

LP32 MICROSCOPIES OPTIQUES

26 juin 2020

MONNET Benjamin &

Niveau : L2

Commentaires du jury

Bibliographie

- ✦ *Optique géométrique*, **Bécherawy** → Chapitre 10
- ✦ *Optique géométrique*, **Maurel** → résumé très succinct
- ✦ *Optique*, **Houard** → Microscope et oeil
- ✦ *Les nouvelles microscopies*, **Aigouy** → Microscopie à champ proche
- ✦ <https://publiweb.femto-st.fr/tntnet/entries/9911/documents/author/data> → Microscopie à champ proche
- ✦ <https://toutestquantique.fr/microscopes/> → plein de techniques de microscopies détaillées!
- ✦ <https://trigenotoul.com/wp-content/uploads/2014/09/Confocal-cours.pdf> → Microscope confocal
- ✦ <https://www.youtube.com/watch?v=q7Q8l3xKyr4> → video effet tunnel

Prérequis

- Optique géométrique
- Diffraction

Expériences



Table des matières

1	Le microscope à deux lentilles	2
1.1	Description	2
1.2	Caractéristiques	3
1.3	Limites du microscope à deux lentilles	4
2	La microscopie en champ proche	5
2.1	Rappel sur les ondes évanescentes	6
2.2	Application : Scanning Tunneling Optical Microscope	8
3	Microscopie à fluorescence ou microscopie à champ lointain	9
3.1	Microscopie à fluorescence	9
3.2	Microscope confocal	10
3.3	Technologie PALM	12
3.4	STED	12

Introduction

Il y a un outil d'optique que l'on utilise tous les jours en permanence... il s'agit de l'œil. La modélisation complète d'un œil est complexe mais on peut la replacer par un modèle simple, qui explique bien son fonctionnement :

Le cristallin est modélisé par une lentille convergente et la rétine par un écran sur lequel l'image est observée. La distance cristallin-rétine est de 17mm. Un œil emmétrope (sans défaut) conjugue l'objet directement sur la rétine (avec la loi de Descartes $\frac{1}{f'} = \frac{1}{OA'} - \frac{1}{OA}$). La distance OA' étant fixée par la taille de l'œil, la distance f' s'adapte. C'est ce qu'on appelle l'**accommodation** : les muscles ciliaires écrasent plus ou moins le cristallin, ce qui modifie sa courbure et donc sa focale. Un œil emmétrope est décrit par deux caractéristiques : la distance minimale et maximale auxquelles il voit net :

- La distance minimale net est appelé punctum proximum (PP) et vaut 25 cm pour un œil sain
- La distance maximale net est appelée punctum remotum (PR) est vaut ∞ pour un œil sain

Les personnes myopes convergent trop les rayons : il faut donc rajouter une lentille divergente. Pour les personnes hypermétropes, c'est l'inverse. La presbytie correspond elle à la fatigue des muscles ciliaires qui n'arrivent plus à modifier la focale comme il le faudrait.

On sait aussi que la pupille se dilate plus ou moins selon la luminosité ambiante : c'est tout simplement pour adapter la luminosité reçue : plus c'est dilaté, plus la lumière passe.

Finalement, une dernière caractéristique pour décrire l'œil est la **limite de résolution de l'œil**. Cela correspond à la taille minimale des détails observables par l'œil. Bien évidemment, cette taille dépend de la distance de l'objet : on définit donc la limite de résolution de l'œil par un angle. Ce dernier vaut $2.9 \cdot 10^{-4} \text{ rad}$. Cela signifie qu'on peut voir des détails de 1 mm sur un objet placé à 3 mètres.



Montrer sur Geogebra

L'œil humain est donc limité dans sa capacité d'observation : c'est pour cela que des outils ont été mis en place. On va s'intéresser à deux types de microscopes dans cette leçon : le microscope à deux lentilles et le microscope à champ proche.

1 Le microscope à deux lentilles

1.1 Description



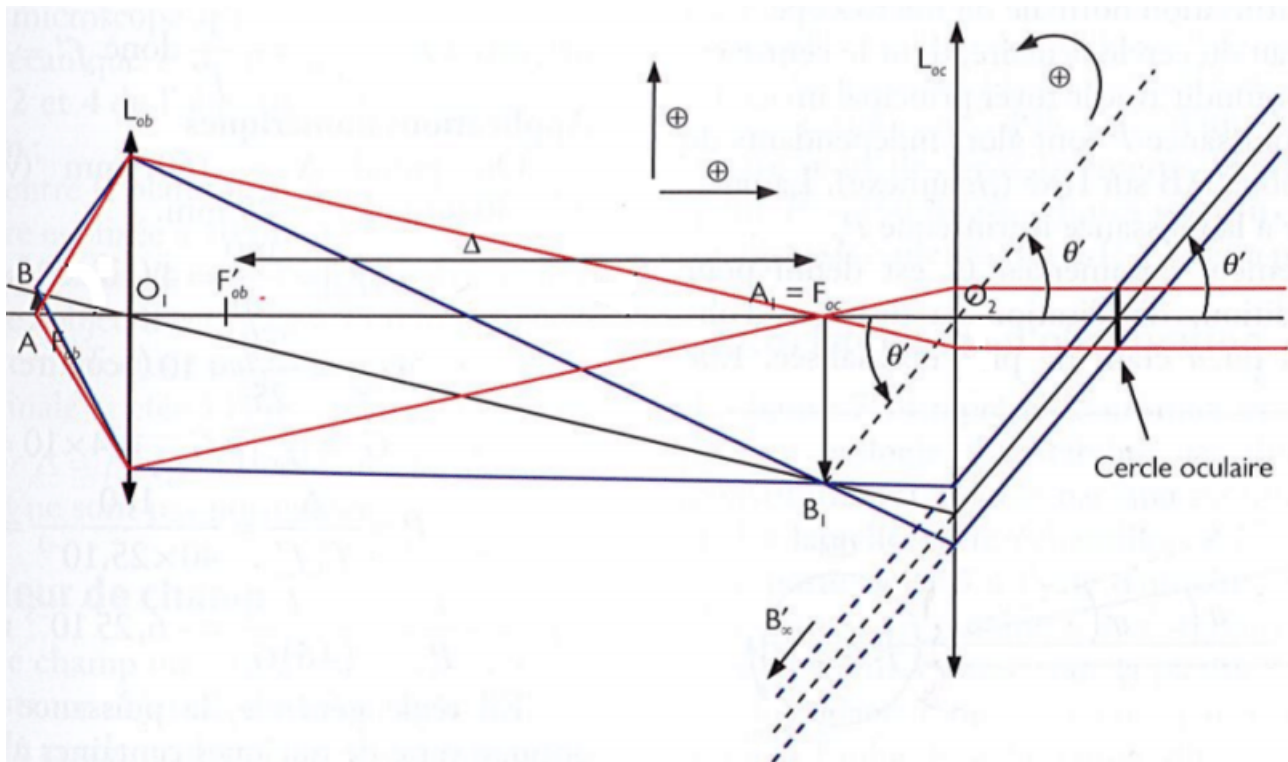
Faire en direct sur Geogebra

Un microscope est constitué de deux lentilles. La première est appelée **objectif** et son but est de créer une image intermédiaire A_1B_1 agrandie de l'objet AB. Cette image intermédiaire est ensuite observée à l'aide de l'**oculaire**. Son but est d'obtenir une image virtuelle A'B' agrandie de A_1B_1 . Afin de permettre à l'observateur d'utiliser le microscope sans se fatiguer, **il faut que l'image A_1B_1 soit dans le plan focale image de la deuxième lentille**. Ainsi, l'image se situe à l'infini et l'œil n'a pas besoin d'accommoder : l'image est au PR.

ODG :

- La focale de l'objectif est en général courte (entre 2 et 45 mm) afin de limiter l'encombrement. Cela oblige à placer l'objet très proche de l'objectif : en effet, pour avoir l'image intermédiaire la plus grande possible, il faut que l'objet soit le plus proche possible du plan focal objet (cf relation de Descartes)
- La focale de l'oculaire se situe entre 12.5 et 50 mm en générale

Une fois le microscope réglé, il faut savoir où placer l'œil afin d'observer l'image. Cette endroit s'appelle le **cercle oculaire**. Il faut trouver l'endroit récolant tous les rayons envoyés par l'objet :



ODG : cercle oculaire de l'ordre de 0.1 mm qui est très petit devant la taille de l'iris donc on a bien toute la lumière!

↓ Maintenant que l'on a décrit un microscope à deux lentilles, comment peut-on le caractériser ?

1.2 Caractéristiques

Pour étudier le microscope, on se place dans l'approximation de Gauss afin de pouvoir utiliser l'optique géométrique.

On définit la **puissance** d'un microscope par :

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

Toutes les grandeurs sont positives ici. On peut ré-exprimer la puissance avec des paramètres de notre microscope :

$$P = \frac{\theta'}{A_1B_1} \frac{A_1B_1}{AB} = P_{oc} \gamma_{ob}$$

Or, on a :

$$\theta' = \frac{A_1B_1}{F_2O_2} \Leftrightarrow P_{oc} = \frac{1}{f'_2}$$

De même, on peut réécrire γ_{ob} :

$$\gamma_{ob} = \frac{F'_1A_1}{O_1F'_1} = \frac{\Delta}{f'_1}$$

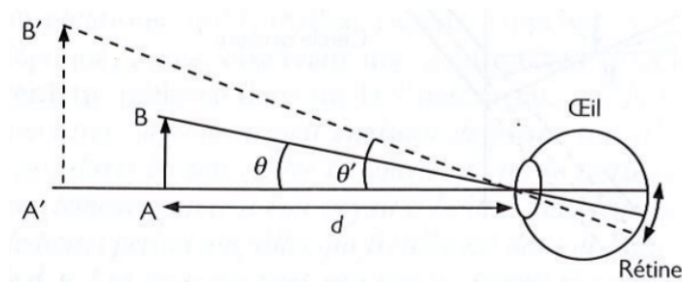
où Δ est l'**intervalle optique** : la distance entre F'_1 et F_2 . Donc finalement, la puissance du microscope s'exprime en fonction de ses caractéristiques :

$$P = \frac{\Delta}{f'_1 f'_2}$$

ODG : En général, $\Delta = 160$ mm et la puissance varie entre 160δ et 4000δ .

Néanmoins, le but premier du microscope est de grossir l'objet donc on peut légitimement se demander si cet objectif est atteint. On définit donc le **grossissement** :

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



On peut facilement l'exprimer en fonction du pouvoir défini plus tôt :

$$G = \frac{\theta'}{\frac{AB}{d}} = Pd$$



Mesure de puissance et de grandissement

▢ Sextant



On utilise un objectif de focale 10 cm et un oculaire de focale 20 cm. On éclaire une lettre T à l'aide d'une QI. On peut montrer qu'on forme bien l'image intermédiaire. En sortie, sur le mur, on voit la lettre T. On modélise l'œil avec une lentille de focale 30 cm et on place un écran dans son plan focal image.

En mesurant la taille de l'image intermédiaire, on trouve γ_{ob} et donc ensuite la puissance et le grandissement avec les longueurs du montage.

Prendre des achromats et le mentionner.

Comparons le microscope de paillasse que l'on a construit avec un microscope commercial (le poser sur la paillasse). Dans le commerce, c'est le **grossissement commercial** qui est utilisé. Il s'agit du grossissement lorsque la distance oeil/objet correspond au PP : autrement dit lorsque $d = 25$ cm. On a donc :

$$G_c = \frac{P}{4}$$

Le grossissement commerciale de notre microscope de paillasse vaut... On voit que c'est faible par rapport au grossissement commerciale.



Le microscope à deux lentilles a aussi des limites qu'il est important de souligner.

1.3 Limites du microscope à deux lentilles

Une première limitation du microscope correspond à la **profondeur de champ** ou **latitude de mise au point**. Il s'agit de la distance objet-objectif pour laquelle l'œil, situé au niveau du cercle oculaire, obtiendra une image nette de l'objet. Autrement dit, c'est quand l'objet se retrouve au PP ou au PR. Le calcul (cf Annexe 2), donne :

$$l = \frac{4}{G_c^2}$$

On voit donc ici qu'il faut concilier deux choses : la profondeur de champ et le grandissement. Plus le grandissement sera élevé, plus il sera complexe de régler le microscope.

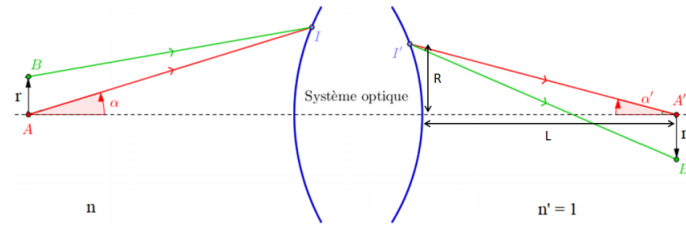
ODG :

- $G_c = 40 \Rightarrow l = 0.16$ mm
- $G_c = 1000 \Rightarrow l = 0.25 \mu m$

Un autre limite du microscope est lié à la diffraction par les lentilles : on appelle cela le **pouvoir de résolution**. On rappelle que la diffraction par un orifine donne une tâche d'Airy donc le rayon vaut :

$$r = \frac{1.22\lambda L}{2R}$$

Avec L la distance entre l'écran et la sortie du système optique/



La limite de résolution vient du critère de Rayleigh : deux pics sont séparables sur l'écran si la distance entre leur maxima est plus grande que le rayon de la tâche d'Airy (Geogebra).

Afin de déterminer quelle est la distance minimale observable, on fait l'hypothèse que le microscope est aplanétique orthogonalement à l'axe optique. On a alors la condition d'Abbe :

$$nr \sin \alpha = nr' \sin \alpha' \Leftrightarrow r = \frac{0.22\lambda LR}{2LRn \sin \alpha}$$

Donc la limite de résolution vaut finalement :

$$r = \frac{0.61\lambda}{ON}$$

Enfin, il faut bien avoir conscience que l'utilisation de lentilles apportent des problèmes d'aberrations :

- chromatiques, qui peuvent être réglées en utilisant des lentilles achromatiques
- géométriques, qui limite les angles permis et donc la luminosité !

La limite de résolution empêche fondamentalement de distinguer des objets dont la taille est inférieure au micron. Il a donc fallu développer de nouvelles techniques d'observation. Nous allons en particulier parler de la microscopie en champ proche.

2 La microscopie en champ proche

↗ lien url

2.1 Rappel sur les ondes évanescentes

Pour comprendre l'importance des ondes évanescentes dans la recherche des détails de notre objet, repartons de l'optique ondulatoire et considérons une onde électromagnétique incidente monochromatique propagative selon l'axe z de la forme :

$$E_{inc}(x, y, z, t) = E_{inc}(x, y, z) \exp(-i\omega t), \quad (13)$$

où ω est la pulsation caractéristique de l'onde. Lorsque l'onde rencontre l'objet qui nous intéresse, l'onde est modifiée par le coefficient de transmission de l'objet situé en $z = 0$ tel que :

$$E_0(x, y) = E_{inc}(x, y, z = 0) \tau(x, y). \quad (14)$$

Le facteur $\tau(x, y)$ est propre à chaque objet étudié et permet de remonter à ses caractéristiques. Il nous faut maintenant pouvoir capter l'onde $E_0(x, y)$ pour l'analyser et remonter aux détails de l'objet. Pour cela, on peut décomposer notre onde selon le principe de Huygens-Fresnel, ou selon une décomposition en transformée de Fourier comme ceci :

$$E_0(x, y) = \int \int_{-\infty}^{\infty} F_0(k_x, k_y) \exp[i(k_x x + k_y y)] dk_x dk_y. \quad (15)$$

Ici, le champ peut s'exprimer comme une somme d'ondes planes d'amplitude $F_0(k_x, k_y)$ qui ne dépendent que des fréquences spatiales k_x et k_y . Lorsque l'onde se propage dans l'espace toujours selon la direction z , on a finalement :

$$E_0(x, y, z) = \int \int_{-\infty}^{\infty} F_0(k_x, k_y) \exp[i(k_x x + k_y y + k_z z)] dk_x dk_y. \quad (16)$$

La propagation dans l'espace est représentée par le dernier terme de l'exponentiel en $k_z z$. D'après l'équation de Helmholtz, si on se place dans l'air ($n = 1$), on sait que :

$$k_z = \sqrt{\left(\frac{\omega}{c}\right)^2 - k_x^2 - k_y^2}. \quad (17)$$

La propagation de l'onde via k_z après avoir été transmise par l'objet est donc directement reliée aux fréquences spatiales k_x et k_y de l'objet. On peut alors distinguer deux cas.

- Si $\frac{\omega}{c} \gg k_x, k_y$: k_z est réelle et l'onde se propage via un déphasage $\exp(ik_z z)$. L'onde est alors soumise à la limite de résolution de Rayleigh comme vu dans la première partie.
- Si $\frac{\omega}{c} < k_x, k_y$: k_z est imaginaire pur et l'onde est atténuée. On parle alors d'**onde évanescente**, comme d'une **onde stationnaire dont l'amplitude décroît dans l'espace**. Cette décroissance est exponentielle et se fait sur une longueur caractéristique :

$$L \sim \frac{1}{k_z}. \quad (18)$$

Cette décroissance est d'autant plus forte que k_x, k_y sont importants : les ondes évanescentes sont alors situées à une distance très faible de l'objet (typiquement la centaine de nanomètres). Cette zone pour laquelle les ondes évanescentes ne sont pas négligeables est appelée **champ proche**. Essayons de les mettre en évidence.

Mise en évidence des ondes évanescentes à l'interface plexiglas-air

On considère un demi-hémisphère en plexiglas dans lequel on envoie un laser vert $\lambda = 532\text{nm}$. On se place en réflexion totale à la sortie de l'interface plexiglas-air tel que l'angle de réflexion totale soit $\theta_c = \arcsin(\frac{n_2}{n_1})$, où n_2 et l'indice de l'air et n_1 celui du plexiglas. On peut alors montrer par le calcul que des ondes évanescentes sont présentes à la sortie de l'interface plexiglas-air. Les ondes évanescentes ne se propagent pas, mais on peut quand même les observer si on rapproche suffisamment près un demi-hémisphère en plexiglas de l'interface plexiglas-air. A ce moment-là, les ondes évanescentes se propagent dans le deuxième hémisphère de plexiglas par effet tunnel optique, analogue à l'effet tunnel quantique. On peut donc avoir une propagation des ondes évanescentes dans un milieu !

ATTENTION On s'intéresse dans cette leçon aux microscopies OPTIQUES : il faut donc dans cette expérience utiliser une lumière de longueur d'onde VISIBLE pour qu'elle soit pertinente (la mise en évidence d'ondes évanescentes centimétriques est certes plus simple car la décroissance exponentielle est moins violente, mais elle est complètement hors-sujet).

Il est essentiel de se rappeler le principe d'incertitudes d'Heisenberg :

$$\Delta x \Delta k_x \geq 2\pi$$

Les détails fins donnent donc de grands vecteurs d'onde et donc des ondes évanescentes ! En captant les ondes évanescentes, on va donc pouvoir capter les détails de l'objet que l'on étudie !

↓ On utilise pour cela un type de microscopie appelé STOM.

2.2 Application : Scanning Tunneling Optical Microscope

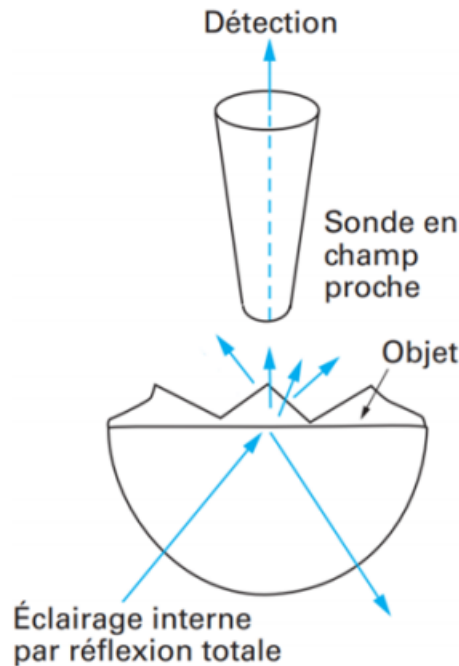


FIGURE 9 – Principe du STOM. Les ondes diffractées par l'objet sont captées par la sonde en champ proche.

Reprenons notre expérience en échangeant le deuxième hémisphère de plexiglas par l'objet à étudier, fixé sur le premier hémisphère de plexiglas. On sait que par effet tunnel optique, les ondes incidentes se propagent à l'intérieur de notre objet qui a remplacé le deuxième hémisphère de plexiglas. En sortie de l'objet, les ondes propagatives sont alors modifiées par le coefficient de transmission de l'objet comme expliqué dans la sous-partie précédente. Il est alors possible d'accéder aux détails de l'objet en récupérant les ondes évanescentes à la sortie de l'objet. Pour cela, il faut placer une sonde en champ proche, qui capte ces ondes évanescentes et les transmet jusqu'au détecteur situé en champ lointain. On utilise souvent une fibre optique de la sonde au détecteur qui a l'avantage de ne pas atténuer l'onde incidente dans la fibre, même si c'est une onde évanescente.

Mais quelle est la limite de résolution d'un tel microscope ? Considérons un détail de taille δ . Le vecteur d'onde de l'onde évanescente vaut :

$$k_z = \frac{2\pi}{\delta}$$

Donc la sonde doit être placée à une distance :

$$L = \frac{1}{k_z} = \frac{\delta}{2\pi}$$

pour capter l'onde. Deux choses remarquables :

- La limite de résolution du STOM est indépendante de la longueur d'onde
- Tant qu'on peut se rapprocher de l'objet, on a une précision infinie !!

En pratique, la limite de résolution est de l'ordre de la dizaine de nanomètre.

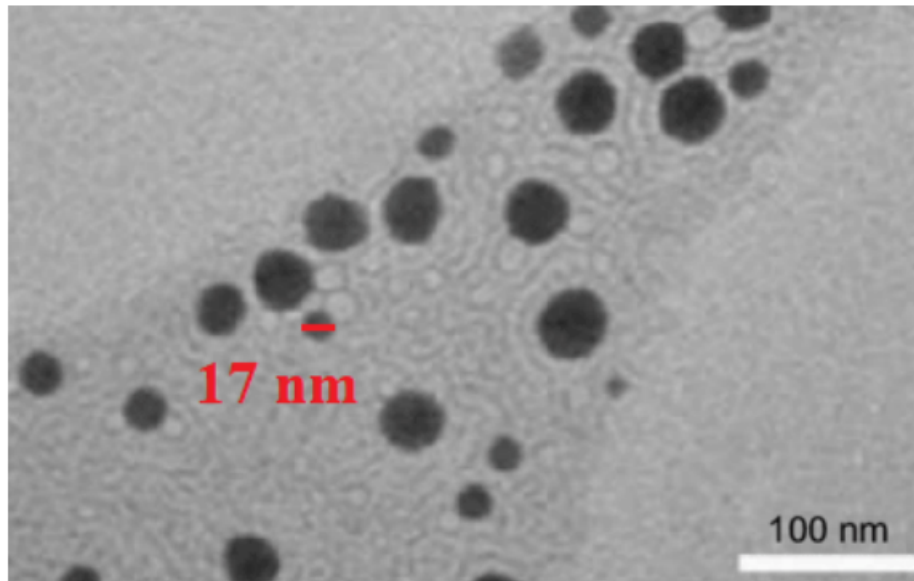


FIGURE 10 – Photo de micelles observées avec un STOM. On est ici précis à la dizaine de nanomètres, comme montré avec la micelle surligné en rouge.

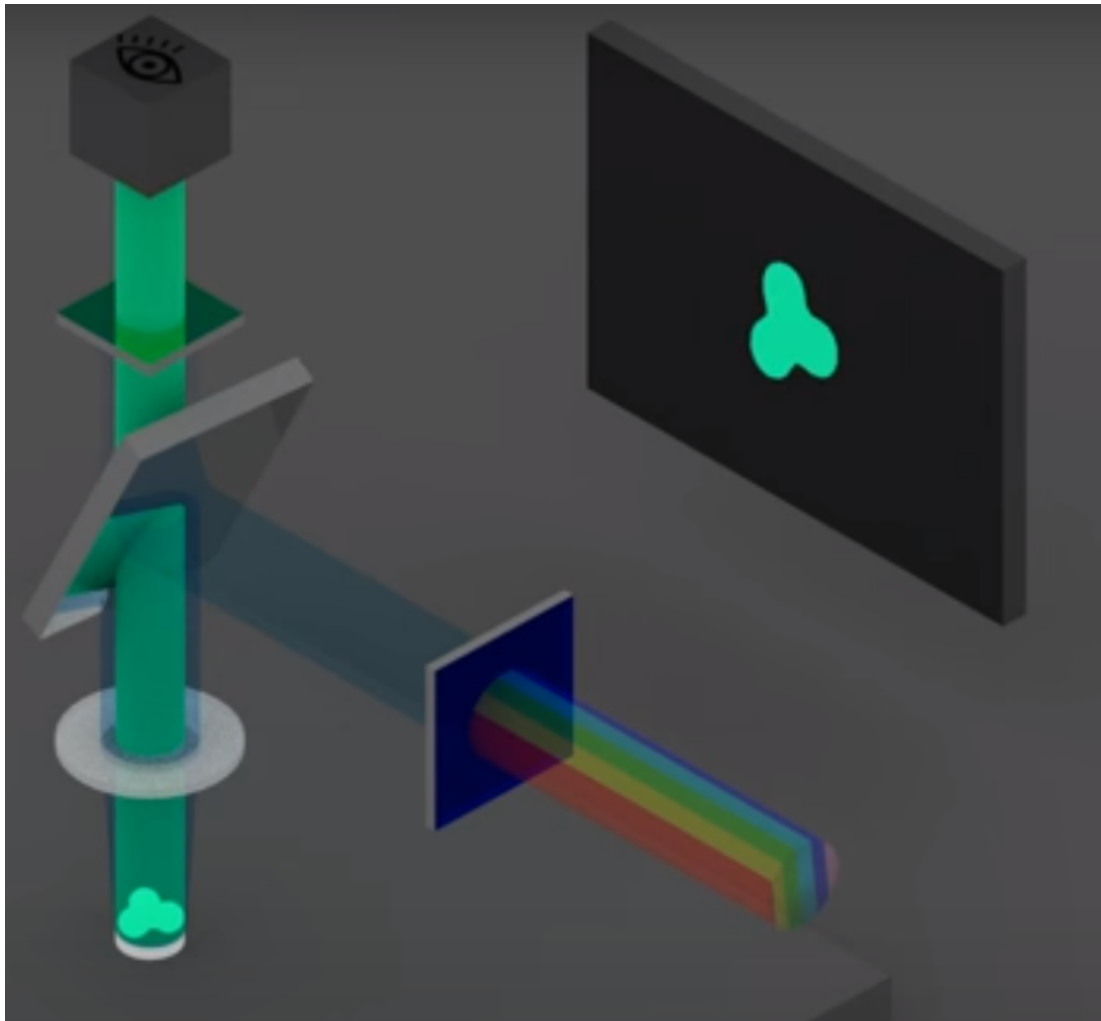
Cet exemple est très intéressant car il est extrait d'un article de biologie. Si la microscopie n'avait pas fait autant d'avancées ces dernières décennies, l'étude de cellules en biologie aurait été impossible (d'ailleurs, on utilise plutôt en biologie la technique de microscopie confocale couplée à de la fluorescence car elle nous permet d'avoir une vue 3D de nos échantillons. **C'est l'autre technique de microscopie optique qui peut être choisie dans cette deuxième partie**, au choix avec celle de microscopie en champ proche présentée ici). On peut donc dire que la microscopie est une problématique commune à toutes les sciences, et que son utilisation requiert une attention particulière en fonction des attentes de l'expérience.

3 Microscopie à fluorescence ou microscopie à champ lointain

3.1 Microscopie à fluorescence

<http://toutestquantique.fr/fluorescent-et-confocal/> pour cette sous partie et la suivante
Le principe est le suivant :

- On ajoute dans l'échantillon des fluorochromes, des molécules capables d'absorber de la lumière à une certaine longueur d'onde λ_1 pour la réémettre à une autre longueur d'onde λ_2
- On envoie de la lumière à λ_1 et on regarde ce qui est émis à λ_2



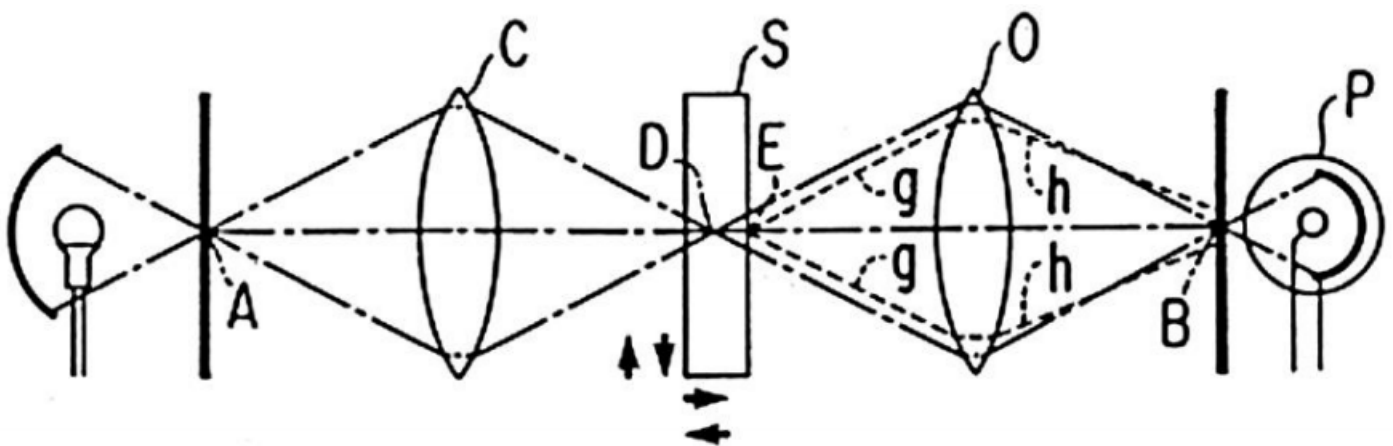
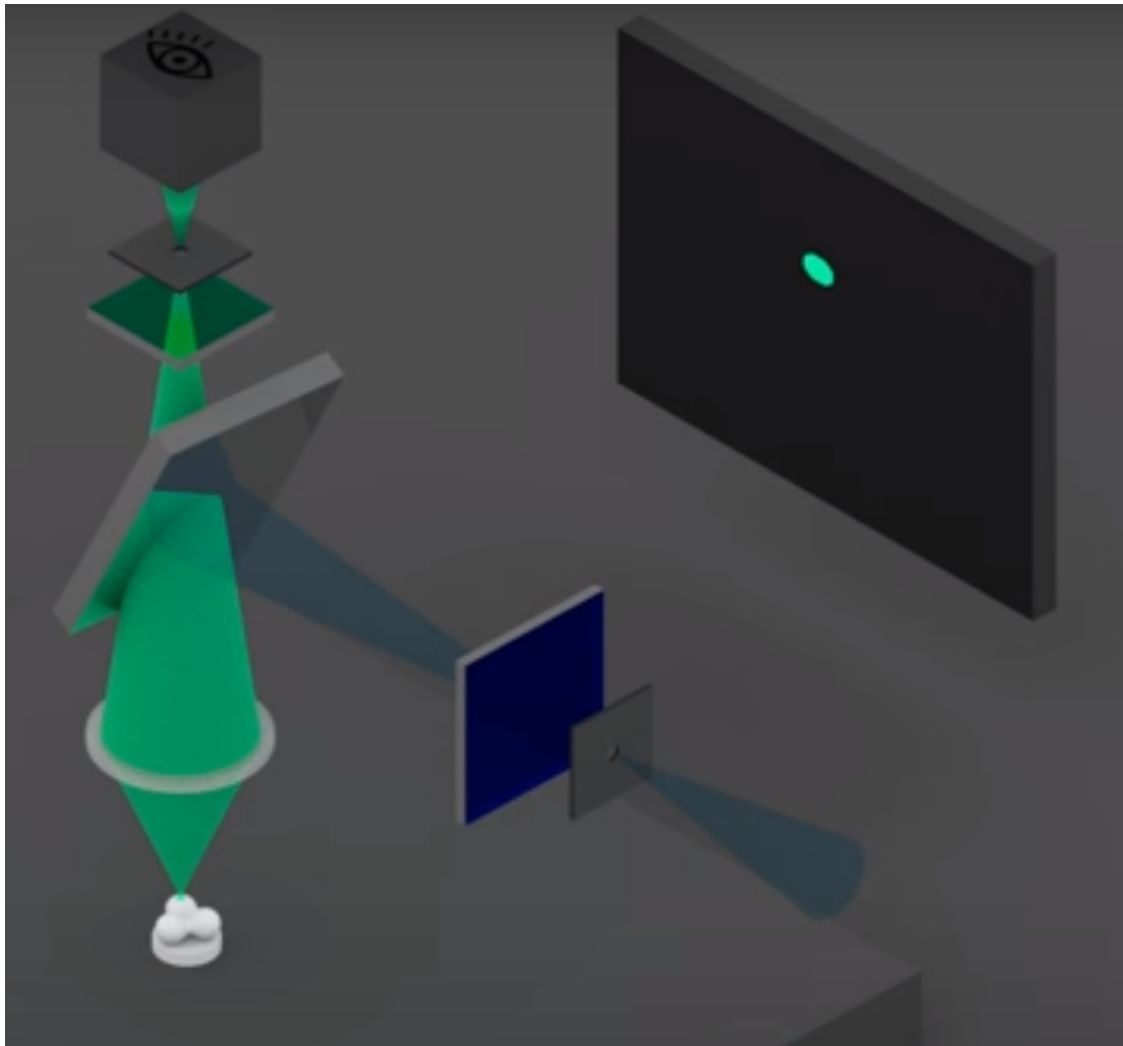
On se concentre ainsi sur les zones où il y a des fluorochromes. Par exemple, ils se fixent en priorité sur la membrane d'un virus. Cela peut être à la fois un avantage et un inconvénient : si les fluorochromes se fixent sur les parties qui nous intéressent on est content, autrement c'est plus compliqué.

3.2 Microscope confocal

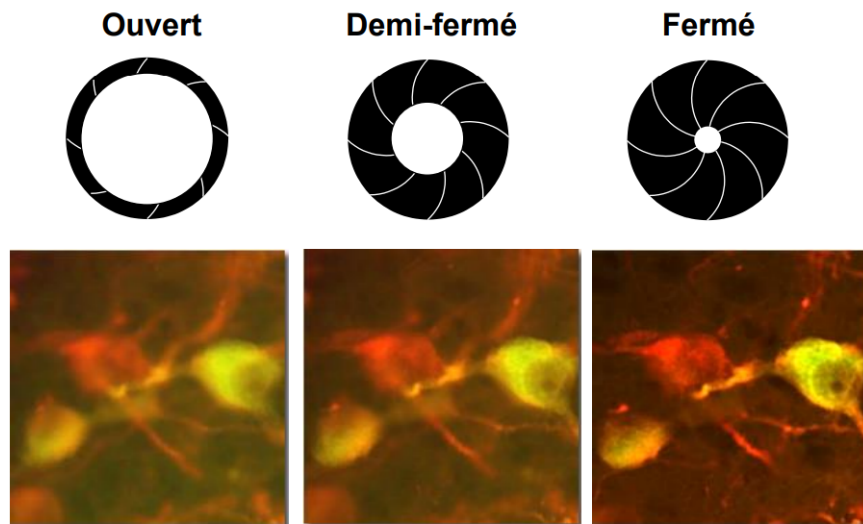
https://fr.wikipedia.org/wiki/Microscope_confocal

On est capable de focaliser le rayon sur une toute petite zone de l'échantillon et on peut, grâce à une deuxième diaphragme nommé "sténopé", n'observer qu'un point de l'échantillon. On règle ainsi le problème de profondeur de champ ! Il suffit ensuite de répéter la manip pour tous les points de l'espace pour effectuer un balayage 3D de l'échantillon !

Sur la deuxième figure : l'éclairage en D est assuré par un diaphragme très fermé et disposé devant la source de la lumière. Cette lumière est récupérée par le lentille O sur le détecteur P.



Plus le diaphragme est fermé, plus on éclaire une faible partie de l'échantillon et donc on règle le problème de la profondeur de champ.



En vrai il existe deux types de microscopes confocals :

- Le "vrai" confocal : il n'y a que le sténopé (deuxième diaphragme) et donc la fluorescence provient de tout l'échantillon. On parle d'excitation monophotonique : un seul photon arrive sur un fluophore
- L'autre, par excitation multiphotonique. On peut utiliser des longueurs d'onde plus grande pour cette technologie.

↓ Ben on a toujours la diffraction

3.3 Technologie PALM

<https://cours.espci.fr/site.php?id=265&fileid=982> des belles images

Il s'agit ici d'envoyer des pulse très faible et délocalisé sur tout l'échantillon, qui font que seul un petit nombre de photon va partir. Ainsi, on va récupérer quelques taches d'Airy séparées les unes des autres. Avec une traitement numérique, on peut retrouver le centre de la tache et donc l'emplacement exacte du fluorophore. En répétant ça, on contitue une belle image.

3.4 STED

https://fr.wikipedia.org/wiki/Microscopie_STED

Permet d'être plus précis.

Annexes

Annexe 1 : calcul de la position du cercle oculaire

Soit le cercle oculaire l'image géométrique de la monture de l'objectif par l'oculaire comme montré Figure 4. On a donc par la relation de conjugaison de Newton que :

$$\overline{F_2 O_1 F_2' C} = -f_2'^2 \Leftrightarrow \overline{F_2' C} = \frac{-f_2'^2}{\Delta + f_1'} \Leftrightarrow F_2' C = \frac{-f_2'^2}{\Delta + f_1'} \quad (22)$$

On trouve une distance $F_2' C$ de l'ordre de 3 mm pour $\Delta = 160$ mm, $f_1' = 25$ mm et $f_2' = 40$ mm. L'approximation de confondre les points F_2' et C est donc justifiée au vue de la valeur de $F_2' C$.

Annexe 2 : calcul de la profondeur de champ

Pour calculer la profondeur de champ du microscope, on s'intéresse aux deux cas extrêmes suivants : l'image focalise au punctum remotum de l'œil (comme dans le microscope correctement réglé) et l'image focalise au punctum proximum de l'œil. On peut représenter ces deux cas par les équations suivantes :

$$\begin{aligned} A_R &\xrightarrow{obj} F_2 \xrightarrow{ocu} \infty \\ A_P &\xrightarrow{obj} A_{P1} \xrightarrow{ocu} PP \end{aligned} \quad (23)$$

Passons aux calculs :

- Pour la première équation, la relation de conjugaison de Newton donne :

$$\overline{F_1 A_R F_1' F_2} = -f_1'^2 \Leftrightarrow \overline{F_1 A_R} = -\frac{f_1'^2}{\Delta}. \quad (24)$$

- Pour la deuxième équation, la même relation nous donne :

$$\left\{ \begin{array}{l} \overline{F_1 A_P F_1' A_{P1}} = -f_1'^2 \\ \overline{F_2 A_{P1} F_2' PP} = -f_2'^2 \end{array} \right. \Leftrightarrow \overline{F_1 A_P} = -\frac{f_1'^2}{\overline{F_1' A_{P1}}} = -\frac{f_1'^2}{\Delta - \frac{f_2'^2}{\overline{F_2' PP}}} = -\frac{f_1'^2}{\Delta + 4f_2'^2}. \quad (25)$$

La punctum proximum est ici pris à 25 cm tel que $\overline{F_2' PP} = -\frac{1}{4}$ en faisant attention aux valeurs algébriques des distances (yeaaaaah on adore l'optique géométrique).

On peut alors définir la profondeur de champ comme :

$$l = \overline{A_R F_1} + \overline{F_1 A_P} = -\frac{f_1'^2}{\Delta} - \frac{f_1'^2}{\Delta + 4f_2'^2} = -\frac{f_1'^2}{\Delta} \left(1 - \frac{1}{1 + \frac{4f_2'^2}{\Delta}} \right) \simeq \frac{4f_1'^2 f_2'^2}{\Delta^2} = \frac{1}{4G_c^2}. \quad (26)$$

On a supposé ici que l'intervalle optique Δ était grand devant les focales des deux lentilles, ce qui est le cas en réalité (au moins un facteur 10).

Questions

- La diffraction pose beaucoup plus de problème que les aberrations
- **Comment s'affranchir totalement de la diffraction ?** On a une tache sur laquelle on fait un ajustement gaussien qui donne le centre de la tache.
- **2 familles de microscope ?** Champ lointain VS champ proche ?
- **Quel est le problème de la fluorescence dans une cellule ?** Les cellules peuvent mourir si trop éclairées.
- **Gros problème du confocal ?** Il faut que l'objet regardé soit figé tu peux pas regarder in vivo.

Citer les différentes aberrations. Quel est l'effet de ne plus se limiter à l'approximation des petits angles ?

ODG de R pour une dioptrie air/verre ?

Qu'est ce que l'approximation de l'optique géométrique ?

Qu'est ce que l'approximation de Gauss ?

Préciser la limite de diffraction.

Préciser les dispositifs expérimentaux et les limites des différents microscopes.

Citer d'autres techniques de microscopies optiques et expliquer leurs principes. Microscopie confocale, microscopie à fluorescence, microscopie interférentielle...

Citer d'autres techniques de microscopies non-optiques et expliquer leurs principes. Microscopie électronique, microscopie à effet tunnel, AFM...

Quels sont les principaux avantages et inconvénients de l'oeil par rapport aux autres photorécepteurs ? Les photorécepteurs actuels ont une résolution bien meilleure que l'oeil, mais celui-ci garde l'avantage de ne pas être soumis aux différents problèmes électroniques (bruit électronique, problèmes des algorithmes de détectations...)

Donner la définition du cercle oculaire, et préciser son intérêt. Le cercle oculaire est l'image de l'objectif à travers l'oculaire. Tous les rayons sortant du microscope passent par le cercle oculaire, c'est donc là où il faut placer l'oeil pour recevoir un maximum de lumière.

En pratique, est-ce que l'on réussit à atteindre la résolution du critère de Rayleigh ? Non, car dans le calcul du pouvoir de résolution on fait l'approximation de Gauss (stigmatisme approché), ce n'est pas forcément le cas en pratique.

Quelles sont les autres facteurs qui limitent la résolution (en plus du critère de Rayleigh) ? Les aberrations géométriques et chromatiques des lentilles limitent la résolution. On utilise des lentilles asphériques et achromatiques pour les réduire.

Pourquoi peut-on définir un grandissement pour une loupe (ou une lentille), mais pas pour un microscope ? Un grandissement est un rapport entre deux longueurs. Or, l'image en sortie d'un microscope est localisée à l'infini, on ne peut donc pas définir sa taille. On caractérise alors un microscope par son grossissement, qui est un rapport entre deux angles.

L'ouverture numérique peut-elle être supérieure à 1 ? Oui, en utilisant des milieux à immersion (glycérol par exemple).

Premiers microscopes ? Qui a inventé le premier microscope ?

Relation focale - Rayons de courbure ?

Microscopie à contraste de Phase ? en champ sombre ?

Remarques

- site toutestquantique
- https://fr.wikipedia.org/wiki/Illumination_de_K%C3%B6hler