# HEDE Frédéric

Fondation pour la culture scientifique et technique

Sciences à l'École

Année scolaire 2015-2016

# Problématique

## a. Introduction

L'imagerie numérique couplée à l'informatique permet de construire des images d'objets tridimensionnels millimétriques et submillimétriques malgré la faible profondeur de champ offerte par un système microscopique. Cet assemblage informatique est plus connu sous le terme anglais «focus stacking». Il est ainsi possible d'assembler plusieurs centaines d'images à faible profondeur de champ (image a) pour obtenir une image unique à grande profondeur de champ (image b).

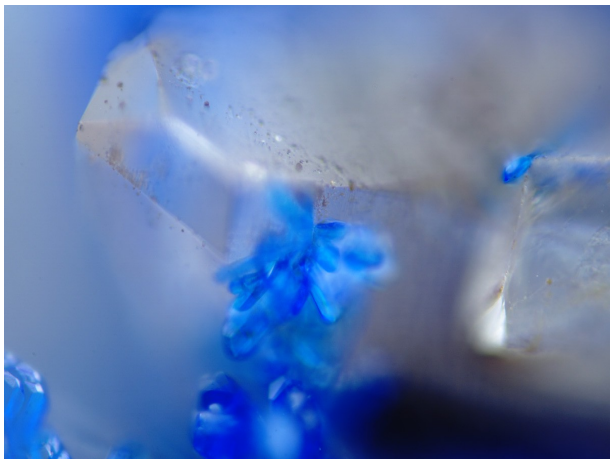


Image a sans focus stacking
(objectif Nikon M Plan ELWD 40x – largeur de champ 0,6 mm)

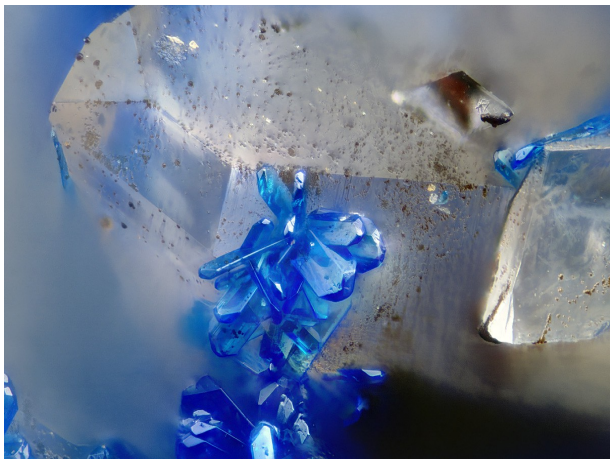


Image b avec focus stacking
(compilation de 200 images)

Les contraintes mécaniques sont importantes dans les systèmes classiques. On glisse mécaniquement le bloc optique ou l'objet d'un pas régulier correspondant à la profondeur de champ (ou de netteté) du système pour prendre des images numériques. On peut ensuite reconstituer l'image de l'objet avec des logiciels adaptés. Les profondeurs de champ sont de l'ordre du micromètre pour des objectifs x10 à x40. Les glissements mécaniques doivent donc avoir une précision de cet ordre. Il est donc courant d'automatiser avec des systèmes coûteux et lourds.

## b. Projet

L'objectif est de faire construire, par les élèves, un microscope léger avec des contraintes mécaniques faibles en utilisant le grandissement optique. Le matériel disponible au collège comporte ainsi avant ce projet d'un platine macro manfrotto 454 relativement peu précise ainsi que d'une lentille Raynox macro de distance focale 125 mm.

# Sommaire du rapport

1. Présentation de l'équipe
2. Fonctionnement de principe d'un microscope, grandissement et grossissement
3. Construction du microscope avec la technologie
4. Le stacking avec le microscope découplé
5. La diffraction
6. Les objectifs en microscopie
7. Influence de la lentille de tube
8. Mesure du grandissement transversal et longitudinal
9. Construction d'une image par stacking
10. Conclusion

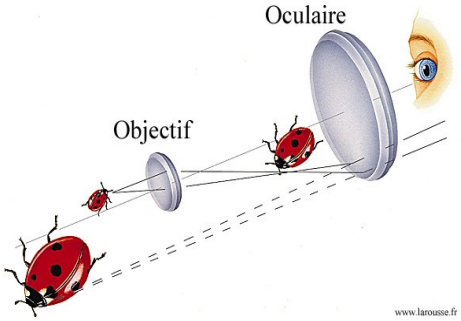
Annexe : Une sortie au CERN et quelques applications à l'optique

## 1. Présentation de l'équipe

Dans le cadre d'un «club» scientifique quatorze élèves volontaires ont pour objectif de construire un microscope photographique. Quelques-uns ont quittés le projet en cours de route (changement d'établissement, difficultés à se lever le matin, travail supplémentaire) Nous avons fini le projet avec 8 élèves, tous très motivés.

## 2. Principe du microscope photographique

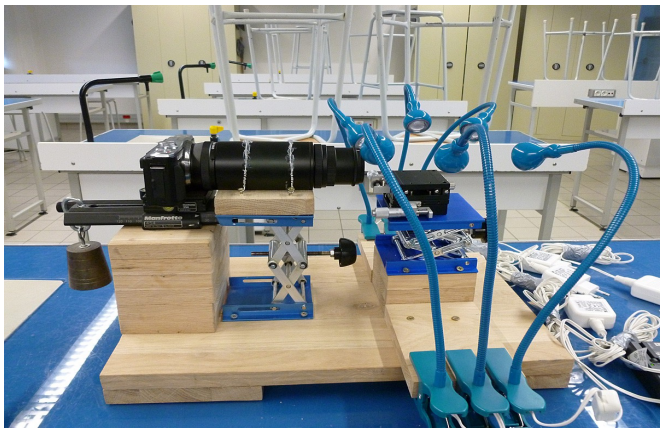
Un microscope optique comporte un objectif qui grossit un objet pour former une image de l'autre coté. Elle subit **un grandissement**. L'image, dans un microscope classique, est reprise et grossit par un oculaire lorsqu'on désire l'observer et l'adapter à notre œil.
Cependant, en photographie, l'oculaire n'est pas nécessaire. Pour une bonne observation, il faut juste que la diagonale de l'image (circulaire) soit plus grande que la diagonale du capteur de l'appareil photo. C'est le cas pour les objectifs utilisés classiquement.




## 3. Construction du microscope avec la technologie

### a. Quelques problèmes transdisciplinaires

Il a fallu assembler les différentes pièces et résoudre des problèmes techniques. La technologie et les mathématiques ont été utilisées. Il a fallu comprendre quelques principes du microscope photographique avant de lancer la construction.



Le microscope assemblé

Les différentes équipes ont résolu des problèmes d'assemblage en respectant les contraintes pour que l'image se forme sur le capteur de l'appareil photographique :

– Fabrication d'une cale en bois supportant la lentille tube. Prendre rendez-vous avec un enseignant de technologie pour le façonnage.

– Placer le système de repositionnement sur un pied élévateur avec des trous espacés de 5 cm. Prendre rendez-vous avec un enseignant de technologie pour le perçage.

– Positionner les différentes pièces pour respecter les distances pour capturer l'image avec le

capteur au bon endroit.

**b. Utilisation de charlyrobot**

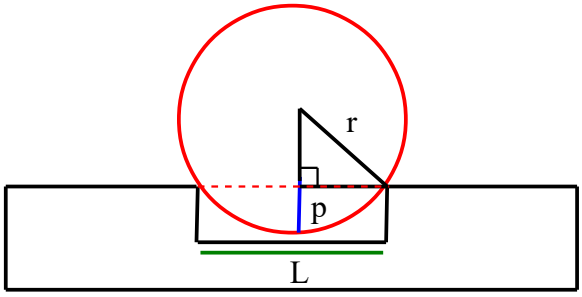
Il a fallu dans lors construction du système creuser une tablette de 10 cm (la «cale») en bois d'une profondeur de 4 mm. Cette condition a été mesurée pour que le tube de l'appareil photo coulisse dans celui du tube de la lentille de tube. Cette gorge permet le centrage du tube et son positionnement dans l'axe optique du système.

**Problème :** De quelle largeur L doit-on creuser la plaquette pour que le tube s'enfonce de la profondeur p connaissant le rayon r du tube ?
Nous pouvons résoudre ce problème par la solution proposée par M. Chedal et M. Pernoux.

On observe dans le problème posé un triangle rectangle qui permet d'appliquer nos connaissances :

- L'hypoténuse est le rayon r du tube
- Un petit coté a une longueur égale à L/2
- Le dernier petit coté a une longueur égale à r-p

On sait que r = 30 mm et que p = 4 mm pour respecter l'assemblage. L'inconnue est donc L.




On a donc la relation suivante :

$$r^2 = (L/2)^2 + (r-p)^2$$

En développant on obtient

$$r^2 = L^2/4 + r^2 - 2r.p + p^2$$

donc $L^2 = 4\,(2\,r.p - p^2)$

donc $L = 2\,\sqrt{(2\,r.p - p^2)}$

Ce qui donne en remplaçant par les valeurs numériques.

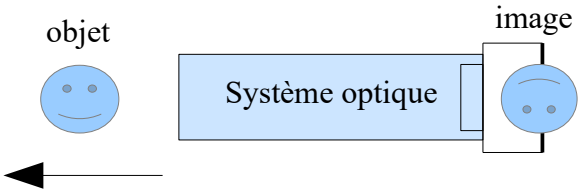
$L = 2\,\sqrt{(2x30x4 - 4x4)} = 2\,\sqrt{(240-16)} \approx 30$ mm

**Conclusion :**

On trouve qu'il faut creuser <u>une gorge de 30 mm de largeur pour que le tube s'enfonce d'une profondeur de 4 mm</u> dans le bois. Les élèves ont creusé une gorge d'une profondeur de 5 mm avec charlyrobot pour avoir une marge de 1 mm. Le résultat a été celui calculé.

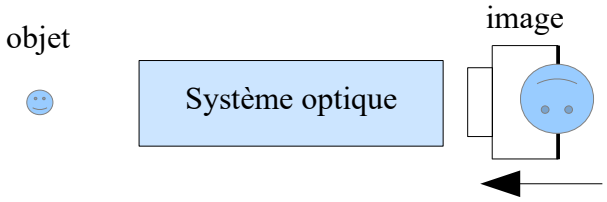
**4. Le stacking avec le microscope découplé**

Pour obtenir des images, classiquement **on déplace l'objet** ou **l'ensemble du système optique et du capteur** sur la profondeur de netteté de l'objet observé (la profondeur de champ notée pdc).
Cette pdc est très faible avec les objectifs de microscopie. Elle est de l'ordre du micromètre pour les objectifs x10 à x40.Il y a donc des contraintes mécaniques importantes. Il faut des systèmes très précis.




Le stacking classique

Cependant, on agrandit l'objet en microscopie pour obtenir des **image plus grande (entre 2x et 40x).** L'idée est non plus d'étudier l'objet mais son image. On sépare le système optique du capteur. La précision mécanique nécessaire est donc réduite. L'avantage est multiple. Moins de vibrations et un éclairage plus constant sur l'objet.

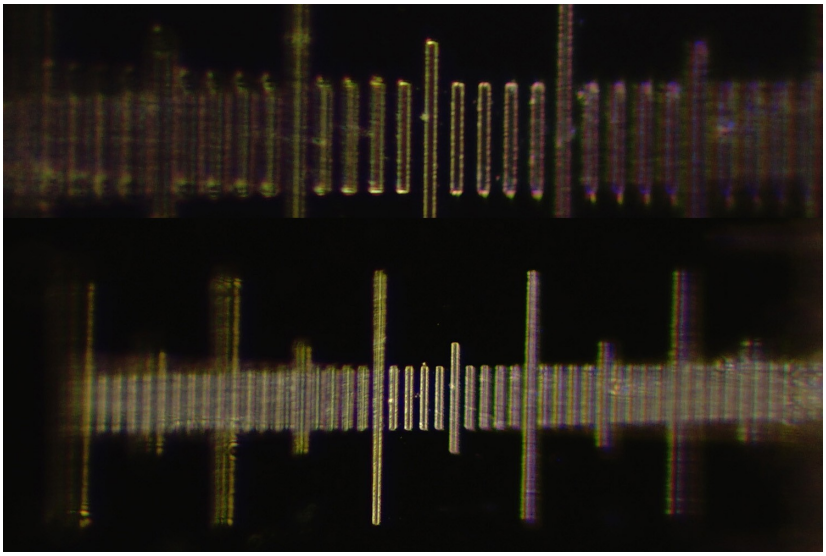



Le stacking découplé

**5. La diffraction**

**a. Pratique**

Observons une mire micrométrique avec des graduations de 10 µm inclinée à 10° (par rapport à la perpendiculaire à l'axe optique) avec un objectif x20 avec indiqué dessus ON =0,4. Nous utilisons deux lentilles de tubes différentes. La netteté sur cette mire (la pdc) est de l'ordre de 2 graduations soit 20 µm dans les deux cas. La pdc ne dépend donc pas du grandissement comme en photographie classique. Ceci correspond à une profondeur réelle de netteté pdc = 20 µm x sin (10 °) ≈ 3,5 µm.



**b. Théorie**

Le caractère ondulatoire de la lumière entraîne des conséquences physiques comme la pdc en **microscopie**. Observer **un point revient à former une tache** agrandit par le système sur le capteur. Le capteur voit donc des taches ce qui donne une profondeur de champ. Sur ce lien, la théorie est expliquée et nous donne une profondeur de champ liée à la diffraction par la relation suivante. ON est l'ouverture numérique indiquée sur les objectifs à coté du grandissement.

$$pdc \approx 1{,}22.\lambda/ON^2$$

Exemple : Prenons $\lambda = 0{,}5$ µm (vert), on trouve alors PdC $= 1{,}22 \times 0{,}5 /(0{,}4)^2 \approx 3{,}8$ µm

| |
|---|
| La théorie et la pratique donnent donc des valeurs similaires. On peut avec notre microscope observer cette concordance théorie et pratique.<br>Cette relation nous permet de calculer le pas de stacking «classique». |

**6. Les objectifs de microscopie utilisés pour le stacking**

**a. Quelques objectifs**

Un objectif se comporte comme une lentille presque parfaite. Il a été corrigé des défauts que comporterait une lentille seule. Mais pour observer des objets tridimensionnels, il faut des objectifs adaptés présentant certaines caractéristiques, utiles dans l'industrie.

**On observe différentes inscriptions en plus de l'ouverture numérique**

**WD** : Distance de travail en anglais. On a ainsi WD = 30 mm pour l'objectif de droite. C'est la distance entre le bout de l'objectif et l'objet observé. Nous avons des objectifs à longue distance de travail.

**Plan** : Ils forment des images planes de l'objet observé C'est très important pour recoller nos images sans déformation.

**APO (**apochromatique) : Ils sont corrigés pour que les différentes couleurs.

∞ : Les objectifs sont corrigés à l'infini. Ils doivent être couplés avec une lentille de tube.

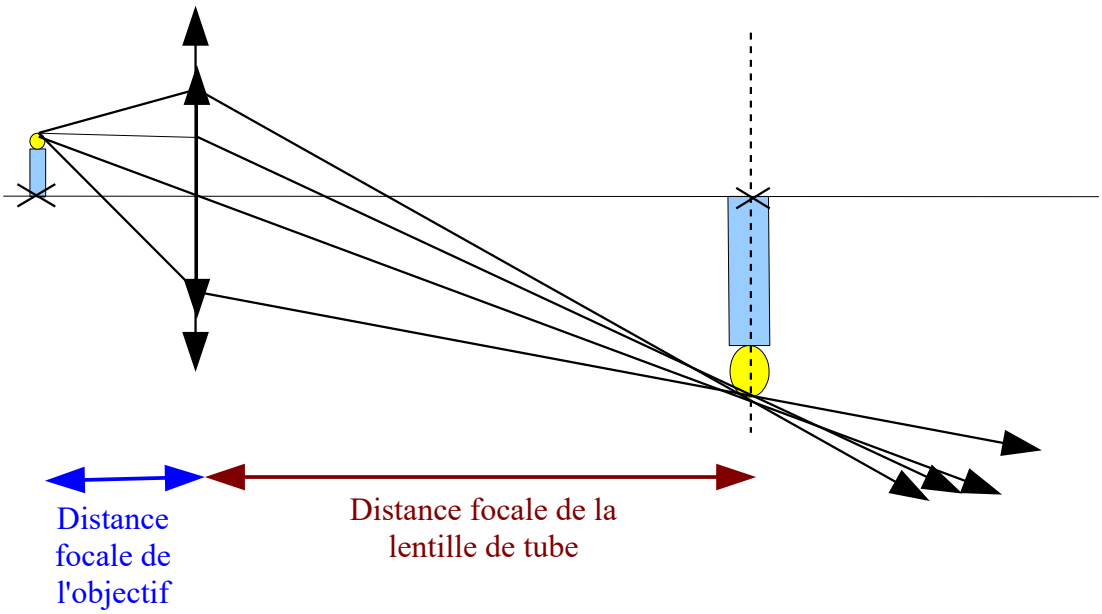
**f =200 mm** : C'est la distance focale de la lentille de tube du fabricant.

**b. Le système des objectifs corrigés à l'infini**

Le système des objectifs corrigés à l'infini comporte donc deux systèmes. Le premier est **l'objectif**. On lui couple une lentille de tube qui fera converger les rayons lumineux provenant de l'objectif. Une image se formera derrière la lentille de tube à une distance égale à sa distance focale.

Schéma de principe d'un montage avec des objectifs infinis

L'objectif et la lentille de tube sont ici accolés mais ce n'est pas obligatoire tant qu'il n'y a pas de vignettage.



## 7. Influence de la lentille de tube

La lentille de tube permet d'obtenir une image à une distance contrôlée par elle. Ce système permet de faire varier **le grandissement optique** du système et/ou adapter **la taille de l'image à celle du capteur.** Ce grandissement sera une conjugaison de l'objectif corrigé à l'infini et de la lentille de tube (notée LT)

### a. Proportionnalité du grandissement et de la distance focale de la LT

Le grandissement est le rapport entre la taille de l'image et celle de l'objet (H/h sur le schéma ci-dessous). Il est proportionnel géométriquement avec la distance focale de la lentille de tube (D) puisque H/h = D/d par Thalès. Si D augmente le grandissement augmente proportionnellement et inversement.

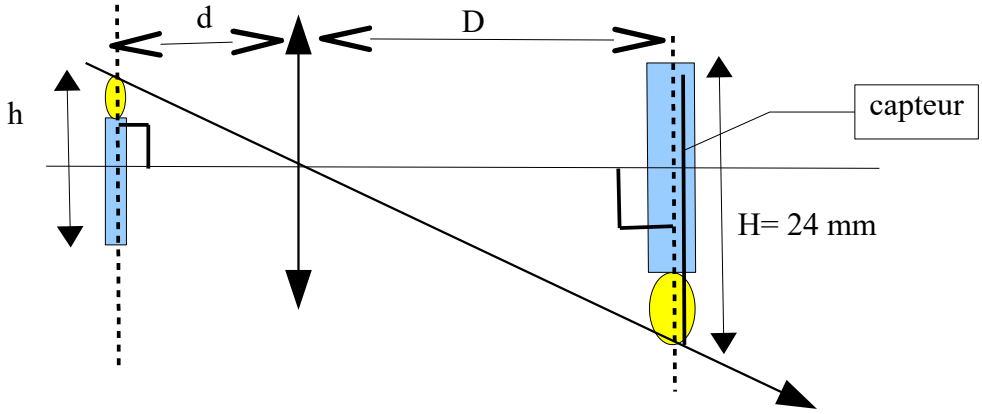
Nous avons ici deux images obtenues avec un objectif x10 (∞) avec **deux lentilles de tube différentes**. On observe un réglet gradué à 0,5 mm avec un capteur APS-C de 24 mm de large. Pour respecter les corrections optiques, le capteur est toujours placé à la distance focale de ces lentilles dans nos expériences. Notre système le permet à travers des tubes adaptateurs.

Lentille n°1 : distance focale de 205 mm  Lentille n°2 : distance focale de 125 mm

| On mesure | Largeur de l'image H | Distance focale D | Largeur de l'objet h | Grandissement observé (H/h) |
|---|---|---|---|---|
| Lentille n°1 | 24 mm | 125 mm | 3,8 mm | 6,3 |
| Lentille n°2 | 24 mm | 205 mm | 2,5 mm | 9,6 |

### b. Pratique et théorie

La lentille de 205 mm donne une grandissement proche de l'indication donnée par le constructeur (x10) puisque la lentille de tube du fabricant a pour standard une distance focale de 200 mm.

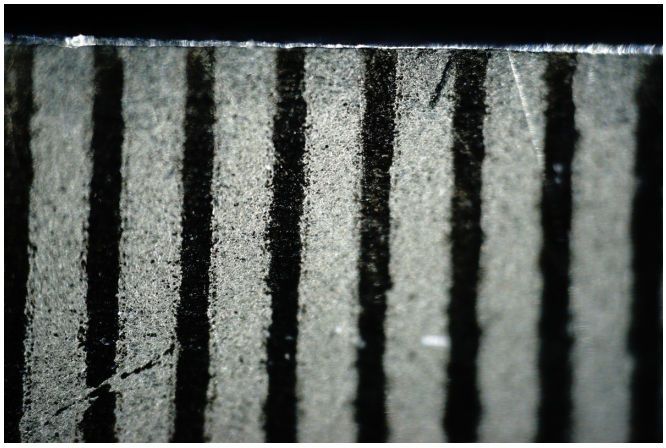



Le rapport entre les distances focales $D_2/D_1$ est de **205/125 ≈ 1,6** ce qui est proche et compatible avec le rapport des grandissements **9,6/6,3 ≈ 1,5** en considérant les erreurs de mesures et d'expérimentations.

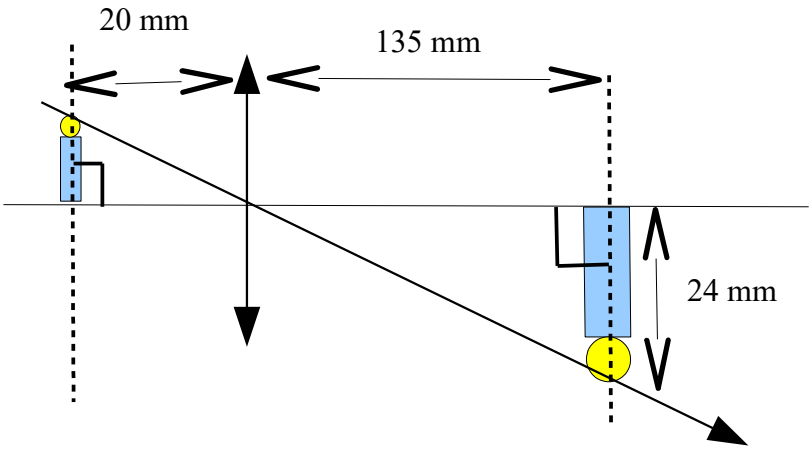
La proportionnalité entre **le grandissement (transversal) du système** et **la distance focale de la lentille de tube** est respectée pour un objectif donné (d fixé)

**8. Mesure du grandissement transversal et longitudinal pour une même configuration**
En fait, il y deux grandissements dans notre système. En effet, l'image formée par le microscope ne subit par le même grandissement selon l'axe optique (grandissement longitudinal) et dans un plan perpendiculaire à cet axe (grandissement transversal). On peut observer ces différences expérimentalement.

**a. Mesurer le grandissement transversal**
C'est le plus simple à mesurer. Une seule photographie suffit. C'est ce qui a été fait ci-dessus au 7. On a ici un capteur APS-C et un objectif x10. La largeur de l'image est celle du capteur donc 24 mm. L'objet observé a une largeur que l'on mesure sur la règle prise en photographie (graduations à 0,5 mm) soit 3,5 mm. Le grandissement perpendiculairement à l'axe optique est donc de 24/3,5 ≈ 6,8 par la mesure. La lentille tube est utilisée à sa distance focale de 135 mm.



**Que dit la théorie géométrique ?**
L'objectif est un 10x avec une lentille standardisée de 200 mm. Donc l'objectif a une distance focale de 20 mm puisque le grandissement serait de 10 si l'image se formait à 200 mm derrière la lentille de tube (soit un rapport de 200/20 = 10). C'est l'application directe des propriétés des triangles rectangles par Thalès.



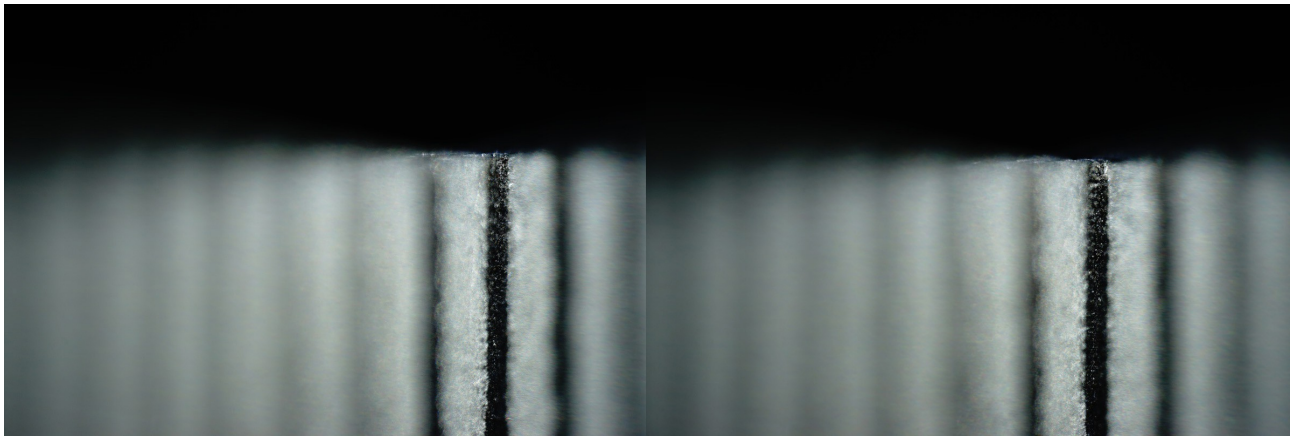

Or notre rapport est ici de 135/20 ≈ 6,7 par Thalès ce qui correspond bien à la mesure.

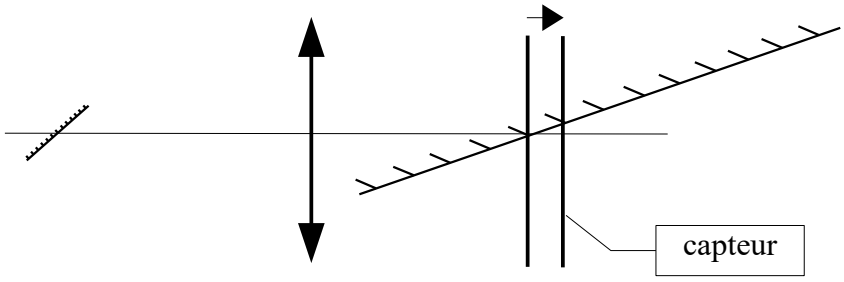
| |
|---|
| Il n'est donc pas nécessaire de mesurer expérimentalement le grandissement transversal. Il suffit de faire le rapport des distances focales entre la LT et l'objectif |

**b. Mesurer le grandissement longitudinal**

On peut accéder au grandissement longitudinal expérimentalement par une mesure plus subtile. Il faut alors incliner la règle par exemple à 45°. On peut mesurer sur la platine manfrotto (qui possède des graduations) les effets d'une variation d'un mouvement selon l'axe optique de l'appareil photographique. On positionne précisément la règle sur une graduation (même objectif que a.) et on repositionne l'appareil photographique sur sa platine pour retrouver la graduation suivante à l'écran de l'appareil photographique.

On observe ainsi sur la première image de gauche que la platine manfrotto est à 75 mm et que l'on doit reculer pour obtenir la graduation suivante (image de droite) la platine à 60 mm.
On mesure ainsi une variation de 15 mm autour de la distance focale. La distance LT/image est en moyenne à 132 mm (entre 125 mm et 140 mm). On observe une variation de 0,5 mm sur la règle or la règle est inclinée à 45°. Ce qui correspond par Pythagore à une pdc réelle divisée par $\sqrt{2}$ donc une pdc ≈ 0,35 mm.






**15 mm coté image <=> 0,35 mm coté objet**

L'image est plus grande d'un facteur 15/0,35 ≈ 43

**Que dit la théorie géométrique ?**

Le grandissement longitudinal doit être égal au grandissement transversal au carré (lien). Comme nous oscillons faiblement autour de 132 mm (proche de la distance focale de la LT) notre grandissement transversal est en moyenne de H/h=132/20 ≈ 6,6. Nous devrions donc trouver un grandissement longitudinal de $6{,}6^2 \approx 44$

| |
|---|
| La mesure pratique et le calcul théorique concorde très bien. Nous pouvons donc éviter de mesurer ce grandissement. Il suffira de prendre le rapport au carré des distances focales LT/objectif pour obtenir le grandissement longitudinal. |

## 9. Construction d'une image par stacking

### a. Calculer le pas de stacking

Pour stacker, on positionne le spécimen (un microminéral ou un petit animal) devant l'objectif du microscope. On doit connaître le pas d'avancement du coté image de la platine qui supporte l'appareil photographique en utilisant le tableau de référence (ci-dessous). Pour connaître le pas de stacking maximal on utilise la profondeur de champ calculée (diffraction). Cette profondeur est augmentée comme nous l'avons vu du coté du capteur par un facteur de grandissement longitudinal.
Nous calculons avec la lentille tube raynox de distance focale 125 mm (celle du collège) les pas de stacking utiles pour des objectifs courants.
Nous prendrons une longueur d'onde moyenne dans le visible pour le vert avec **λ = 0,5 µm.** Nous supposons que le capteur est à proximité de la distance focale de la lentille de tube et que les variations sont faibles. La platine manfrotto avance pour un tour de vis de 1 mm.

| **Objectifs avec grandissement transversal normalisé** | **x4** | **x5** | **x10** | **x20** |
|---|---|---|---|---|
| **Ouverture numérique indiquée (ON)** | **0,1** | **0,14** | **0,28** | **0,42** |
| **Grandissement transversal réel de l'image (G)** | **x2,5** | **x3,1** | **x6,25** | **x12,5** |
| **Grandissement longitudinal réel de l'image ($G^2$)** | **x6,25** | **x10** | **x39** | **x156** |
| **Profondeur de champ (diffraction)** | **61 µm** | **31 µm** | **7,8 µm** | **3,5 µm** |
| **Largeur de champ observé pour capteur APS-C de 24 mm** | **9,5 mm** | **7,5 mm** | **3,5 mm** | **1,8 mm** |
| **Largeur de champ observé pour capteur µ4/3 de 18 mm** | **7 mm** | **5,5 mm** | **2,5 mm** | **1,2 mm** |
| **Profondeur de champ de l'image (pdc x $G^2$)** | **381 µm** | **310 µm** | **304 µm** | **546 µm** |
| **Pas de stacking avec marge** | **0,25 mm** | **0,25 mm** | **0,25 mm** | **0,5 mm** |
| **Tour de vis de la platine entre chaque image** | **1/4** | **1/4** | **1/4** | **1/2** |

### b. Compiler informatiquement

Lorsqu'on a acquis les images avec l'appareil photo, on utilise un logiciel d'assemblage selon l'axe Z avec un ordinateur puissant capable de faire du traitement de l'image. Le logiciel utilisé est zerene stacker. Voici une image fabriquée à partir de 500 images par le système construit. La photo représente une largeur réelle de 1,2 mm obtenue avec un objectif de 20x et un capteur µ4/3 panasonic. Pour éviter que les variations du grandissement soient trop importantes (mm), on repositionne toutes les 40 images l'objet à la dernière image pour replacer l'appareil photo à la distance focale de la LT. Les logiciels de stacking étant adaptés à ce (léger) redimensionnement des images. On forme des piles d'images.

**Exemples de contraintes pour acquérir les images**

- Au 20x le repositionnement mécanique de l'objet a donc besoin d'une précision mécanique de 3 µm (pdc avec marge) x 40 =120 µm tandis que l'appareil photo oscillera de 0,5 mm x 40 = 20 mm par pas mécanique de 0,5 mm.
- Au 4x le repositionnement mécanique de l'objet a donc besoin d'une précision mécanique de 40 µm (pdc avec marge) x 40 =1600 µm tandis que l'appareil photo oscillera de 0,25 mm x40 = 10 mm par pas mécanique de 0,25 mm.

Classiquement, il faut trois piles d'images au 4x et une dizaine au 20x.

**10. Conclusion**

Le système de stacking par découplement du capteur et de l'optique est une méthode qui réduit les contraintes mécaniques et les vibrations. Le repositionnement de l'objet ne nécessitant qu'une précision supérieur à 100 µm. Sa difficulté vient du concept du grandissement longitudinal. Il est aussi performant que des systèmes lourds mais son automatisation, possible, est plus complexe. Son coût de fabrication est par contre bien faible.

**Épilogue**

Notre système demande un ordinateur et un logiciel spécialisé pour effectuer les calculs nécessaires à la construction des images. Nous espérons dans le futur construire au collège ces images. A l'heure actuelle nous ne pouvons les observer qu'isolement. Pour cette année nous nous sommes donc axé sur la construction et sur la conception du microscope. Il devrait pouvoir bientôt servir à l'observation de mondes microscopiques vivants et minéraux en physique-chimie et en SVT. Sa conception lui permet de faire également des films pour observer les petits animaux vivants comme ci-dessous. Le système permettra également la constuction d'images stéréoscopiques (3D).

Collembole sans stacking

Collembole avec stacking