

# Résumé plan de leçon

Cette leçon a pour objectif de traiter la microscopie optique à un niveau L3. Les premières parties auraient pu être faites en classe de L1/L2 mais le choix de développer la microscopie en champ proche contraint à placer cette leçon au niveau L3.

Un autre aspect important de cette leçon est la place particulière qu'elle donne à l'outil informatique. En effet, l'utilisation de Géogébra (logiciel libre utilisé notamment au collège/lycée) permet de réaliser des modélisations dynamiques de systèmes optiques. Le fait de rendre la modélisation dynamique permet aux élèves d'appréhender les règles de construction et de vérifier numériquement (par l'expérience numérique) la validité des relations de conjugaisons. Dans l'introduction est détaillée une modélisation du fonctionnement de l'œil (d'un point de vue physique uniquement) et l'utilisateur doit réaliser "manuellement" le travail d'accommodation de l'œil pour comprendre le fonctionnement de l'œil. L'accommodation se fait à l'aide d'un curseur rendant cette modélisation dynamique et pédagogique. L'outil informatique est de la même sorte utilisé tout au long de la leçon pour réaliser une modélisation de la loupe (page 4), et également du microscope à deux lentilles (page 8).

Sur la page 8, on peut également voir Figure 3 une illustration du critère de Rayleigh à l'aide d'un graphique réalisé en langage de programmation Python. Ce dernier nous permet ici de réaliser des plots rapides et de façon propre pour comprendre la définition et "sentir" sur quoi repose le critère ainsi défini. L'avantage de l'outil informatique est ici qu'il rend l'illustration du critère beaucoup plus univoque qu'une illustration à la main comme il aurait pu être simplement fait au tableau. L'intérêt pédagogique n'est alors plus discutable dans la mesure où l'illustration ne dépend plus des compétences artistiques du professeur.

J'espère qu'au cours de cette leçon les élèves pourront assimiler pleinement les concepts de la microscopie optique en mettant à l'œuvre numériquement leurs savoirs en matière d'optique géométrique. J'espère avoir également motivé leur intérêt pour des techniques plus modernes de microscopie optique haute résolution comme la microscopie en champ proche. Au cours de cette leçon j'espère leur avoir fait comprendre l'intérêt de l'outil numérique tant sur le plan pédagogique que sur le plan de l'innovation dans le domaine où l'informatique tient à présent une place reine.

# LP32 – MICROSCOPIE OPTIQUES

29 mars 2019

Zakarya Ouzit & Victor Dansage

*Microscope pour voir ce qui est petit, télescope pour voir ce qui est loin, horoscope pour voir ce qui n'est pas.*

PAUL CARVEL

## Niveau : L3

## Commentaires du jury

**2017** : L'intérêt des notions introduites doit être souligné.

**2016** : Une technique récente de microscopie optique à haute résolution doit être présentée.

**2015** : Deux nouvelles leçons ont été ajoutées [dont] une leçon intitulée "Microscopie optique", dans laquelle un développement rigoureux et suffisamment complet d'au moins une technique est souhaité

Cette leçon est apparue à la session 2016

## Bibliographie

- ↗ *Optique*, **Houard** → Fonctionnement de l'oeil et montage du microscope
- ↗ *Optique expérimentale*, **Sextant** → Fonctionnement de l'oeil, de la loupe et du microscopique
- ↗ *Les nouvelles microscopie*, **Aigouy** → Interprétation de la limite de résolution avec le principe d'incertitude d'Heisenberg (p135)
- ↗ *La microscopie en champ proche*<sup>1</sup>, **Salvi - Van Labeke** → Calcul de la diffraction en champ proche et ondes évanescentes
- ↗ *Thèse*<sup>2</sup>, **Chaigneu** → Principe de la microscopie en champ proche

## Prérequis

- Optique géométrique - Modèle de l'oeil
- Diffraction par une ouverture circulaire
- Transformée de Fourier
- Ondes progressives/ondes évanescentes
- Condition d'Abbe

## Expériences

- ☞ Microscope sur table (illustration)
- ☞ Modélisation numérique du principe du microscope sur Géogébra

## Table des matières

<b>1</b>	<b>Microscopes à lentilles</b>	<b>4</b>
1.1	La loupe . . . . .	4
1.2	Microscope à deux lentilles . . . . .	5
1.3	Diaphragmes et cercle oculaire . . . . .	6
<b>2</b>	<b>Limitations</b>	<b>6</b>
2.1	Profondeur de champ . . . . .	6
2.2	Pouvoir de résolution . . . . .	7
<b>3</b>	<b>Microscopie en champ proche</b>	<b>9</b>
3.1	Les ondes évanescentes . . . . .	9
3.2	Principe de la microscopie en champ proche . . . . .	10
<b>4</b>	<b>Conclusion</b>	<b>10</b>

1. <https://publiweb.femto-st.fr/tntnet/entries/9911/documents/author/data>  
2. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00274746/document>

## Introduction

Après avoir étudié la formation des images dans le cadre de l’optique géométrique, on peut faire une modélisation de l’œil comme une lentille de distance focale variable le cristallin, et un écran fixe la rétine. La distance cristallin-rétine étant fixe, la plage de distance focale du cristallin permet de définir la plage d’accommodation de l’œil qui correspond à l’intervalle de distance au cristallin sur lequel il est possible de former une image nette sur la rétine.

Chaque individu peut alors déterminer la frontière de cet interval, en déterminant son **punctum remotum** (distance la plus éloigné du cristallin permettant la formation d’une image nette sur la rétine), et son **punctum proximum** (distance la plus proche).



### Modélisation de l’œil

🔗 Géogébra
⌚ 2 min

L’utilisation

de l’outil informatique permet ici de modéliser de façon dynamique le fonctionnement d’un œil. Il est possible de modifier la taille de l’objet (l’objet réel) à l’aide d’un curseur et de voir concrètement la conséquence de l’image sur la rétine. Bien sûr il faut pour cela penser à accommoder, ce qui peut se faire en modifiant la distance focale, là aussi à l’aide d’un curseur. L’utilisation de Géogébra permet de rendre l’optique géométrique dynamique et de mettre en application les relation de conjugaison. C’est ainsi un formidable outil pédagogique mettant en avant les nombreuses possibilité offerte par l’outil informatique.

Biologiquement, on sait que la détection de lumière sur la rétine est effectuée par des objets appelés cônes et bâtonnets, qui ont une certaine extension spatiale. Deux points dans l’espace objet dont les images se forment sur le même cône ou bâtonnet ne seront donc pas séparables. On peut donc définir le pouvoir de résolution de l’œil comme l’angle minimal sous lequel il est possible de séparer deux points objet.

### Ordres de grandeur

Pour un œil émétrope (correspondant au plus grand nombre donc dit normal) :

- $PR = + \infty$
- $PP = 25 \text{ cm}$
- $\Delta\theta = 1' = \frac{1}{60}^\circ = 2.9 \times 10^{-4} \text{ rad}$

Pour un objet  $\overline{AB}$  orthogonal à l’axe optique, l’angle maximal  $\alpha$  sous lequel cet objet peut être vu par l’œil correspond à l’angle lorsque l’objet est dans le plan du punctum proximum, donc  $\alpha_{max}(\overline{AB}) = \frac{\overline{AB}}{d_{PP}}$ .

Des détails ne sont donc pas visibles à l’œil nu. Mais on a envie de voir ce qu’on ne peut pas !

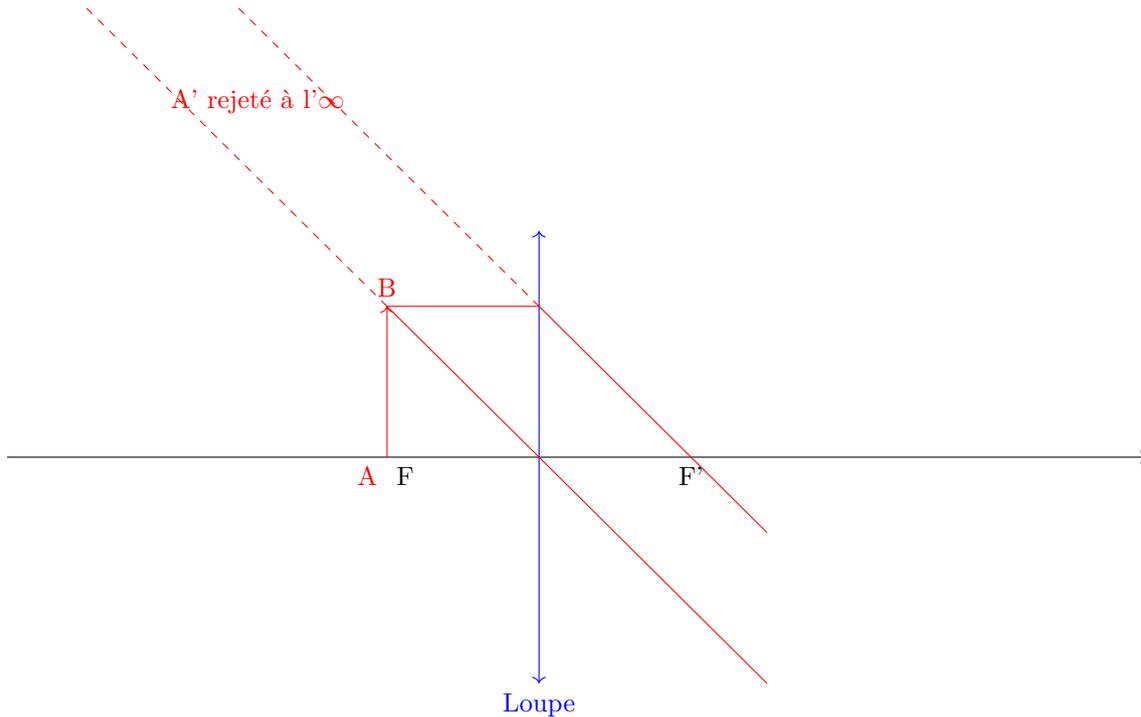
## Microscopes à lentilles

**Microscope :** Un microscope est un dispositif permettant de former l'image d'objets (au sens optique) invisibles à l'œil nu. On parle de microscopie optique quand l'information est contenue dans un flux lumineux.

Le pouvoir grossissant des lentilles est connu depuis longtemps, c'est pourquoi elles ont été au cœur des premiers microscopes.

## La loupe

La loupe est le microscope optique le plus simple et aussi le plus ancien (les plus anciennes retrouvées sont datées du XV<sup>e</sup> siècle av. J.-C). Une loupe est constituée d'une lentille convergente de distance focale  $f' < d_{PP}$  et permet de voir net des objets plus proche que le punctum proximum, et donc sous un angle  $\alpha' > \alpha_{max}$  donc avec grossissement, et cela sans accommodation donc sans effort.



Prenons pour la loupe une lentille convergente distance focale  $f'$ , et un objet  $\overline{AB}$ , orthogonal à l'axe optique. L'angle maximal sous lequel est vu cet objet à l'œil nu est :

$$\alpha_{max} = \frac{\overline{AB}}{d_{PP}} \quad (1)$$

Plaçons à présent l'objet  $\overline{AB}$  dans le plan focal objet de la loupe. L'image  $\overline{A'B'}$  est formée à l'infini. Donc peut importe la distance de l'œil à la loupe, l'œil ne sera pas forcé d'accomoder et l'angle sous lequel sera vu l'objet à travers le système optique sera  $\beta = \frac{\overline{AB}}{f'}$ .

### Remarques

- $\beta > \alpha_{max} \Leftrightarrow f' < d_{PP}$
- définir le grossissement  $G = \frac{\alpha_{loupe}}{\alpha_{oeilnu}}$  ne présente pas un grand intérêt puisqu'il dépend de la distance de l'objet à l'œil. On préférera utiliser le grossissement commercial pour lequel l'objet est au punctum proximum.

On peut alors définir le grossissement commercial  $G_c$  et la puissance  $P$  de la loupe :

$$G_c = \frac{\beta}{\alpha_{max}} = \frac{d_{PP}}{f'} \quad P = \frac{\beta}{\overline{AB}} = \frac{1}{f'} \quad (2)$$

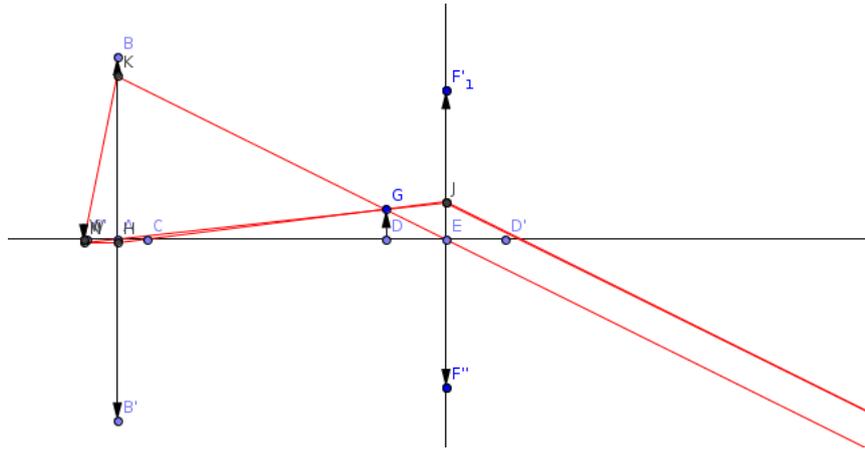


FIGURE 1 – Modélisation numérique d'une microscope à deux lentilles réalisé sur Géogébra

### Ordres de grandeurs

(Sextant)

- $f' \in [2, 10]$  cm
- $G_c \in [2.5, 12.5]$
- $P \in [10, 50]\delta$

## Microscope à deux lentilles

Le microscope à deux lentilles est constituée d'une première lentille appelé objectif dont le but est de former une première image  $\overline{A_1B_1}$  agrandie de l'objet  $\overline{AB}$ . C'est pourquoi l'objectif est choisi avec une courte focale  $\simeq 1.5 - 40$ mm. Une seconde lentille appelée oculaire joue le rôle de loupe, et forme une image  $\overline{A_2B_2}$  à l'infini de l'image intermédiaire  $\overline{A_1B_1}$ , de focale  $\simeq 1.25 - 5$ cm. En formant l'image de  $\overline{AB}$  par le système optique à l'infini, cela permet à l'oeil d'observer sans accommodation.

Il reste un degré de liberté, la distance entre les deux lentilles. Pour cela on note l'intervalle optique :  $\Delta = \overline{F'_1F_2}$  la distance entre le foyer image de l'oculaire et le foyer objet de l'oculaire. Dans les faits,  $\Delta \simeq 16$ cm.

L'intervalle optique étant fixé, pour former l'image  $\overline{A_2B_2}$  de  $\overline{AB}$  à l'infini, on déplace l'ensemble {objectif + oculaire} par rapport à l'objet de sorte à obtenir une image intermédiaire  $\overline{A_1B_1}$  dans le plan foyer objet de l'oculaire.

Calculons à présent le grossissement commercial d'un tel système :

Calculons pour commencer le grandissement de l'objectif :

$$\gamma_{obj} = \left| \frac{\overline{A_1B_1}}{\overline{AB}} \right| = \frac{\Delta}{f'_{ob}} \quad (3)$$

L'oculaire agissant simplement comme une loupe,  $G_{c,oc} = \left| \frac{\alpha'}{\alpha_1} \right| = \frac{d_{PP}}{f'_{oc}}$ , on peut calculer le grossissement du système :

$$G_c = \left| \frac{\alpha'}{\alpha_{max}} \right| = \left| \frac{\alpha'}{\alpha_1} \cdot \frac{\alpha_1}{\alpha_{max}} \right| = G_{c,oc} \cdot \gamma_{obj} = \frac{d_{PP}\Delta}{f'_{ob}f'_{oc}} \quad (4)$$

De même, la puissance est  $P = \left| \frac{\alpha}{\overline{AB}} \right| = G_c \left| \frac{\alpha_{max}}{\overline{AB}} \right| = \frac{\Delta}{f'_{ob}f'_{oc}}$

### Ordres de grandeurs

- $\Delta \simeq 16$ cm
- $f'_{ob} \simeq 1.5 - 40$ mm
- $f'_{oc} \simeq 1.25 - 5$ cm
- Pour  $G_{c,oc} \simeq 10$ ,  $G_c \simeq 40 - 1000$  et  $P \simeq 160 - 4000\delta$

### Remarque

Le grossissement commercial et la puissance a été considérablement amélioré avec ajout d'une seconde lentille.

## Diaphragmes et cercle oculaire

Diaphragme d'ouverture : ici objectif

Diaphragme de champ : ici oculaire

Cercle oculaire : dans les faits proche du foyer image de l'oculaire

Cette partie n'est pas présentée, il faut simplement donner la position du cercle oculaire pour le calcul de la profondeur de champ.

## Limitations

### Profondeur de champ

**Profondeur de champ :** Plage de position de l'objet pour laquelle l'image à travers le système optique est net pour l'oeil quitte à accommoder. C'est à dire que l'image formée par le système optique est comprise entre le PR et le PP de l'oeil.

Pour le microscope à deux lentilles, on peut montrer que le cercle oculaire est situé au voisinage du plan focal image de l'oculaire. C'est donc dans ce plan que l'on place en pratique l'oeil pour avoir un maximum de lumière.

Considérons un objet  $\overline{AB}$ , d'image intermédiaire par l'objectif  $\overline{A_1B_1}$ , et d'image à travers les deux lentilles  $\overline{A_2B_2}$ . L'image est donc nette pour l'oeil si  $\overline{F_2'A_2} \in [-\infty, -d_{PP}]$

Notons  $A_\infty$  (respectivement  $A_{PP}$ ) telle que l'image à travers les deux lentille est situé en PR (respectivement en PP),  $A_{\infty,1}$ ,  $A_{PP,1}$  leur image intermédiaire et  $A_{\infty,2}$ ,  $A_{PP,2}$  leur image à travers les deux lentilles.

La profondeur de champ  $P_c$  s'exprime alors :

$$P_c = \overline{A_\infty A_{PP}} = \overline{A_\infty F_{obj}} - \overline{A_{PP} F_{obj}} \quad (5)$$

$$= -\frac{f_{obj}'^2}{A_{\infty,1} F_{obj}} + \frac{f_{obj}'^2}{A_{PP,1} F_{obj}} \quad (6)$$

$$= -\frac{f_{obj}'^2}{F_{oc} F'_{obj}} + \frac{f_{obj}'^2}{A_{PP,1} F_{oc} + F_{oc} F'_{obj}} \quad (7)$$

$$= \frac{f_{obj}'^2}{\Delta} + \frac{f_{obj}'^2}{-\frac{f_{oc}'^2}{A_{PP,2} F'_{oc}} - \Delta} \quad (8)$$

$$= \frac{f_{obj}'^2}{\Delta} + \frac{f_{obj}'^2}{-\frac{f_{oc}'^2}{d_{PP}} - \Delta} \quad (9)$$

$$= \frac{f_{obj}'^2 \left( -\frac{f_{oc}'^2}{d_{PP}} - \Delta \right) + f_{obj}'^2 \Delta}{\Delta \left( -\frac{f_{oc}'^2}{d_{PP}} - \Delta \right)} \quad (10)$$

$$= \frac{f_{obj}'^2 f_{oc}'^2}{d_{PP} \Delta \left( \frac{f_{oc}'^2}{d_{PP}} + \Delta \right)} \quad (11)$$

$$= \frac{1}{G_c^2} \cdot \frac{d_{PP} \Delta}{\frac{f_{oc}'^2}{d_{PP}} + \Delta} \quad (12)$$

$$\simeq \frac{d_{PP}}{G_c^2} \quad (13)$$

### Ordre de grandeur :

- $P_c \simeq 156 \mu\text{m}$  pour  $G_c = 40$
- $P_c \simeq 1 \mu\text{m}$  pour  $G_c = 500$
- $P_c \simeq 0.25 \mu\text{m}$  pour  $G_c = 1000$

**Remarque :**

- $P_c \propto \frac{1}{G_c^2}$ , on retrouve une grande loi de la physique "On peut pas gagner partout!", il y a un compromis à faire entre grossissement et profondeur de champ, sauf si on est malin.
- $P_c \propto \frac{1}{\gamma_{obj}^2}$ , c'est pourquoi on utilise les objectifs dans l'ordre des grossissements croissants et que l'on veille à rester net au cours du changement, les microscopes étant standardisés pour cela ( $\overline{A_\infty F_{oc}}$  étant fixé à 195mm).

De manière générale, l'image d'un point n'est pas un point mais une tâche à cause des aberrations géométriques et chromatiques, de la taille finie des détecteurs et de la diffraction. Les trois premières causes sont limitées par les progrès technologiques mais on ne peut rien pour la diffraction. C'est pourquoi nous allons maintenant nous intéresser à la limite de résolution.

**Pouvoir de résolution**

Lorsqu'une onde monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  traverse un instrument optique d'ouverture circulaire de diamètre  $D$ , la figure d'interférence obtenue est une tâche d'Airy. Le premier cercle noir (première annulation) centré sur la tâche d'Airy correspond à l'annulation de l'éclairement et donc de la fonction de Bessel du premier ordre  $J_1$ . Cette annulation a lieu en  $\theta \simeq 1.22 \frac{\lambda}{D}$ .

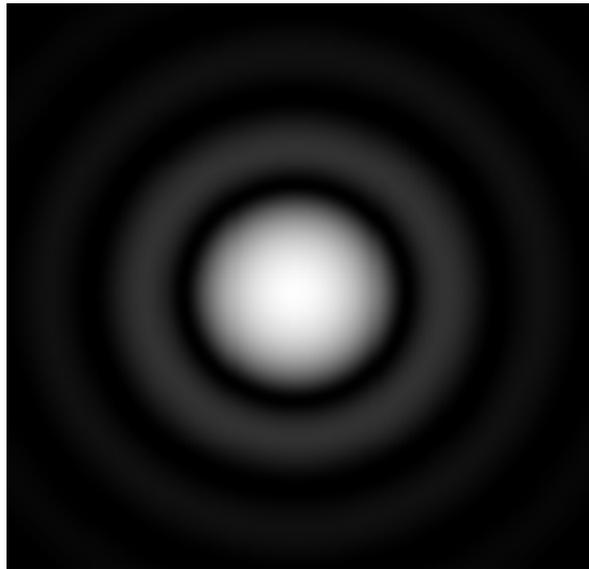


FIGURE 2 – Tâche d'Airy simulée (Wikipédia)

Les lentilles constituant le microscope à deux lentilles étant des instruments optiques d'ouverture circulaire, les lentilles sont soumises à la diffraction, l'image de chaque point est alors une tâche d'Airy. Le **pouvoir de résolution, pouvoir de séparation, pouvoir séparateur, ou résolution spatiale**, traduit la capacité d'un système optique à distinguer les détails. On peut l'exprimer comme la distance minimale devant séparer deux points pour qu'ils soient correctement séparés à travers le système optique.

Le critère de Rayleigh nous dit que deux pics (ici les centres de deux tâches d'Airy) sont séparables si la première annulation d'une tâche correspond au moins au maximum de l'autre. Dès lors, deux points sont séparables si la différence angulaire entre les centres des deux tâches d'Airy donc entre les deux images géométriques  $\theta_R$  vérifie pour une onde monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  et une ouverture circulaire de diamètre  $D$  :

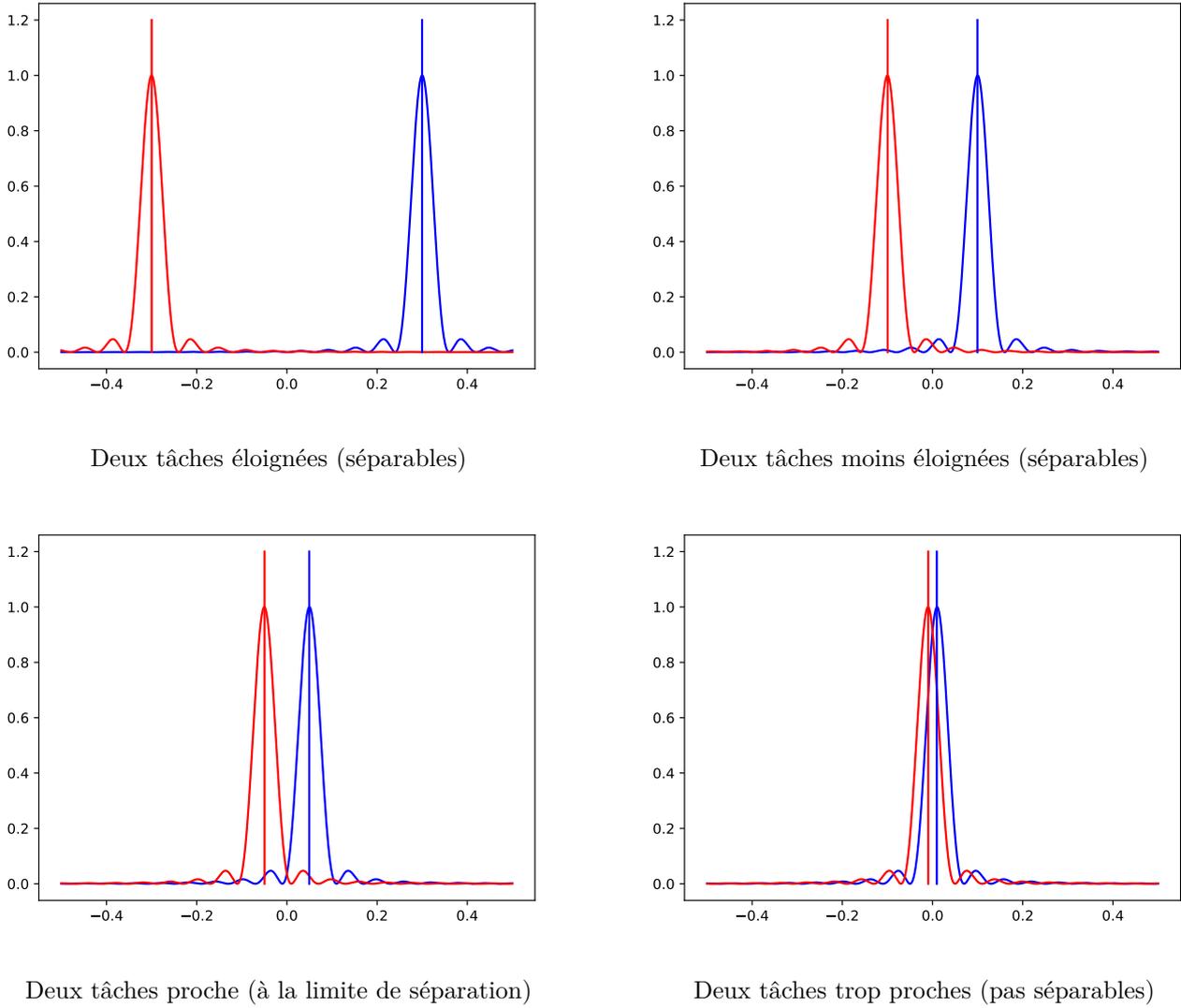
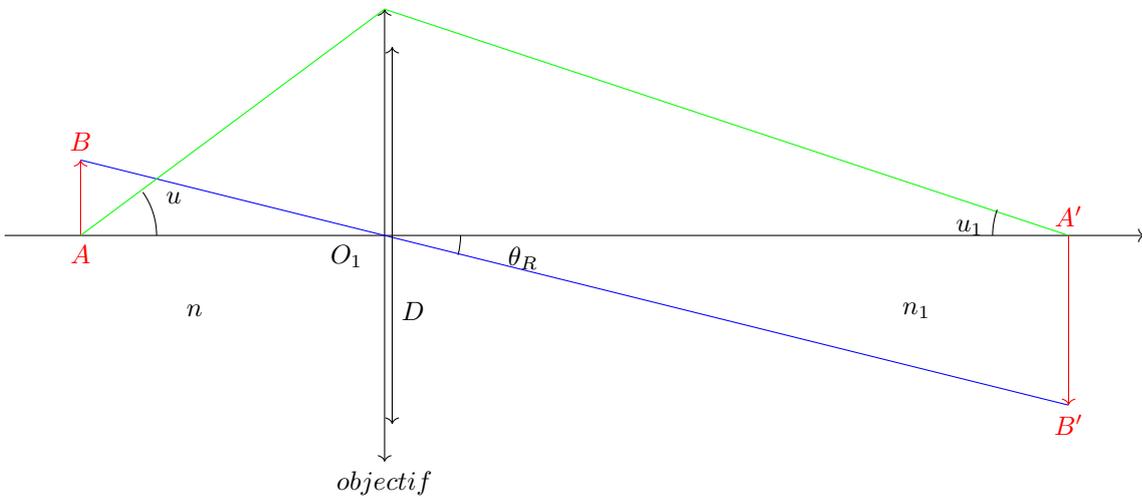


FIGURE 3 – Illustration du critère de Rayleigh

$$\theta_R = 1.22 \frac{\lambda}{D} \tag{14}$$



Nous avons :  $u_1 = \frac{D/2}{O_1A_1}$  et  $\theta_R = \frac{A_1B_1}{O_1A_1}$ . Donc :  $A_1B_1 = 1.22 \frac{\lambda}{2u_1} = 0.61 \frac{\lambda_0}{n_1 u_1}$

En supposant que le microscope à deux lentilles vérifie la condition d'Abbe pour le stigmatisme approché (ce qui est en général le cas) :

$$n(AB) \sin(u) = n_1(A_1B_1) \sin(u_1) \quad (15)$$

On en déduit alors :

$$(AB)_{min} = 0.61 \frac{\lambda_0}{n \sin(u)} = 0.61 \frac{\lambda_0}{O.N.} \quad (16)$$

Où l'on a défini la l'ouverture numérique  $O.N.$  comme  $O.N. = n \sin(u)$ . On aurait pu faire le même calcul avec l'oculaire mais l'objectif formant une image intermédiaire avec un grandissement  $|\gamma_{obj}| > 1$ , c'est la diffraction induite par l'objectif qui sera limitante pour le microscope et non celle induite par l'oculaire.

#### remarque

On peut diminuer  $(AB)_{min}$  en :

- en diminuant  $\lambda_0$ , mais dans le spectre visible on est limité par  $\lambda_0 \geq 400\text{nm}$
- en augmentant l'indice, mais si on veut garder des lentilles convergentes, il faut  $n < 1.5$
- en augmentant  $\sin(u)$  mais  $\sin(u) \leq 1$

#### Ordre de grandeur

Finalement, le pouvoir de résolution ultime en microscopie optique classique est de l'ordre de  $0.2\mu\text{m}$

## Microscopie en champ proche

### Les ondes évanescentes

La relation d'incertitude d'Heisenberg s'écrit :  $\Delta\vec{r} \cdot \Delta\vec{k} \geq 2\pi$  que l'on peut réécrire dans une direction ( $Ox$ ) dans le plan d'un objet à observer :  $\Delta\vec{x} \cdot \Delta\vec{k}_x \geq 2\pi$ .

Si l'objet est éclairé par une onde monochromatique de pulsation  $\omega$  et que le système optique permettant l'observation de l'objet présente une ouverture numérique  $O.N. = n \sin(\theta)$  alors  $-\frac{\omega}{c} n \sin(\theta) \leq k_x \leq \frac{\omega}{c} n \sin(\theta)$ . D'où :

$$\Delta x \geq \frac{\lambda_0}{2n \sin(\theta)} \quad (17)$$

On retrouve alors le pouvoir de résolution déterminé précédemment pour le microscope à deux lentilles comme une conséquence de la relation d'incertitude de Heisenberg.

À première vue, on peut penser que cette relation d'incertitude représente un mur qu'il sera impossible de franchir. Mais il est plus pertinent de voir cette relation comme une indice nous montrant comment le contourner.

Pour pouvoir obtenir un pouvoir de résolution  $\Delta x$  plus petit, il faut augmenter  $\Delta k_x$ . Cependant  $|k_x| = \sqrt{n^2 \frac{\omega^2}{c^2} - k_y^2 - k_z^2}$ , dès lors il faut  $k_y$  ou  $k_z$  imaginaire pur pour pouvoir espérer gagner en résolution. Nous cherchons donc à utiliser des ondes évanescentes.

Comment utiliser ces ondes dans une technique de microscopie ?

Considérons un objet mince situé dans le plan de cote  $z = 0$  et de transmittance  $t(x, y)$ . Éclairons à présent cet objet avec une onde monochromatique de pulsation  $\omega$  :  $E_i(x, y, z, t) = E_i(x, y, z) e^{-i\omega t}$ . Ainsi directement derrière l'objet,

$$E_0(x, y) = E_i(x, y, 0^+) t(x, y) \quad (18)$$

Nous souhaitons maintenant calculer ce champ en un point  $(x, y, z)$  quelconque derrière l'objet. On pourrait utiliser le principe d'Huygens-Fresnel et écrire une décomposition en ondes sphérique mais il y a plus pertinent à faire dans notre cas, écrire une décomposition en ondes planes.

Prenons alors la transformée de Fourier à 2D dans le plan à  $z = 0$ , où l'on connaît le champ

$$E_0(x, y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} dk_x dk_y \tilde{E}_0(k_x, k_y) e^{i(k_x x + k_y y)} \quad (19)$$

L'onde étant de pulsation  $\omega$  et donc de  $|\vec{k}| = n\frac{2\pi}{\lambda_0}$  fixé, on a :

$$E(x, y, z) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} dk_x dk_y \tilde{E}_0(k_x, k_y) e^{i\vec{k}\vec{r}} \quad (20)$$

où  $k_z = \sqrt{(n\frac{2\pi}{\lambda_0})^2 - k_x^2 - k_y^2}$ , cette équation est appelée **spectre d'ondes planes**.

Le champ diffracté présente donc des ondes planes (avec  $k_z \in \mathbb{R}$  donc pour les basses fréquences spatiales) et des ondes évanescentes (pour  $k_z \in \mathbb{C} \setminus \mathbb{R}$  pour les hautes fréquences spatiale).

## Principe de la microscopie en champ proche

Supposons que l'on éclaire un objet dont les plus petits détails sont de l'ordre de  $\delta x$  (respectivement  $\delta y$ ) selon la direction ( $Ox$ ) (respectivement ( $Oy$ )) avec une onde plane de longueur d'onde  $\lambda = \frac{\lambda_0}{n}$ . Si  $\delta x, \delta y > \lambda$  alors  $\delta k_x, \delta k_y < \frac{2\pi}{\lambda}$ . Dès lors le champs diffracté est essentiellement composé d'ondes propagatives qui peuvent être détectées en champ lointain par un microscope à deux lentilles classiques par exemple. On peut là encore retrouver le pouvoir de résolution.

Si à présent on diminue suffisamment  $\delta x$  et  $\delta y$  de sorte que  $\delta x, \delta y < \lambda$ , alors  $\delta k_x, \delta k_y > \frac{2\pi}{\lambda}$ . Le champ diffracté contient à présent des ondes évanescentes non détectables en champ lointain mais détectables en champ proche pour  $z \leq \frac{1}{k_z}$ . Si l'objet est lui même de dimension plus petite que la longueur d'onde alors tout son spectre est en hautes fréquences et donc le champ diffracté est essentiellement constitué d'ondes évanescentes. **Les ondes évanescentes portent les informations des détails plus petits que la longueur d'onde.**

La microscopie en champ proche va donc utiliser une sonde, suffisamment proche de l'objet pour **capter** ces ondes évanescentes en les convertissant en ondes progressives par diffraction. C'est ce que l'on appelle la microscopie en champ proche avec sonde en fonctionnement détection.

Mais il y a également une microscopie en champ proche avec sonde en fonctionnement émission. La sonde émet une onde que l'on peut décomposer en spectre d'ondes planes. Si la dimension de la sonde est plus petite que la longueur d'onde de l'onde monochromatique alors son spectre contient essentiellement des hautes fréquences qui vont conduire à des ondes évanescentes. Suffisamment proche de l'objet, ces ondes vont être diffractées par l'objet. En utilisant le principe de retour inverse de la lumière, on comprend que la diffraction des ondes évanescente "incidentes" par l'objet va les transformer en ondes propagatives pouvant être détectées en champ lointain.

### Remarques et ordres de grandeurs

- La sonde doit être suffisamment proche de l'objet  $\leq \frac{1}{|k_z|} \simeq 10\text{nm}$
- On peut montrer que le lien entre le plus petit détail  $\delta$  résolu et la distance sonde objet  $L$  est  $L = \frac{\delta}{2\pi}$
- Typiquement on arrive à  $\delta \simeq 20\text{nm}$
- Microscopie à balayage

## Conclusion

Nous avons dans cette leçon présentée des instruments de microscopie optique classique, bien connus. La limite de diffraction est apparue comme une limitation incontournable du pouvoir de résolution d'un microscope à deux lentilles. Cependant une autre approche de la limite de diffraction en tant que conséquence de la relation d'incertitude d'Heisenberg nous a permis de comprendre comment contourner cette limitation en étudiant une autre technique de microscopie optique, la microscopie en champ proche. On pourra discuter dans une prochaine leçon de la diffraction dans un cadre plus général et de l'optique de Fourier qui en découle et qui permet de développer de nouvelles techniques de microscopie comme la microscopie à contraste de phase qui a valu le prix Nobel à Zernike en 1953.