Lycée Baimbridge, MP 2026-2027

à rendre pour le 2 novembre 2026

Physique Chimie

DM 8

Microscopie optique (Adapté de Mines PC 2020, Agrégation Chimie 2026 et Centrale PC 2021)

Afin de contrôler la qualité des tissages, Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723), apprenti drapier aux Pays Bas, inventa le premier microscope à fort grandissement vers 1668. Cet instrument permit, grâce à la curiosité de son inventeur, de découvrir l'existence d'un monde vivant à une échelle invisible à l'oeil nu. Ces découvertes marquèrent la naissance de la microbiologie. Cet instrument n'a jamais cessé d'évoluer pour extraire un maximum d'informations de l'échantillon étudié en trouvant de nouveaux contrastes et en explorant des échelles toujours plus petites.

Dans une première partie, nous préciserons la limite de résolution de l'œil afin d'apprécier ensuite, dans la partie II, l'apport du microscope de Van Leeuwenhoek pour réussir à voir de petits détails. Enfin, en partie III, nous étudierons un microscope optique moderne.

1 Pouvoir de résolution de l'oeil humain

Cette partie s'appuie sur les documents 1, 2 et 3. L'œil peut être modélisé par une lentille mince convergente de distance focale variable f' placée dans l'air, d'indice $n = 1$ et de diamètre D, identique à celui de la pupille d'entrée de l'œil. On désigne par $\overline{\lambda}$ la longueur d'onde moyenne du rayonnement visible égale à 500 nm. Dans cette partie on considérera deux objets ponctuels, placés dans l'air à une distance grande devant le punctum remotum, dont les images se forment au centre de la fovéa d'un œil emmétrope. Comme indiqué sur la figure 1, ils sont vus sous un angle α.

☐ **1** – En considérant le nombre fini N de cônes présents par unité de surface au centre de la fovéa et sans tenir compte de la diffraction, estimer la valeur minimale de α notée α_1 , permettant de discerner les deux objets situés à l'infini. Le résultat sera donné en fonction de N et f' puis sera estimé numériquement en minutes d'arc.

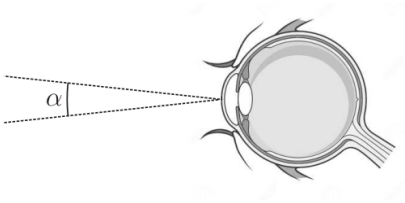


Figure 1: Géométrie de l'oeil.

☐ **2** – En raison de la diraction par la pupille, l'image d'un objet ponctuel est une tache sur la rétine. En tenant compte de la diffraction, estimer de nouveau la valeur minimale de α notée α_2 séparant deux objets ponctuels incohérents vus distinctement par un œil emmétrope au centre de sa fovéa. Exprimer α_2 en fonction de $\overline{\lambda}$ et D et comparer sa valeur à celle de α_1.

☐ **3** – En utilisant la valeur minimale $\alpha_2 = 1'$ séparant deux objets ponctuels incohérents à distance finie, calculer numériquement la dimension a_1 du plus petit motif observable à l'œil nu. Donner un exemple d'objet possédant une dimension de longueur comparable à a_1.

2 Microscope de Van Leeuwenhoek

Le premier microscope de Van Leeuwenhoek, était rudimentaire et reposait sur l'utilisation d'une seule lentille boule. Après polissage d'une goutte de silice fondue, Van Leeuwenhoek, obtint des lentilles boule de rayon $R = 0.60\,\text{mm}$ de centre C. L'indice optique de la silice sera noté n, les foyers objet et image de la lentille sont respectivement notés F et F'.

☐ **4** – Expliquer, à l'aide d'un schéma optique précis, l'intérêt d'introduire une telle lentille entre l'échantillon et l'observateur.

Sur la figure 2 on a représenté la trajectoire d'un rayon lumineux initialement parallèle à l'axe optique (Cz) se propageant dans une lentille boule d'indice optique n placée dans l'air d'indice unitaire. Les rayons incidents et émergents se coupent dans un plan passant par C, perpendiculaire à l'axe (Cz). L'étude sera menée dans l'approximation de Gauss.

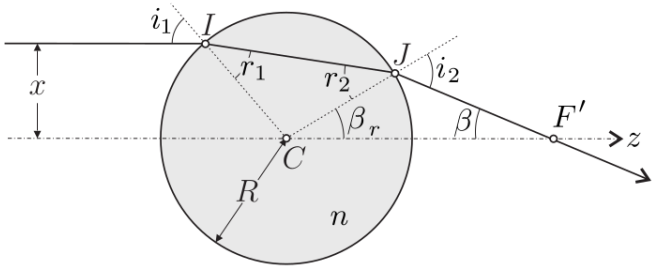


Figure 2: Lentille boule

Les angles formés entre les rayons lumineux et les normales aux dioptres sont notés i_1 au point I en entrée de la lentille et i_2 à l'extérieur de la lentille au point J, en sortie. De même, les angles intérieurs seront notés r_1 et r_2. L'angle $\widehat{F'CJ}$ est noté β_r et l'angle $\widehat{CF'J}$ sera noté β.

☐ **5** – Déterminer la relation entre i_1 et i_2. Exprimer i_1 en fonction de x et R. Exprimer β_r en fonction de i_1 et n, puis en fonction de x, R et n. Exprimer β en fonction de i_1 et β_r puis de x, R et n. Déterminer CF' et justifier qu'on a stigmatisme approché dans les conditions de Gauss. En déduire la distance focale f'_L définie comme la distance CF' sur la figure 2 en fonction n et R. Estimer enfin numériquement f'_L en prenant $n = 1,5$.

Dans toute la suite, (Ox) désigne la direction transverse à l'axe optique contenant l'objet étudié. On limite l'étude au plan (Ox, Oz) et on prendra $f'_L = 1,0\,\text{mm}$. On utilise à présent un modèle de lentille mince équivalent à la lentille boule, possédant la même distance focale f'_L et le même rayon R. Celle-ci est représentée sur la figure 3.

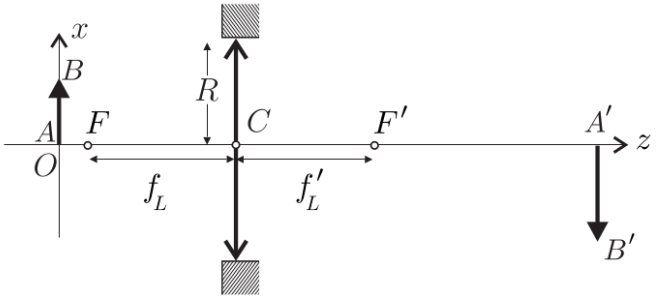


Figure 3: Lentille mince équivalente à la lentille boule

On rappelle que la relation de conjugaison pour une lentille mince de centre C dans l'approximation de Gauss s'écrit :

$$\frac{1}{\overline{CA'}} - \frac{1}{\overline{CA}} = \frac{1}{\overline{CF'}} \tag{1}$$

Le grandissement transversal d'un système optique est défini comme le rapport de la taille de l'image et de la taille de l'objet $\gamma = \dfrac{\overline{A'B'}}{\overline{AB}}$, tous deux orientés transversalement à l'axe optique. Une des normes actuelles est d'imposer une distance $\ell = 195\,\text{mm}$ sur l'axe optique entre un objet et son image à travers l'objectif.

☐ **6** – Déterminer l'expression de $\overline{CA}$ en fonction de ℓ et f'_L pour que le grandissement transversal du microscope de Van Leeuwenhoek soit supérieur à 1 en valeur absolue dans l'approximation de Gauss. On a ici $\ell \gg 4f'_L$, en déduire une expression approchée de γ puis faire l'application numérique.

3 Microscope moderne

3.1 Principe de fonctionnement

Les microscopes modernes sont constitués de deux lentilles plutôt que d'une seule. Le microscope est modélisé par un système de deux lentilles minces convergentes :

- l'une constituant l'objectif, lentille (L1) de centre O_1 et de distance focale image f_1',
- l'autre constituant l'oculaire, lentille (L2) de centre O_2 et de distance focale image f_2'. On note $O_1O_2 = d_0 > 0$.

Dans cette partie, les angles sont orientés selon le sens conventionnel indiqué sur la figure. On choisit le sens positif de l'axe optique dans le sens de propagation de la lumière.

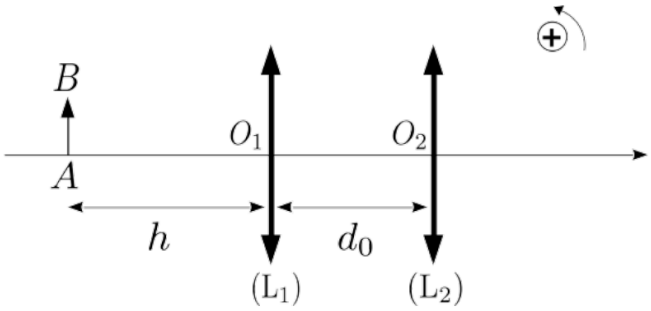


Figure 4: Modélisation du microscope optique par deux lentilles convergentes (L_1) et (L_2)

La figure suivante montre une photographie de l'objectif d'un microscope avec les indications 40 pour le grandissement, 0.65 pour l'ouverture numérique (w_0), 160 (mm) pour la longueur de tube Δ, définie ci-après, et 0.17 (mm) pour la lamelle couvre-objet. La signification de ces indications sera précisée dans la suite de l'énoncé. L'oculaire (non visible sur la photographie) comporte l'inscription x10 .

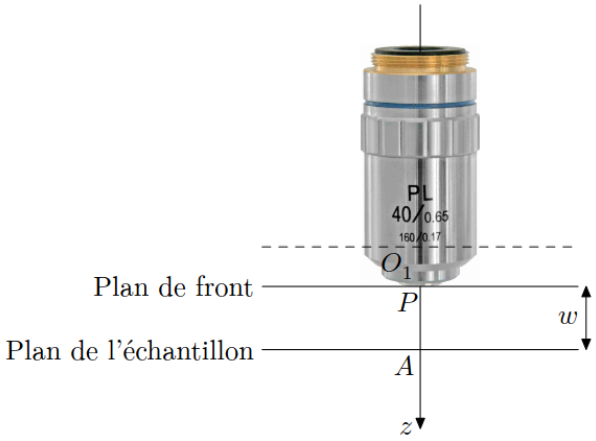


Figure 5: Photographie de l'objectif de microscope

On note F_1' le foyer image de (L1) et F_2 le foyer objet de (L2). On définit l'intervalle optique par la grandeur algébrique $\Delta = \overline{F_1'F_2}$.

☐ **7** – Exprimer Δ en fonction de f_1', f_2' et d_0.

Un objet réel AB perpendiculaire à l'axe optique est éclairé et placé à une distance $h = |\overline{O_1A}|$ de (L1), à sa gauche, de façon à ce que l'observation, par un oeil emmétrope placé au contact de l'oculaire, se fasse sans accommodation.

☐ **8** – Exprimer h en fonction de f_1' et de Δ.

☐ **9** – L'indication (x 40) portée sur l'objectif est son grandissement (en valeur absolue) $|\gamma_1|$. Exprimer le grandissement γ_1 de l'objectif seul en fonction de f_1' et Δ. En déduire la valeur numérique de f_1'.

☐ **10** – Compléter le schéma, annexé en fin d'énoncé, en traçant soigneusement la marche de deux rayons lumineux issus du point B de l'objet AB, l'un émis parallèlement à l'axe optique, l'autre passant par O_1. On fera apparaître l'angle α' sous lequel est vue l'image à la sortie du microscope, ainsi que l'image A_1B_1 de l'objet AB à travers l'objectif.

On considère l'oculaire seul. L'indication portée sur l'oculaire (x10) est son grossissement G_2, c'est-à-dire le quotient de l'angle sous lequel on voit l'image à l'infini d'un objet à travers l'oculaire seul par l'angle sous lequel on voit ce même objet à l'oeil nu lorsqu'il est situé à la distance minimale de vision distincte d_{pp}.

☐ **11** – En vous appuyant sur le schéma de la question précédente, exprimer G_2 dans le cadre de l'approximation de Gauss, en fonction de f_2' et d_{pp}. En déduire la valeur numérique de f_2'.

Le grossissement commercial du microscope est défini par $G = \dfrac{\alpha'}{\alpha_0}$ où α_0 est l'angle sous lequel on voit l'objet AB à l'oeil nu : $\tan\alpha_0 = \dfrac{\overline{AB}}{d_{pp}}$.

☐ **12** – Exprimer G en fonction de $|\gamma_1|$ et G_2. Calculer la valeur de G.

☐ **13** – En choisissant une taille d'objet observé usuellement au microscope optique, évaluer un ordre de grandeur des angles α_0 et α'. Au regard de ces valeurs, vérifier que l'objet est rendu visible par le microscope. Vérifier également qu'il était justifié de se placer dans l'approximation de Gauss.

3.2 Mesure de la puissance du microscope

La puissance d'un microscope est définie par le rapport entre l'angle sous lequel on voit l'image finale et la taille de l'objet : $\mathcal{P} = \dfrac{|\alpha'|}{AB}$. C'est une grandeur positive.

☐ **14** – Donner l'unité de $\mathcal{P}$. Exprimer $\mathcal{P}$ en fonction de $|\gamma_1|, G_2$ et d_{pp} puis calculer sa valeur attendue pour le microscope étudié ici.

Afin de mesurer la valeur de $\mathcal{P}$, on met en œuvre le protocole suivant. L'objet AB est constitué d'une lame de verre sur laquelle sont gravées des graduations au $\frac{1}{100^e}$ mm. Il est observé au microscope, qui en donne une image grossie. On observe cette même image à travers une lunette afocale placée au-dessus du microscope. La lunette a été préalablement étalonnée de telle sorte que la taille angulaire de l'une de ses graduations élémentaires représente un angle $\theta_e = 0.0482° \pm 0.0005°$.

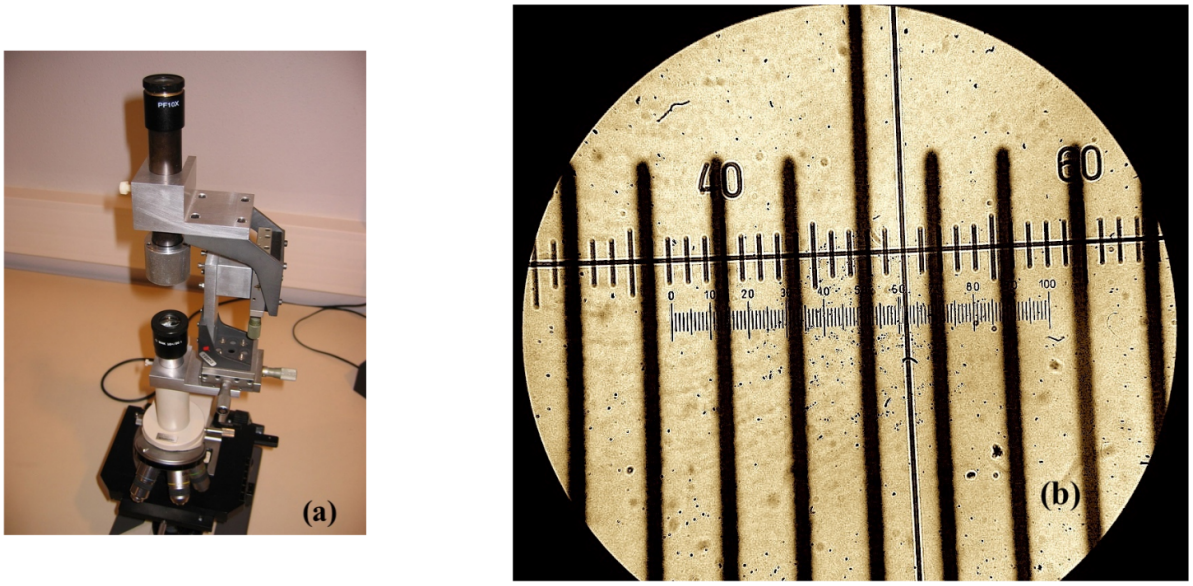


Figure 6: (a) Montage associant le microscope à une lunette afocale pour la mesure de la puissance $\mathcal{P}$. (b) Image obtenue en sortie de la lunette. Les plus petites graduations, appelées graduations élémentaires dans l'énoncé, correspondent à celles de la lunette afocale. Les graduations de taille intermédiaire ne sont pas à prendre en compte. Source : www.optique-ingenieur.org

☐ **15** – Déterminer la valeur de la puissance $\mathcal{P}$ du microscope à partir de la figure, ainsi que l'incertitude sur la mesure.

☐ **16** – Comparer la valeur mesurée à la valeur attendue par un calcul d'écart normalisé.

3.3 Pouvoir de résolution

On s'intéresse maintenant au pouvoir de résolution latéral du microscope optique, c'est-à-dire sa capacité à séparer deux objets ponctuels situés dans un plan perpendiculaire à l'axe optique. Ce pouvoir de résolution, comme pour l'œil, est limité par la diffraction par l'objectif, d'ouverture numérique w_0.

En utilisant le critère de diffraction présenté en début de ce sujet (pour l'oeil), on montre que deux objets ponctuels sont discernables par le microscope s'ils sont séparés d'une distance supérieure à :

$$a'_{\min} = \frac{0.61\overline{\lambda}}{w_0} \tag{2}$$

☐ **17** – Calculer $a'_{\min}$ pour le microscope étudié ici. Commenter.

☐ **18** – Proposer un moyen d'améliorer le pouvoir de résolution.

3.4 Latitude de mise au point

On s'intéresse désormais au positionnement de l'objet à étudier pour l'observation. Le plan de front P en avant de la monture de l'objectif est tel que la distance O_1P est égale à 3.5 mm.

☐ **19** – Déterminer puis calculer la distance frontale w (distance de travail), c'est-à-dire la distance PA séparant la lame porte-échantillon et le plan de front de l'objectif $\times 40$. Expliquer pourquoi certains objectifs de fort grandissement sont équipés d'un système à ressort qui évite la détérioration de la lentille frontale.

☐ **20** – L'œil étant positionné dans le plan focal image de l'oculaire, calculer la latitude de mise au point du microscope pour cet objectif, c'est-à-dire la distance dont on peut déplacer l'objet par rapport à l'objectif en conservant une vision nette. Commenter. Les observations seront-elles perturbées si on a plusieurs couches de cellules superposées ?

4 Microscope confocal

La faible latitude de mise au point peut être exploitée pour observer un échantillon dans un plan particulier très fin. Ceci permet d'éviter, par exemple, un brouillage de l'image lié à une observation de plusieurs couches de cellules.

Le microscope classique est modifié de la façon suivante : on supprime l'oculaire et on positionne un capteur dans le plan de l'image intermédiaire donnée par l'objectif, en le centrant sur l'axe optique. Pour réaliser un microscope confocal , on introduit également un diaphragme de petite taille (par exemple 10 µm), lui aussi centré sur l'axe optique, dans le plan du capteur. De cette façon l'ensemble (capteur + diaphragme) permet de réaliser un détecteur quasi-ponctuel. La figure suivante présente le schéma de principe du microscope confocal de fluorescence utilisé pour la détection de molécules individuelles.

☐ **21** – Sur le schéma de la figure B du document réponse, tracer le faisceau de lumière émis par le point B situé dans le plan de l'échantillon mais hors de l'axe optique.

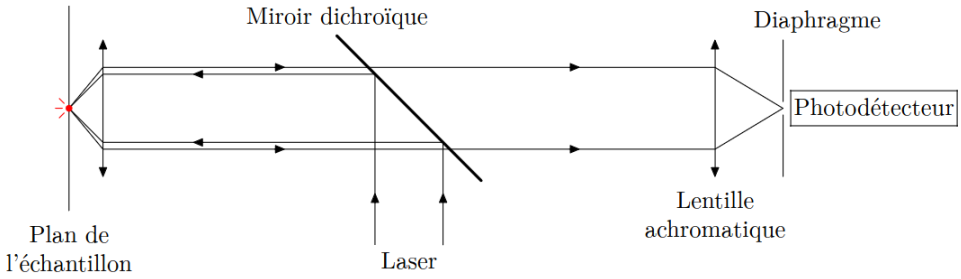


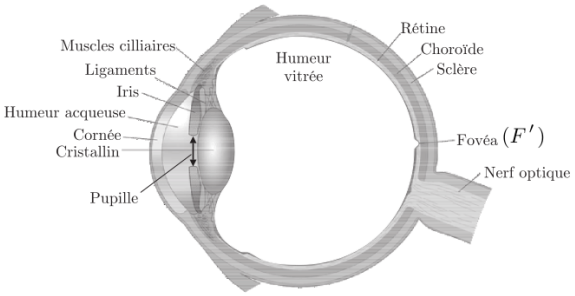
Figure 7: Schéma de principe du microscope confocal.

☐ **22** – Sur le schéma de la figure C, tracer le faisceau de lumière émis par le point C situé sur l'axe optique mais hors du plan de l'échantillon.

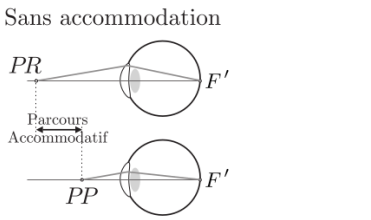
☐ **23** – À quoi sert l'introduction d'un trou de petite taille dans le plan du photodétecteur ? Expliquer l'intérêt du microscope confocal par rapport au microscope optique.

☐ **24** – Justifier la nécessité d'un système de balayage (translation de l'échantillon dans son plan) pour réaliser une image de fluorescence. Expliquer pourquoi il s'agit d'un inconvénient par rapport au microscope optique.

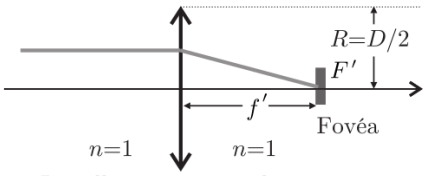
Document 1 : Modélisation de l'œil humain emmétrope



Diamètre de la pupille : $D = 3\,\text{mm}$
Indice de l'humeur vitrée : 1,33
Indice du cristallin : 1,45



Accommodation maximale



Lentille mince équivalente

La fovéa contient en son centre environ $N = 160\,000$ cônes/mm^2, chacun de ces cônes est une cellule photosensible.

Le punctum proximum (PP) est le point le plus proche que l'on peut voir distinctement. Il est situé à 25 cm de la pupille et tel que dans cette situation $f' = f'_1 = 16\,\text{mm}$.

Le punctum remotum (PR) est la distance à partir de laquelle l'œil n'accommode plus, il est tel que dans cette situation $f' = f'_2 = 17\,\text{mm}$.

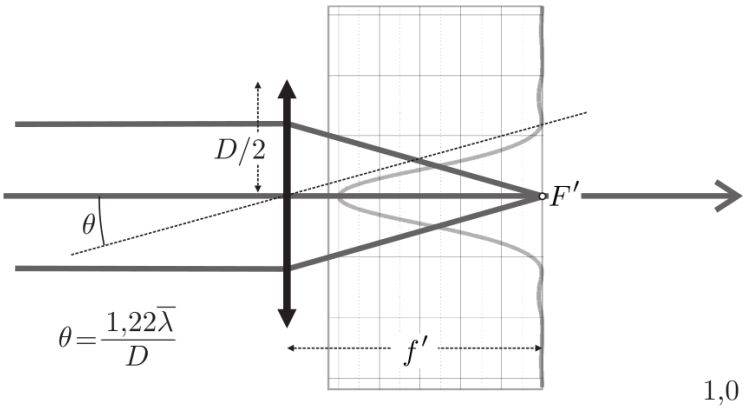
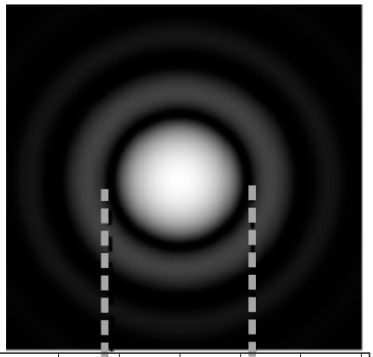
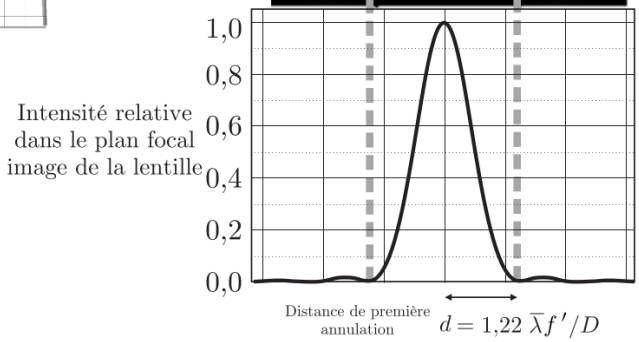
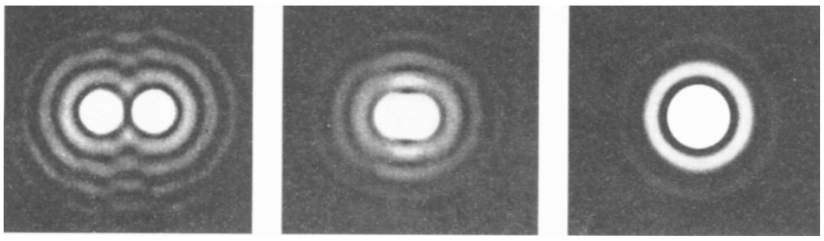


Image du plan focal de la lentille

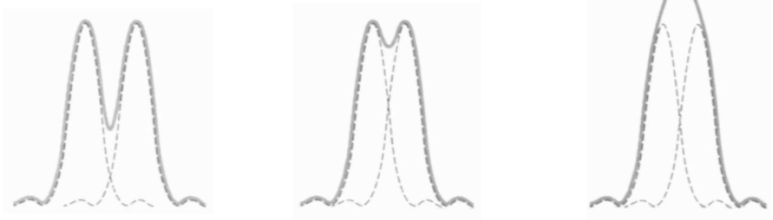




Document 2 : Diffraction par la pupille d'une lentille mince convergente



Images de deux sources ponctuelles incohérentes à travers une lentille convergente pour différentes valeurs de l'angle α par rapport à l'axe de symétrie.



Seuls les cas (a) et (b) permettent de discerner deux maxima. En (b), il s'agit de l'angle minimal permettant de discerner deux taches.

Document 3 : Pouvoir de séparation entre deux taches issues de sources incohérentes