

### Formules mathématiques d'optique appliquées aux (stéréo)microscopes

L'utilisation pointue du microscope ou du stéréomicroscope (appelé aussi loupe binoculaire) soulève un nombre important de question dont les fondements sont mathématiques. La recherche des réponses demande pour certaines de nombreuses heures de recherches parfois infructueuses.

Par exemple :

- quel plus petit objet puis-je discerner avec cet objectif ?
- pourquoi la profondeur de champ est-elle beaucoup plus faible en photo qu'en observation visuelle ?
- combien de megapixel doit avoir mon appareil photo pour afficher toute la résolution de mon objectif ?
- pourquoi mes photos sont nettes avec des objectifs forts et floues avec des objectifs faibles ?

Devant la complexité et la diversité des formules mathématiques utiles en microscopie, j'ai compilé certaines formules au fur et à mesure de mes recherches.

**$\lambda = 0.550 \mu\text{m}$** , longueur d'onde moyenne de la lumière visible (vert, qui correspond au pic de sensibilité de l'œil humain)

**ON** : ouverture numérique, pas d'unité

**n** : indice du milieu d'observation  $n = 1$  pour l'air,  $n = 1.515$  pour l'huile à immersion

**M** : grossissement total = objectif x zoom x tube intermédiaire x oculaire

**d** : distance minimale entre 2 détails discernables selon le critère de Rayleigh (sujet trop vaste pour être ici expliqué <http://www.microscopy.fsu.edu/primer/java/imageformation/rayleighdisk/s/index.html>) dont on peut déduire la taille de la plus petite structure visible =  $d/2$  (d'après Leica)

### Microscopes :

#### - Focale d'objectif

$$F_{obj} = TL / G_{obj} \text{ car } G_{obj} = TL / F_{obj}$$

TL (mm) : longueur mécanique du tube (160 si standard non infini, 170 sur les vieux Leitz)

$G_{obj}$  : grossissement commercial de l'objectif

#### - Résolution

$$d (\mu m) = (1.22 \times \lambda) / (ON_{objectif} + ON_{condenseur})$$

simplifiée car  $ON_{obj} = ON_{cond}$  (si le condenseur est réglé pour obtenir la meilleure résolution et non le meilleur contraste) en

$$d (\mu m) = (0.61 \times \lambda) / ON$$

<http://www.microscopy.fsu.edu/primer/anatomy/numaperture.html>

#### - Profondeur de champ visuelle

$$PDC_{vis} (\mu m) = n \times [\lambda / 2 \cdot ON^2 + 340 / (ON \times M)]$$

340  $\mu m$  : pouvoir séparateur de l'œil (plus petit détail visible à 25 cm) dite formule de Berek  
(source [Leica reSolution Industry No5](http://www.leica.com/na/reolution/industry/No5))

et

[http://industrial-microscope.olympus-global.com/en/ga/terms/focal\\_depth.cfm](http://industrial-microscope.olympus-global.com/en/ga/terms/focal_depth.cfm)

)

#### - Profondeur de champ photo

$$PDC_{photo} (\mu m) = n \times [\lambda / 2 \cdot ON^2 + e / (ON \times M)]$$

$e (\mu m)$  : plus petite distance résolue par le capteur placé au plan image de l'objectif  
(correspondant à 3 photosites)

d'après <http://www.microscopyu.com/articles/formulas/formulasfielddepth.html>

### Stéréomicroscopes :

- *Résolution* (articles Leica, doc Leica MacroFluo)

$$d \text{ (mm)} = 1 / \text{lp / mm}$$

$$\text{lp / mm} = 3000 \times \text{ON}$$

$$d \text{ (}\mu\text{m)} = (0.61 \times \lambda) / \text{ON}$$

La résolution des stéréomicroscopes est souvent donnée en lp/mm : line pair per millimeter, paire de ligne par mm

- *Profondeur de champ visuelle*

$$\text{PDCvis (}\mu\text{m)} = \lambda/2 \cdot \text{ON}^2 + 340 / (\text{ON} \times M)$$

340  $\mu\text{m}$  : pouvoir séparateur de l'œil (plus petit détail visible à 25 cm) dite formule de Berek

(source

[Leica](#)

[reSolution Industry No5](#)

)

- *Profondeur de champ photo*

$$\text{PDCphoto (}\mu\text{m)} = \lambda/2 \cdot \text{ON}^2 + e / (\text{ON} \times M)$$

e ( $\mu\text{m}$ ) : plus petite distance résolue par le capteur placé au plan image de l'objectif

(correspondant à 3 photosites)

d'après <http://www.microscopyu.com/articles/formulas/formulasfielddepth.html>

- *Ouverture Numérique en fonction de la position du zoom*

$$\text{ON} = \sin \arctan (D/2f)$$

ON = D/2f est une bonne approximation

f (mm) : focale de l'objectif (la focale de l'objectif des Wild M3 et M8 est 100 mm, celle de la M10 et MZ16 est 80 mm, celui de la MBS-10 est 90 mm, il est cependant facile de le calculer)

Il faut mesurer la pupille d'entrée D (mm) :

- démonter la tête bino de votre bino CMO ainsi que son objectif frontal
- déposer le corps de la bino à l'envers : il faut que de la lumière puisse entrer par les lentilles qui se retrouvent en dessous. L'idéal est de le monter à l'envers sur le statif
- éclairer légèrement la platine
- poser un réglet sur le corps de façon à pouvoir mesurer le diamètre du champ lumineux au travers du zoom : veillez à ne pas introduire d'erreur de parallaxe. Si le contre-jour vous gêne pour mesurer, aidez-vous d'une lampe de poche
- mesurer le diamètre de lumière visible pour chaque position du zoom
- faire 2 ou 3 fois les mesures

- faire un tableau avec les valeurs de zoom dans une colonne et les pupilles d'entrée dans l'autre

- tracer la courbe pupille = f(zoom) : la relation est linéaire (une droite) de type  $y = ax+b$  ce qui permet de corriger les erreurs de mesure.

Source [http://en.wikipedia.org/wiki/Numerical\\_aperture](http://en.wikipedia.org/wiki/Numerical_aperture) et <http://www.mikroskopie-mikrofotografie.de>

rubrique Stereomikroskop, technische Daten

Gérard Weiss a décrit une méthode qui me paraît plus rigoureuse dans son article [Ouverture numérique d'une loupe binoculaire : comment l'établir ?](#)

Jim Elder a écrit trois méthodes expérimentales permettant la mesure de l'ON d'après une image <http://web.ncf.ca/aa456/misc/resolution/>

□

### Oculaires :

formules d'après Gérard Weiss <http://www.lenaturaliste.net/forum/viewtopic.php?style=1&f=57&t=7222&p=36798#p36798>

G (x): grossissement indiqué sur l'oculaire

D (mm) : diamètre du diaphragme de l'oculaire, aussi appelé indice de champ ou Field Number

F (mm) : focale de l'oculaire

a (degré) : champ angulaire

- *Grossissement commercial et focale de l'oculaire*

$$G = 250 \text{ mm} / F$$

$$F = 250 \text{ mm} / G$$

- *Champ angulaire*

$$a = 2 \times \text{Arctan}(D/2F)$$

- *Indice de champ* (Field Number, diamètre du diaphragme)

$$D = 2 \times F \times \tan(a/2)$$

□

### Prise de vue numérique :

- *Ouverture minimale* en deçà de laquelle les effets de la diffraction se font sentir (perte de piqué = perte de résolution)

Fnumber = taille photosite  $\mu \times 2.12$  (source La pratique du reflex numérique, René Bouillot)

□

### - *Résolution optimale*

$$\text{Megapixels} = (\text{ON} \times 3000 \times \text{Champ APN} \times 4)^2 \times 3/4 / 10^6$$

Cette formule s'applique si le champ rectangle de l'APN est inscrit dans le cercle image du microscope au plus juste (pas de vignettage : diagonale APN = diamètre cercle image microscope), sinon il faut corriger le champ

explication de la formule :

ONx3000 : potentiel de résolution de l'optique exprimé en lp/mm

Champ APN : largeur du champ vu par l'APN, exprimé en mm

x4 : il faut 4 photosites par paire de ligne pour capturer de façon optimale l'information de résolution (3 photosites suffisent pour un capteur monochrome)

$^2 \times 3/4$  permet de retrouver le nombre total de photosites suivant le format du capteur (ici APN compact format 4/3)

/  $10^6$ : exprimé en Megapixel

Source [Leica The Leading Investigator n°6](#)

### - *Latitude de mise au point*

La latitude de mise au point est l'espace dans lequel le plan du capteur peut être positionné en ayant une image nette.

$$\text{Latitude de mise au point} = 8 \times ((\text{ON}_{\text{obj}} + \text{M}_{\text{obj}})^2)$$

Formule écrite par moi-même à partir des données de <http://www.microscopyu.com/articles/formulas/formulasfielddepth.html>

Elle n'est pas mathématiquement démontrée mais elle modélise parfaitement les données ci-dessus.

La latitude de mise au point varie en fonction de l'ouverture numérique et du grossissement de l'objectif, dans le sens inverse de la profondeur de champ.

Cela explique pourquoi il est difficile d'avoir une photo nette à faible grossissement.

### - *Z-stacking (CombineZP, Zerene Stacker, Helicon Focus) : reconstitution de la profondeur de champ par logiciel*

Je conseille d'utiliser un pas entre chaque cliché de la pile permettant un chevauchement de 30% des zones nettes (expérience personnelle, confirmée par [Ch. Krebs](#)).

$$\text{pas} = 70\% \times \text{Profondeur de champ photo}$$

### - *APN compacte : appareil photo compact à objectif intégré*

Les calculs prenant en compte le grossissement total doivent faire référence au grossissement au niveau du capteur (source [Ch. Krebs](#))

L'équivalent-projectif incluant l'objectif de l'APN se calcule :

$$\text{M}_{\text{proj\&obj}} = (\text{ focale zoom APN}/250) \times (\text{M}_{\text{projectif}})$$

Le grossissement au niveau du capteur :

$$\text{M}_{\text{capteur}} = \text{M}_{\text{objectif}} \times \text{M}_{\text{proj\&obj}}$$

L'indice de champ du capteur (Field Number), permettant de calculer le champ visible par le capteur :

$$FN_{\text{capteur}} = \text{diagonale capteur} / M_{\text{capteur}}$$

La diagonale du capteur correspond à l'hypoténuse du triangle rectangle

$$\text{Diagonale capteur} = \sqrt{(\text{longueur capteur}^2 + \text{largeur capteur}^2)}$$

$$\text{Champ APN} = FN_{\text{capteur}} / M_{\text{objectif}}$$

- DSLR : appareil photo reflex sans objectif

Je vous conseille de vous référer aux travaux de [Ch. Krebs](#), microphotographe renommé, qui fait autorité en la matière.

### Macrophotographie :

- *Résolution* pour  $ON \leq 0.33$

$$ON = 1 / (2 \text{ Fnumber})$$

[http://en.wikipedia.org/wiki/Numerical\\_aperture#Numerical\\_aperture\\_versus\\_f-number](http://en.wikipedia.org/wiki/Numerical_aperture#Numerical_aperture_versus_f-number)

<http://en.wikipedia.org/wiki/F-number>

le F-number est l'ouverture maximale d'un objectif photo notée après sa focale. Ex : 50 mm / 2.8

- *Profondeur de champ* pour  $ON \leq 0.2$  (fiche macrophoto Volker Betz 2007 sur forum <http://www.strahlen.org>)

$$PDC(\mu\text{m}) = \lambda / (ON^2)$$

- *Ouverture minimale* en deçà de laquelle les effets de la diffraction se font sentir (perte de piqué = perte de résolution)

$$\text{Fnumber} = \text{taille photosite } \mu \times 2.12 \text{ (source La pratique du reflex numérique, René Bouillot)}$$

- *Profondeur de champ*

$$PDC(\text{mm}) = 2 \times \text{Fnumber} \times \text{Coc} \times [(G+1)/G^2]$$

G = grandissement au niveau du capteur

Coc = [Cercle de confusion de votre APN](#)

(source "Pratique de la macrophoto" P. Durand, Ed. P. Montel 1981)

## Formules mathématiques d'optique appliquées aux (stéréo)microscopes

Écrit par PierreH

Mardi, 05 Octobre 2010 11:32 - Mis à jour Samedi, 28 Janvier 2012 20:41

---

NB : les formules de résolution et de profondeur de champ sont toujours approximatives (on parle d'approximation "raisonnable") car elles dépendent de nombreux facteurs.

N'hésitez pas à me faire part d'éventuelles erreurs ou compléments utiles [sur le forum](#) !  
Cet article est mis à jour en fonction de l'état de mes connaissances.