal diffracté par l'objet n'est pas noyé dans la lumière d'éclairage.