LP32 – Microscopies Optiques

10 juin 2021

Julie Deleuze & <u>Tristan Jocteur</u>

Niveau : L3

Commentaires du jury

- Motiver la leçon en la liant à du concret et des applications, cela permet de capter l'intention et de mettre plus de lien entre les parties.
- La présentation d'un microscope commercial aurait été bien.
- La lutte meilleure résolution/limites peut permettre de faire un fil rouge au travers de la leçon.
- Une explication du critère de Rayleigh aurait été mieux avec les profil d'intensité de deux tâches d'Airy.
- Il peut être bien de mentionner l'éclairage de microscopie classique.
- Les schémas peuvent être commentés plus en détails.

Bibliographie

\land Optique, Houard	\longrightarrow	Explications très complètes sur le microscope à deux len-
		tilles.
🛎 Optique Géométrique, Maurel	\longrightarrow	Fonctionnement optique de l'oeil.
🛋 Le champ proche optique, Daniel Courjon, Claudine	\longrightarrow	Principes de la microscopie en champ proche, bonne ex-
Bainier		plication très (trop) complète
🛆 http://toutestquantique.fr/microscopes	\longrightarrow	Vidéos explicatives sur toutes les techniques de microsco-
		pie modernes.

Prérequis

Expériences

- Microscope de paillasse
- ➤ Diffraction et propagation des ondes EM
- ➤ Transformée de Fourier

➤ Optique Géométrique

Table des matières

1	Le microscope à deux lentilles	2
	1.1 Principe	2
	1.2 Caractéristiques de performance	3
	1.3 Autres caractéristiques	4
2	Limites du microscope à deux lentilles	4
	2.1 Aberrations	4
	2.2 Diffraction	6
3	La microscopie en champ proche	6
	3.1 Rappels sur la propagation des ondes EM	6
	3.2 La propagation comme un filtre passe-bas	7
	3.3 La microscopie en champ proche : l'exemple de la sonde en mode collection par éclairage en réflexion .	8

Introduction

https://www.geogebra.org/m/mfhzbyue

D'un point de vue de l'optique géométrique l'oeil peut être modélisée par un système très simple :

- cristallin : dioptre sphérique porté par la cornée dont la courbure est modifiée par l'action des muscles ciliaires (accomodation). Sans accomodations les images proches se forment derrière la rétine. Sa structure complexe (indice variable entre les bords et le centre) compense les aberrations.
- iris : diaphragme dont l'ouverture est formée par la pupille.

L'ensemble cornée + cristallin + humeur vitreuse est assimilé à un dioptre sphérique caractérisé par :

- **punctum remotum :** distance la plus grande de vision distincte (pas d'accomodation, la vergence du dioptre est min). Il est à l'infini si l'oeil est emmetrope.
- punctum proximum : distance la plus petite de vision distincte (cristallin bombé, vergence max).

La performance de notre vision est quantifiée par la limite de résolution de l'œil, qui correspond à la taille minimale des défauts observables. Cette taille dépendant de la distance, on définit la limite de résolution par un angle $\alpha = 2.9 \times 10^{-4}$ rad qui correspond à des défauts d'environ 1 mm sur un objet à 3 m. L'objet le plus petit que l'on peut voir correspond à la situation où l'on est au punctum proximum :

$$l_{max} = \alpha \times 25 \ cm = 73 \ \mu m \tag{1}$$

On peut donc distiguer de tous petits insectes ou des caca de mouches mais pas des cellules eucaryotes classiques qui mesurent une dizaine de microns seulement! Or si on veut comprendre les pathologies, contrer les virus, l'idéal c'est de les voir..

Projeter la photo de l'ADN : on a cependant réussi à largement dépasser la résolution de l'oeil humain pour observer la Nature à de plus petites échelles, permettant de nombreuses avancées scientifiques.

Connaissant le pouvoir grossissant des lentilles, une première approche a été d'utiliser une lentille convergente (loupe) pour agrandir l'image d'un petit objet. Les instruments à plusieurs lentilles ont d'abord été victimes des aberrations. Quand on a réussi à les corriger, le microscope à deux lentilles est devenu l'instrument d'observation du monde microscopique.

1 Le microscope à deux lentilles

1.1 Principe

Le microscope à deux lentilles est formé de deux lentilles convergentes :

- Objectif : forme une image réelle renversée et agrandie de l'objet placé très proche de son foyer.
- Oculaire : projette l'image intermédiaire formée par l'objectif à l'infini afin que l'oeil puisse observer sans accomoder.

Tracé de rayons, définir l'intervalle optique et montrer en même temps sur le microscope de paillasse.

L'image agrandie étant projetée à l'infini par l'oculaire, on peut choisir de placer l'oeil à n'importe quel endroit derrière cleui-ci. Cependant une position est préférée : c'est le cercle occulaire qui est situé aux environs du foyer image de l'objectif. Le cercle oculaire est en fait la zone qui condense le faisceau dans la zone la plus restreinte et qui donc fournira à l'oeil la meilleure intensité et donc un confort à l'observation.

Comme on le voit, le microscope permet d'agrandir l'image formée sur la rétine afin d'observer des objets trop petits pour être observés à l'oeil nu. Comment néanmoins qualifier quantitativement cet apport ?

1.2 Caractéristiques de performance

Sur l'objectif d'un miscorscope commercial on peut lire plusieurs indications concernant les performances du microscope. Essayons de comprendre à quoi elles correspondent, et comment les différentes caractéristiques sont reliées entre elles.



FIGURE 1 – Pour plus d'info sur les abréviations https://studylibfr.com/doc/7298524/ objectif---herv~C3~A9-klein-microscopie

Deux grandeurs classiques décrivant les systèmes optiques sont le grossissement et la puissance.

Grossissement Le grossissement est défini comme le rapport des angles de sortie avec et sans microscope en fixant la distance objet-oeil à une certaine valeur *d*.

Faire le calcul au tableau en faisant figurer toutes les grandeurs nécessaires sur le tracé de rayons :

$$G = \frac{\theta'}{\theta} \tag{2}$$

Avec le schéma (bien dessiner l'oeil au foyer image de l'oculaire et définir theta) on a :

$$tan\theta = \frac{AB}{d}$$
 $tan\theta' = \frac{A'B'}{f'_2}$

D'après Thalès on a :

$$\frac{A'B'}{AB} = \frac{\Delta}{f_1'}$$

Et donc dans la limite des petits angles on a :

$$\theta \approx \frac{AB}{d} \qquad \theta' \approx \frac{AB\Delta}{f'_1 f'_2}$$

Finalement l'expression du grossissement selon les paramètres du microscope est alors :

$$G = \frac{\Delta d}{f_1' f_2'} \tag{3}$$

ili.

Calcul de grossissement sur le microscope de paillasse

Matériel : Objectif de focale 10 cm, oculaire de focale 20 cm et oeil de focale 50 cm. La distance objet-oeil est fixée à environ 1m50.

On calcule la taille de l'image sans puis avec microscope et on en déduit un grandissement équivalent au grossissement. **Puissance** On peut aussi définir le pouvoir grossissant du microscope à travers sa puissance, qui est le rapport entre l'angle de sortie du microscope et la hauteur de l'objet :

$$P = \frac{\theta'}{AB} \tag{4}$$

En reprenant les approximations précédentes on en déduit directement l'expression de la puissance :

$$P = \frac{\Delta}{f_1' f_2'} \tag{5}$$

On remarque alors que la puissance ne dépend pas de la distance entre l'objet et l'oeil.

En pratique, afin de s'affranchir d'une dépendance en d pour le grossissement, on définit le grossissement commercial et la puissance intrinsèque qui correspondent au cas ou l'objet est situé au PP de l'oeil soit à 25cm de celui-ci pour un oeil emmétrope. Cette définition parait alors naturelle puisqu'elle met directement en évidence la limite de l'oeil que le microscope cherche à surmonter.

Grossissement commercial Le grossissement commercial s'exprime donc simplement comme :

$$G_c = \frac{\Delta d_{PP}}{f_1' f_2'} \tag{6}$$

Puissance intrinsèque Comment on l'a mentionné précédemment, la puissance ne dépend de base pas de la distance entre l'objet et l'oeil et donc la puissance intrinsèque est équivalente à la puissance dans le cas du microsocope à deux lentilles.

Ordres de grandeur Si on prend $\Delta = 160 \ mm$ qui correspond à la taille normalisée du tube entre le plan d'appui de l'objectif et le plan d'appui de l'occulaire, $f'_1 = 40 \ mm$ pour l'objectif et $f'_2 = 25 \ mm$ pour l'oculaire alors les applications numériques donnent :

 $G_c = 40$ $P_i = 160\delta$

De manière générale, la puissance varie de quelques centaines de dioptries à quelques milliers.

1.3 Autres caractéristiques

Lattitude de mise au point Une autre caractéristique intéressante du microscope est sa lattitude de mise au point. C'est en fait la plage de distance objet/objectif pour laquelle un oeil placé au niveau du cercle oculaire obtiendra une image nette de l'objet. Sa définition est donc directement liée à la capacité qu'a l'oeil d'accomoder.

Fraction de mm pour les faibles grossissements, qq microns pour les forts grossissements.

Quel exemple d'utilité de la profondeur de champ en microscopie optique?

On peut montrer par le calcul que l'on a :

$$l = \frac{4D_{acc}}{P_i^2} \tag{7}$$

Donc notion de compromis entre puissance intrinsèque et lattitude de mise au point. et ui hihi et c'est d'ailleurs pas le seul point faible de cette daube (à suivre tout de suite)

2 Limites du microscope à deux lentilles

2.1 Aberrations

Un microscope étant destiné à l'observation de details fins, la netteté de l'image est cruciale. Les lentilles ne sont en réalité pas rigoureusement stigmatiques et il faut prendre en compte les phénomènes d'aberration.

$$\begin{split} P_{c} = & \overline{A_{\infty}A_{PP}} = \overline{A_{\infty}F_{obj}} - \overline{A_{PP}F_{obj}} \\ = & -\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{A_{\infty,1}F_{obj}^{\prime}}} + \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,1}F_{obj}^{\prime}}} \\ = & -\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{F_{oc}F_{obj}^{\prime}}} + \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,1}F_{oc}} + \overline{F_{oc}F_{obj}^{\prime}}} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{\Delta}} + \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}F_{oc}^{\prime}}} - \Delta} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{\Delta}} + \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{-\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{\Delta}} - \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{-\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}F_{oc}^{\prime}}} - \Delta} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{\Delta}} + \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{-\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{\Delta}} - \frac{f_{obj}^{\prime 2}}{-\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{\Delta}} - \frac{\overline{\Delta}}} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}F_{oc}^{\prime}}} - \Delta) + f_{obj}^{\prime 2}\Delta}{\Delta(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}F_{oc}^{\prime}}} - \Delta)} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{obj}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta)}{\frac{f_{obj}^{\prime 2}f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta)}{\frac{f_{obj}^{\prime 2}f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta)}{\frac{f_{obj}^{\prime 2}f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta)}{\frac{f_{obj}^{\prime 2}f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta} \\ = & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta)}{\frac{f_{obj}^{\prime 2}f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta} \\ \simeq & \frac{f_{obj}^{\prime 2}(-\frac{f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta)}{\frac{f_{obj}^{\prime 2}f_{oc}^{\prime 2}}{\overline{A_{PP,2}}} - \Delta} \\ \end{array}$$

FIGURE 2 – Calcul de la lattitude de mise au point

Aberration chromatique Le verre dont sont constituées les lentilles est un milieu dispersif -> Loi de Cauchy.

$$n = n_0 \left(1 + \frac{B}{\lambda^2} \right) \tag{8}$$

Deux rayons incidents passant par le même point objet et de même angle d'incidence ne convergeront pas en le même point. Pour compenser doublet achromatique -> distances focales identiques pour 2 longueurs d'onde. On utilise deux lentilles accolées. Pour une lentille mince, la focale est donnée par

$$\frac{1}{f} = (n-1)\left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2}\right) \Leftrightarrow \frac{df}{f} = -\frac{dn}{n-1} \approx \frac{n_{\text{bleu}} - n_{\text{rouge}}}{n_{\text{jaune}} - 1}$$

et pour un doublet de lentilles accolées,

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{f_1} + \frac{1}{f_2} \Leftrightarrow \frac{-\Delta f}{f^2} = -\frac{\Delta f_1}{f_1^2} - \frac{\Delta f_2}{f_2^2} = -\frac{\Delta_1}{f_1} - \frac{\Delta_2}{f_2}$$

pour $\Delta f = 0$ on choisit donc f_1, f_2 telles que $\frac{f_1}{\Delta_1} = -\frac{f_2}{\Delta_2}$ (Verre Crown + Verre Flint).

Aberration sphériques Ces aberrations apparaissent quand on sort des conditions de Gauss. Les prédictions de l'optique géométrique ne sont plus valables. Notamment le système devient astigmatique et un faisceau de rayons parallèles ne convergera pas en un seul point. Pour corriger ça on peut utiliser des lentilles asphériques.

- Pas bcp détailler
- \rightarrow utilisation d'apochromats.
- \rightarrow Aujourd'hui ce ne sont plus les aberrations qui limitent la résolution des microscopes optiques mais la diffraction.

2.2 Diffraction

En tant que système optique spatialement limité, le microscope est soumis aux phénomènes de diffraction. La monture circulaire de l'objectif limite l'extension transversale du faisceau lumineux incident -> diffraction. L'image d'un point par l'objectif n'est pas un point mais un disque d'Airy centré sur son image géométrique et de rayon $\rho = 1, 22 \frac{\lambda L}{2R}$ (faire schéma). La capacité du microscope à former une image résolue de deux objets angulairement proches est limitée. La limite de la résolution angulaire est donnée par le critère de Rayleigh : deux objets ponctuels sont tout juste résolus si le max de la figure de diffraction de l'un correspond au premier min de la figure de diffraction de l'autre. La séparation angulaire correspondante est donnée par $\Delta \theta = 1.22 \frac{\lambda}{D_0}$. En faisant l'hypothèse que le microscope est aplanétique, on peut utiliser la condition d'Abbe pour déterminer la limite de résolution :

$$nAB\sin\alpha = nA'B'\sin\alpha' \Leftrightarrow AB_{\min} = \frac{0.61\lambda}{n\sin\alpha_{\max}} = \frac{0.61\lambda}{O.N.}$$
(9)

ODG Avec un objectif à immersion on obtient une résolution spatiale de $2 \,\mu m$

On peut augmenter l'ouverture numérique avec les objectifs à immersion (points de Weierstrass et tout)... Mais au bout d'un moment on est limité (faire sentir si possible un compromis entre aberrations et grande ON). Et on veut rester dans le visible!

Il va falloir s'attaquer à la racine du pb : agir avant le champ lointain de diffraction !

3 La microscopie en champ proche

Afin de comprendre comment on peut surmonter la limite de diffraction présentée par le critère de Rayleigh, il est nécessaire de revenir sur sa première origine. Pour cela il est nécessaire de faire quelques rappels sur la propagation des ondes éléctromagnétiques et le phénomène de diffraction.

3.1 Rappels sur la propagation des ondes EM

🛎 https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00574699/file/LeChampProcheOptique_complet.pdf p30

Pour des soucis de simplicité, on travaillera dans le vide et sur une amplitude scalaire du champ électrique. On considère alors l'amplitude E(x, y, z) du champ connue en une position z = 0 et l'on souhaite déterminer sa forme après cette position. Dans le vide, on sait que cette amplitude satisfait l'équation d'Helmholtz :

$$\triangle E + \frac{\omega^2}{c^2} E = 0 \tag{10}$$

En définissant la transformée de Fourier \tilde{E} du champ E dans un plan à z fixé de la manière suivante :

$$E(x, y, z) = \iint \tilde{E}(u, v, z) \exp[i(ux + vy)] du dv$$
(11)

On obtient l'équation de Helmholtz suivante dans l'espace de Fourier :

$$\frac{\partial^2 \tilde{E}(u,v,z)}{\partial z^2} + \left(\frac{\omega^2}{c^2} - u^2 - v^2\right) \tilde{E}(u,v,z) = 0$$
(12)

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

$$\tilde{E}(u,v,z) = A(u,v)\exp[iwz] + B(u,v)\exp[-iwz]$$
(13)

avec :

$$w = \sqrt{\frac{\omega^2}{c^2} - u^2 - v^2} \quad \text{pour} \quad \frac{\omega^2}{c^2} > u^2 + v^2$$

$$w = i\sqrt{u^2 + v^2 - \frac{\omega^2}{c^2}} \quad \text{pour} \quad \frac{\omega^2}{c^2} < u^2 + v^2$$
(14)

Si l'on considère que le champ se propage dans le sens des z positifs uniquement, alors la constante B est choisie nulle et la constante A apparaît directement comme la transformée de Fourier du champ E dans le plan z=0 supposé connu.

Par transformée de Fourier inverse on a donc :

$$E(x, y, z) = \iint \tilde{E}(u, v, 0) \exp[i(ux + vy + wz)] du dv$$
(15)

Le champ en tout point de l'espace est donc une superposition d'ondes planes qui obéissent à la relation de deispersion suivante :

$$u^2 + v^2 + w^2 = \frac{\omega^2}{c^2} \tag{16}$$

Cette solution est la solution exacte du problème de diffraction, pour l'instant, aucune notion de champ proche ou de champ lointain n'a été introduite.

3.2 La propagation comme un filtre passe-bas

 \checkmark Salvi le S suffit (section 1 et 2)

Comme on le voit sur la décomposition en spectre d'ondes planes, l'amplitude et donc le poids de chaque onde plane de vecteur d'onde $\mathbf{k} = (u, v, w)$ correspond à la transformée de Fourier du champ dans le plan de l'objet en (u, v, 0). Or prendre la transformée de Fourier de E(x, y, 0) revient à décomposer cette fonction connue en fréquences spatiales, la composante u de la transformée de Fourier correspond donc à $2\pi f_x$ avec f_x une fréquence spatiale trouvée dans le plan objet.

Si on imagine une situation très simple comme un réseau de fentes chacune séparées d'une distance d qui rencontre un champ d'amplitude constante en z=0, alors la fréquence spatiale contenue dans la focntion E(x,y,0) est $f_x = \frac{1}{d}$. Cette fréquence spatiale correspond alors à une onde plane dans le spectre de l'onde propagée avec le vecteur d'onde : $\mathbf{k} = (\frac{2\pi}{d}, 0, \sqrt{\frac{\omega^2}{c^2} - (\frac{2\pi}{d})^2})$. Dans le cas où l'on aurait aucune restriction dans le plan objet, ie pas d'objet, alors le vecteur d'onde correspondant à l'onde propagée est tout simplement : $\mathbf{k} = (0, 0, \frac{\omega}{c})$. Ainsi, si on fait un petit schéma pour représenter ces vecteurs d'ondes de norme constante (schéma au tableau), on remarque que plus la fréquence contenue dans le plan objet est grande plus son vecteur d'onde dans le spectre d'ondes planes propagées s'éloinge de l'axe de propagation intial.



FIGURE 3 – Principe de fonctionnement d'un SNOM

Les systèmes optiques classiques comme les microscopes travaillent en champ lointain. Etant de plus de taille finie, il ne vont pas pouvoir capter tous les vecteurs d'ondes qui se propagent et en particulier ce qui s'éloignent fortement de l'axe optique, c'est à dire ceux correspondant aux hautes fréquences dans le plan objet. C'est pourquoi l'ouverture numérique intervient dans le critère de Rayleigh : l'angle d'ouverture va définir les vecteurs d'onde limite que le système peut capter. Ainsi, les ondes propageant l'information sur les trop hautes féquences spatiales dans le plan objet, seront perdues pednant la propagation. On dit alors que la propagation agit comme un filtre passe-bas.

https://www.geogebra.org/m/wfwjw5cx

Afin de récupérer le plus de rayons propageant possibles, il faut donc une bonne ouverture numérique. Cependant, même si l'on parvenait à réaliser une ouverture numérique très grande, cela ne permettrait pas de couvrir un cas. En effet, lorsque la fréquence spatiale contenue dans le plan objet devient inférieure à la longueur d'onde, le composante w du vecteur d'onde associée devient imaginaire et donc, en repreant la forme de la solution générale, cela correspond à une atténuation exponentielle de l'onde sur une distance caractéristique $\frac{1}{w}$.

Si on veut résoudre un objet de 10nm avec un laser rouge tel que $\lambda \approx 650nm$ on a $\frac{1}{w} \approx 2nm$ donc c'est une atténuation extrêmement rapide.

Ainsi, en regardant en champ lointain, cette composante du spectre d'ondes planes sera totalement perdu, et ce peu importe l'ouverture numérique du dispositif. Le seul moyen de surmonter le critère de Rayleigh et d'observer des objets d'une dimension inférieure à la longueur d'onde et de capter ces ondes évanescentes avant qu'elles ne perdent toute leur amplitude : c'est la le principe de la microscopie en champ proche.

3.3 La microscopie en champ proche : l'exemple de la sonde en mode collection par éclairage en réflexion

▲ Salvi section 1 et 2 + Aigouy pour le délire du rayonnement du dipôle

Le principe des microscopies optiques en champ proche est assez simple : il s'agit de recueillir les ondes ne pouvant pas être recueillies par un système classique à l'aide d'une sonde. Une méthode de microsocpie optique en champ proche se compose donc de trois éléments : un émetteur qui va émettre un champ incident sur l'objet à observer, le plan objet, et un collecteur qui va capter le champ proche diffracté par le plan objet. Pour le présenter, j'ai choisi le dispositif particulier suivant :



FIGURE 4 – Image d'ADN double brin et simple brin faite avec un SNOM

Avec ce dispositif, le principe est le suivant : on éclaire l'échantillon placé dans le plan objet avec un laser qui envoie donc une onde plane sur celui-ci. Selon les principes énoncés précédemment, l'objet diffracte cette onde plane et créer un champ proche sur quelques nanomètres. La sonde est une tige diélectrique dont le bout peut être associé à une petite sphère diélectrique. En présence du champ évanescent, cette sphère va se polariser et former un dipole oscillant (Je crois que j'avais lu ça dans le Aigouy donc faire gaffe, on peut plutôt parler de la fibre optique c'est plus simple comme collecteur) qui va rayonner le champ dans le reste de la tige et qui va finalement pouvoir être détecter par un détecteur situé en amont. De cette façon, on récolte des informations sur le champ proche et donc sur des échelles spatiales inférieures à la longueur d'onde. La résolution étant alors cette fois limitée à al distance entre la pointe de la sonde et l'objet à observer. On montre que :

$$d_{lim} \approx 2\pi L_{sonde-objet} \tag{17}$$

Ainsi pour pouvoir espérer observer un objet d'une taille caractéristique de 100 nm il faut placer la sonde à 15 nm de celui-ci !

Avec cette méthode, des chercheurs de l'EPFL ont réussi à imager des brins d'adn soit avec une résolution de quelques nanomètres seulement !

Méthodes de balayage si on a le temps (je pense pas)

La configuration que nous avons présenté est la plus intuitive mais il en existe pleins d'autres, définies par la manière déclairer (transmission/réflexion) et l'utilisation de la sonde (émission collection).

Conclusion

Bilan + ouverture sur MEB ou AFM ou effet tunnel (résolution supérieure d'environ 0,01 nm)

Questions

- Principe de l'éclairage Köhler
- Quelle est la constitution d'une sonde et à quelle distance doit-on la mettre de l'objet à observer ? Cela pose-t-il des contraintes et si oui comment les surmonter ?
- En pratique est-on vraiment à la limite de Rayleigh?
- Qu'est-ce qu'on fait bouger dans un microscope commercial?
- Donner des ordres de grandeur de résolution pour différentes techniques.

- Comment agir sur l'ouverture numérique et quels sont les risques d'une ouverture numérique trop grande?
- L'immersion de l'objectif est-elle pertinente à tous les grossissements?
- Quelles autres techniques de microscopies applicables à la biologie connaissez-vous?
- Quel est le principe de la microscopie confocale ?
- Préfère-t-on avoir un grande ou une petite lattitude de mise au point ?