

Zeitschrift: Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 31 (1895)
Heft: 117

Artikel: Du rôle des phénomènes de diffraction dans la formation de l'image microscopique
Autor: Amann, J.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-264363>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 17.05.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

noire est due principalement à la présence des algues, mais que l'existence des Podurelles étant liée à celle du *Protococcus*, ces insectes peuvent dans certaines circonstances contribuer par leur nombre à former des taches colorées.

M. le prof. de Molin, de Lausanne, qui faisait partie de l'expédition au col de Fenêtre, affirme, conformément à notre hypothèse, qu'il y avait au-dessous des Podurelles une couche de véritable neige rouge, occasionnée comme d'ordinaire par le *Protococcus nivalis*. (Note du traducteur.)

DU ROLE DES PHÉNOMÈNES DE DIFFRACTION

DANS LA

FORMATION DE L'IMAGE MICROSCOPIQUE

PAR

J. AMANN, pharmacien.

(Communication faite à la séance du 19 décembre 1894.)

I

On croyait encore, il y a quelques années, que la manière dont se forme l'image que le microscope nous donne des objets que nous lui soumettons, était un phénomène dioptrique relativement simple, ne relevant que des lois de l'optique géométrique. Le fonctionnement du microscope était représenté par la figure classique composée de trois flèches, petite et grandes, l'une représentant l'objet, l'autre l'image réelle qu'en donne l'objectif dans le plan coordonné au plan objectif, la troisième, enfin, l'image virtuelle finale résultant de l'observation de l'image réelle au moyen de la lentille oculaire.

Aujourd'hui, ensuite des beaux travaux de Helmholtz sur la théorie des instruments d'optique et de ceux d'Abbé sur celle du microscope, nous avons acquis la certitude que les phénomènes qui accompagnent et déterminent la formation de l'image mi-

croscopique, sont, pour la plupart, d'un ordre tout différent et qu'ils ne dépendent que pour une petite partie des lois de la dioptrique.

L'image microscopique des structures, formées d'éléments présentant des différences dans certaines de leurs propriétés optiques capables d'exercer des actions variables sur le mouvement vibratoire lumineux, n'est pas produite selon les lois de l'optique géométrique : ces structures donnent lieu, sous le microscope, à des phénomènes de diffraction assimilables à ceux produits, par exemple, par les réseaux.

Du fait capital que je viens d'énoncer, découlent un grand nombre de conséquences également importantes pour la théorie et la pratique du microscope. Il fait le sujet de la théorie qui porte, à juste titre, le nom du professeur Abbé de Jéna. Cette théorie, malheureusement encore trop peu connue (grâce au peu d'accessibilité et à la dispersion des recueils périodiques dans lesquels elle a été publiée), explique avec une précision toute mathématique une foule de phénomènes auparavant incompris ou mal interprétés. Elle représente, en quelque sorte, l'application directe au microscope de la théorie si féconde, que nous devons surtout au génie de Fresnel, de l'interférence des vibrations ondulatoires. On peut dire, sans exagération, qu'elle a révolutionné nos idées sur la manière dont le microscope fonctionne, en démontrant que la formation de l'image relève, en général, des lois de l'interférence et de la diffraction.

Je voudrais, Messieurs, vous exposer aujourd'hui, d'une façon qui sera nécessairement très sommaire, quelques points de cette théorie d'Abbé, qui a fait l'objet de mes études pendant ces dernières années. Je voudrais vous décrire et discuter avec vous une expérience que j'ai imaginée pour en démontrer l'une des conséquences principales, à savoir le rôle que joue la longueur d'onde de la lumière dans les phénomènes dont dépend la formation de l'image microscopique.

La structure placée devant l'objectif du microscope, joue ici exactement le même rôle que le diaphragme ou le réseau placé devant l'objectif de la lunette d'approche dans l'expérience classique de Fraunhofer. Je rappellerai, en quelques mots, qu'en examinant une surface lumineuse limitée, en plaçant sur le trajet des rayons un réseau simple, composé de lignes parallèles très rapprochées, on aperçoit, de chaque côté de l'image de la source lumineuse, un certain nombre d'images secondaires ou franges

éclairées, séparées par des intervalles obscurs. L'ensemble de ces images forme le *spectre de diffraction* du réseau employé. L'image centrale qui présente l'intensité maximum de lumière, est formée par les rayons qui n'ont pas subi de diffraction : elle porte le nom de *maximum absolu*. Les images secondaires ou franges éclairées sont les *maxima de second ordre* de Fraunhofer.

Je ne veux pas faire ici la théorie de la diffraction par les réseaux, il me suffira de dire que l'analyse mathématique appliquée à ce phénomène, nous conduit à une formule générale, représentant la distribution de l'intensité lumineuse dans le plan où vient se former le spectre de diffraction. Cette formule peut être décomposée en trois facteurs principaux, dont deux sont périodiques. Le premier est de la forme $\frac{\sin^2 u}{u^2}$, le second de celle $\frac{\sin^2 x u}{\sin^2 u}$. Ces facteurs périodiques déterminent la formation de maxima et de minima de l'intensité lumineuse¹.

Le lieu des maxima n'étant pas le même pour les différentes longueurs d'onde, les images secondaires ou franges sont colorées des couleurs du spectre solaire, lorsqu'on emploie la lumière blanche; les couleurs spectrales sont disposées de telle manière que la distance au maximum absolu va en augmentant avec la longueur d'onde.

Dans le cas d'une structure microscopique, le spectre de diffraction, c'est-à-dire l'image de la source lumineuse modifiée

¹ Je rappellerai ici que les *maxima de 1^{er} ordre* sont ceux que l'on observe de chaque côté du maximum absolu lorsqu'on place, entre la source lumineuse et l'œil, une simple ouverture ou une simple fente. Ils correspondent au premier terme périodique de la formule générale donnée par Schwerd pour la distribution de l'intensité lumineuse dans le plan du spectre de diffraction, tandis que les *maxima de 2^e ordre* dépendent du second terme périodique de cette formule. On trouve les désignations de *maxima* ou spectres de 1^{er}, 2^e, 3^e... ordre appliquées à la 1^{re}, 2^e, 3^e... rangée des maxima de 2^e ordre: ces désignations sont inexactes et ne correspondent pas à la nomenclature de Fraunhofer et à celle de Schwerd, qui a donné la théorie complète de ces phénomènes. La deuxième fonction périodique présentant en outre des maxima secondaires, la théorie indique la formation de spectres de 3^e ordre. Mais la valeur de ces maxima se rapprochant de plus en plus de 0 à mesure que le nombre des éléments augmente, ils disparaissent bientôt, pour peu que ce dernier soit un peu considérable et les maxima de second ordre sont alors seuls visibles.

par son passage à travers la structure, vient se former dans le plan focal supérieur de l'objectif, lorsque cette source lumineuse est très éloignée.

La répartition de l'intensité lumineuse dans ce spectre de diffraction peut être déterminée par la même méthode que pour les réseaux, mais il est très rare qu'une structure microscopique puisse être assimilée à un réseau semblable à ceux qu'emploient les physiciens, composé d'alternatives obscures et transparentes. Dans un certain nombre de cas, ces structures microscopiques régulières peuvent être assimilées aux réseaux tracés sur les écrans transparents, étudiés par Quincke et Jochmann¹.

La formule qui exprime la distribution de l'intensité lumineuse dans le plan du spectre de diffraction produit par ces réseaux, ne diffère de celle donnée par Schwerd pour les réseaux ordinaires que par l'introduction des facteurs correspondant à l'épaisseur de l'écran et à son indice de réfraction². L'introduction du premier de ces facteurs détermine la formation de minima secondaires et produit, par conséquent, une plus grande intensité lumineuse des maxima.

L'image finale de la structure résulte de l'interférence, dans le plan de l'image, des rayons émanant de ce spectre réel de diffraction. C'est-à-dire que *la répartition de l'intensité lumineuse dans le plan de l'image n'est que la représentation dioptrique de la répartition de l'intensité dans le spectre virtuel correspondant au spectre réel, que l'on se représente projeté dans le plan de la structure*³.

Pour déterminer cette répartition de l'intensité lumineuse dans le plan de l'image, il faut donc chercher tout d'abord l'expression mathématique de la répartition de l'intensité dans le spectre virtuel, en tenant compte de la gradation de la phase des vibrations dans ce spectre, puis en déduire par l'analyse l'expression du mouvement vibratoire en chaque élément de surface dans le plan de l'image, c'est à-dire l'intensité lumineuse pour chaque point de l'image, telle qu'elle résulterait de

¹ Conf. Quincke, *Optische Untersuchungen*. Poggendorf ; An.vol. CXXXII, pag. 361 et seq. et Jochmann l. c. vol. CXXXVI.

² Conf. Wüllner *Lehrbuch der Exper. Physik*, 2^{ter} Band. page 474.

³ Conf. Dippel, *Handbuch der Allgem. Mikroskopie*, 2^{te} Aufl., page 135 et seq.

l'interférence de tous les rayons qui émaneraient du spectre virtuel.

Je ne veux pas m'étendre ici sur la méthode d'analyse suivie; il me suffira de dire que l'expression mathématique de ce mouvement vibratoire prend la forme générale d'une intégrale de Fourier. La répartition de l'intensité lumineuse qu'elle représente correspond à l'image de la structure considérée *dans les conditions particulières de délimitation du spectre réel de diffraction fournies par l'expérience.*

Ceci posé, nous remarquerons que ces conditions de délimitation du spectre réel produit par la structure, dépendent de l'appareil optique du microscope en ceci que la portion de ce spectre qui peut contribuer à la formation de l'image est déterminée par l'*ouverture* de l'objectif, c'est-à-dire par le rapport

$$a = \frac{\rho}{f}$$

entre sa distance focale f et le rayon ρ de son *iris*¹. Cette portion du spectre étant limitée par l'iris de l'objectif, *seules les parties du spectre de diffraction que ce dernier a pu admettre, étant donnée son ouverture, concourront à la formation de l'image.*

Un des résultats les plus importants, au point de vue pratique, qui découlent de cette théorie d'Abbé, est le suivant :

L'image microscopique d'une structure telle que nous l'avons admise, ne peut être la représentation exacte et complète de cette structure, que dans le cas particulier où le spectre de diffraction tout entier peut être admis par l'objectif.

Dans le cas général où *une partie* seulement des rayons diffractés contribuent à la formation de l'image, celle-ci n'est et ne peut être que la représentation d'une structure qui correspondrait à la partie du spectre admise, c'est-à-dire d'une structure idéale qui donnerait un spectre *complet* identique à la portion admise par l'objectif de celui fourni par la structure considérée.

Le cas peut par conséquent se présenter, et il se présente fréquemment, que le microscope nous donne des images identiques

¹ Je ne puis donner ici la définition complète de ce que l'on entend par ce terme dans la théorie optique du microscope. Pour se rendre compte de ce qu'est l'iris de l'objectif, il suffit de mettre le microscope au point sur une préparation quelconque, d'enlever l'oculaire et d'examiner la surface circulaire éclairée qui forme l'iris. Mais celle-ci peut être modifiée par l'appareil d'éclairage et par la nature de la préparation.

de structures différentes et des images différentes de structures identiques. En effet, des structures différentes donneront toujours des spectres de diffraction différents, mais il est possible que cette différence réside précisément dans la portion des deux spectres qui n'a pu être admise par l'objectif, faute d'une ouverture suffisante, portion qui ne peut, par conséquent, jouer aucun rôle dans la formation de l'image. Le second cas se présentera lorsque, par suite des conditions particulières de l'expérience, des portions différentes de spectres identiques ou d'un seul et même spectre concourront à la formation de l'image.

Dans le cas particulier où la portion admise du spectre de diffraction se réduit au maximum absolu, il ne peut y avoir d'interférence et toute image de la structure disparaît. Dans le cas d'une structure assimilable à un réseau simple, il faut et il suffit qu'au moins *un* maximum de deuxième ordre soit admis par l'objectif en même temps que le maximum absolu, pour que le microscope puisse nous fournir une image de la structure. Dans le cas plus compliqué de structure croisée, il faut, pour qu'une image d'une telle structure puisse se former, qu'outre le maximum absolu, au moins *deux* maxima de deuxième ordre, non placés en ligne droite avec ce dernier, puissent concourir à sa formation.

On voit donc, et ceci est un point capital de la théorie du microscope, qu'il n'y a pas de rapport fixe et invariable entre une structure donnée et l'image que le microscope nous en donne et que le degré de fidélité de l'image d'une structure microscopique dépend en premier lieu du rapport entre la quantité totale des rayons diffractés et celle admise par l'objectif.

Nous ne pouvons donc conclure à une représentation exacte et complète d'une structure que dans le cas où tous les maxima d'intensité appréciable de son spectre de diffraction seront admis par l'objectif. Or, toutes choses égales d'ailleurs, l'intensité de ces maxima étant proportionnelle au carré du nombre des éléments, elle sera toujours relativement très grande, et le nombre de ces maxima qui devront être admis peut devenir très considérable ¹.

¹ Ceci est surtout vrai pour les structures assimilables aux réseaux tracés sur des écrans transparents, pour lesquelles l'intensité lumineuse des maxima devient plus considérable par suite de l'introduction du facteur

$\frac{d}{\lambda}$ dans la formule.

Les facteurs qui déterminent la portion du spectre de diffraction qui pourra concourir à la formation de l'image sont au nombre de trois (pour des structures régulières) ; l'écartement e des éléments de la structure, la longueur d'onde λ de la lumière employée et l'angle d'ouverture $2u$ de l'objectif¹. Quel que soit le nombre des éléments, nous savons que les maxima se trouvent constamment aux endroits pour lesquels nous aurons la relation

$$\sin \alpha = m \frac{\lambda}{e}$$

m étant un nombre entier quelconque. La distance du maximum de deuxième ordre le plus rapproché du maximum absolu (faisant partie de la I^{re} rangée de ces maxima) est exprimée par la relation

$$\sin \alpha_1 = \frac{\lambda}{e}$$

α désignant l'angle que fait avec le faisceau non diffracté correspondant au maximum absolu, la direction du faisceau correspondant au premier maximum de deuxième ordre.

Si nous examinons maintenant ces maxima dans le plan focal supérieur de l'objectif, leur distance linéaire ε mesurée du milieu du maximum absolu au milieu du maximum de deuxième ordre, sera exprimée par

$$\varepsilon = f \frac{\lambda}{e}$$

f étant la distance focale du système.

J'arrive maintenant à la description et à la discussion de l'expérience que j'ai imaginée pour démontrer *à priori* le rôle de la longueur d'onde dans les phénomènes de diffraction aboutissant à la formation de l'image microscopique, c'est-à-dire à la partie originale de ce travail.

En appliquant les considérations qui précèdent à des structures telles, par exemple, que celles des valves des diatomées, chez lesquelles l'écartement linéaire des stries peut devenir de

¹ En outre, comme la valeur de λ pour la même couleur et l'ouverture de l'objectif, dépendent de l'indice de réfraction n du milieu, il y aura lieu de tenir compte de cet indice si nous prenons pour base de nos calculs la longueur d'onde et l'angle d'ouverture dans l'air.

l'ordre de grandeur de la longueur d'onde de la lumière, on obtient les résultats suivants. Je prendrai comme exemple le *Pleurosigma angulatum*, l'un des tests les plus connus, avec 1600 à 1800 stries environ au millimètre, ce qui donne pour e une valeur moyenne de 0,00055 mill. = 0,55 μ .

En adoptant pour λ des valeurs correspondant aux parties utilisables du spectre solaire et comprises par conséquent entre 0,4 et 0,7 μ , nous obtenons pour l'angle α de divergence des premiers maxima de deuxième ordre des valeurs comprises entre 46° et une valeur imaginaire α , $> 90^\circ$.

En admettant pour λ de la lumière blanche, une valeur moyenne $\lambda = 0,55 \mu$, correspondant à la région comprise entre les raies D et E du spectre solaire où l'intensité lumineuse atteint son maximum, $\sin \alpha_1$ devient = 1 et $\alpha_1 = 90^\circ$. Or 90° de chaque côté du maximum absolu, donne 180°, qui devrait être l'angle d'ouverture de l'objectif pour que, dans ces conditions, il puisse nous donner une image quelconque de la structure. Cette limite théorique ne pouvant être atteinte dans la pratique, il s'ensuit que pour l'incidence normale correspondant à la formule $\sin \alpha_1 = \frac{\lambda}{e}$, aucun objectif ne pourra donner une image quelconque d'une telle structure. Mais dès que l'incidence devient oblique, ce qui est toujours le cas dans le microscope, la formule ci-dessus devient pour le maximum d'obliquité

$$\sin \alpha_1 = \frac{\lambda}{2e}$$

et nous obtenons pour α_1 , dans les limites correspondant à $\lambda = 0,4$ à 0,7 μ , des valeurs comprises entre 21° et 39°, exigeant des angles d'ouverture de l'objectif compris entre 42° et 78°, et, pour $\lambda = 0,55 \mu$, un angle d'ouverture de 60°.

Ceci posé, je passe à la description de l'expérience. Je mets au point comme d'ordinaire sur une valve de *Pleurosigma angulatum* (montée à sec), en employant un système à sec d'un angle d'ouverture de 124° (ouverture numérique 0,90), éclairage axial obtenu au moyen du condensateur d'Abbé et d'un diaphragme à très petite ouverture circulaire centrée (environ 1 millimètre de diamètre).

Au moyen d'un prisme au sulfure de carbone et d'un héliostat, je projette, sur le miroir du microscope, un spectre suffisamment

long pour que ce miroir, convenablement placé, réfléchisse une lumière que l'on peut admettre être homogène.

Je commence par l'extrémité rouge du spectre, j'enlève l'oculaire et j'examine l'image du diaphragme qui vient se former près du plan focal supérieur de l'objectif ¹. Seul le maximum absolu de Fraunhofer est visible, on ne voit aucune trace des maxima de 2^{me} ordre. Je replace l'oculaire et j'examine l'image microscopique qui ne contient que les contours de la valve, la ligne médiane et le raphé, sans traces aucune d'une structure quelconque.

Je déplace maintenant le diaphragme latéralement, de manière à obtenir l'éclairage oblique après avoir enlevé l'oculaire et je remarque, dans le plan focal de l'objectif, à côté du maximum absolu qui s'est déplacé en sens inverse du diaphragme, un maximum complet de 2^{me} ordre. Je replace l'oculaire et j'aperçois l'image d'une structure formée d'un système de stries perpendiculaires à la ligne qui joint les milieux des deux maxima du spectre de diffraction.

Je retourne à l'éclairage axial : la structure disparaît, puis, toujours avec la lumière rouge, j'agrandis graduellement l'ouverture du diaphragme du condensateur. A un moment donné, je vois apparaître dans le plan focal de l'objectif, tout au bord de l'iris, les premières traces en forme de croissants des six maxima de 2^{me} ordre qui composent la première rangée du spectre de diffraction de la structure du Pleurosigma. En remplaçant l'oculaire, je vois des traces de la structure correspondant aux fractions des maxima qui ont pu interférer.

Dans ces conditions, en effet, e étant constant et λ n'ayant pas varié, l'angle de divergence des maxima n'a pas varié non plus, mais leur diamètre apparent est devenu plus grand, ce qui permet à une partie de chacun de ces maxima d'apparaître dans le cercle de l'iris.

Je diminue de nouveau l'ouverture du diaphragme comme au

¹ L'examen de l'image de la surface lumineuse peut se faire de différentes façons : la plus simple consiste à placer l'œil à la place de l'oculaire, ou bien on peut examiner, au moyen d'une loupe, l'image de l'iris de l'objectif qui vient se former au-dessus de l'oculaire à la *pupille de sortie* du microscope. Une troisième méthode, qui permet des mesures exactes, consiste à transformer le microscope en lunette terrestre en intercalant, à l'extrémité du tube à tirage, un objectif à long foyer que l'on met au point sur le plan focal supérieur de l'objectif qui sert à examiner la structure.

commencement de l'expérience, et je passe à la lumière verte ($\lambda = 0,5 \mu$ environ) : les traces des 6 maxima de 2^me ordre apparaissent dans le plan focal de l'objectif et, avec elles, des traces de la structure croisée dans l'image. En passant graduellement de la lumière verte à la lumière bleue ($\lambda = 0,45 \mu$), je vois très distinctement les 6 maxima de 2^me ordre se rapprocher peu à peu du maximum absolu et une image de la structure formée de 2 systèmes de stries croisés à 60°, devenir de plus en plus distincte à mesure que des portions plus considérables de ces maxima deviennent visibles à l'intérieur de l'iris de l'objectif.

Si, avec la lumière violette ($\lambda = 0,4 \mu$), je passe à l'éclairage oblique, l'un des maxima de 2^me ordre de la 2^me rangée du spectre de diffraction devient visible. L'angle de divergence du faisceau diffracté correspondant à ce maximum est représenté par l'expression

$$\sin \alpha_2 = 2 \frac{\lambda}{e}$$

et la distance linéaire de son milieu à celui du maximum absolu

$$\varepsilon_2 = f \frac{2\lambda}{e}.$$

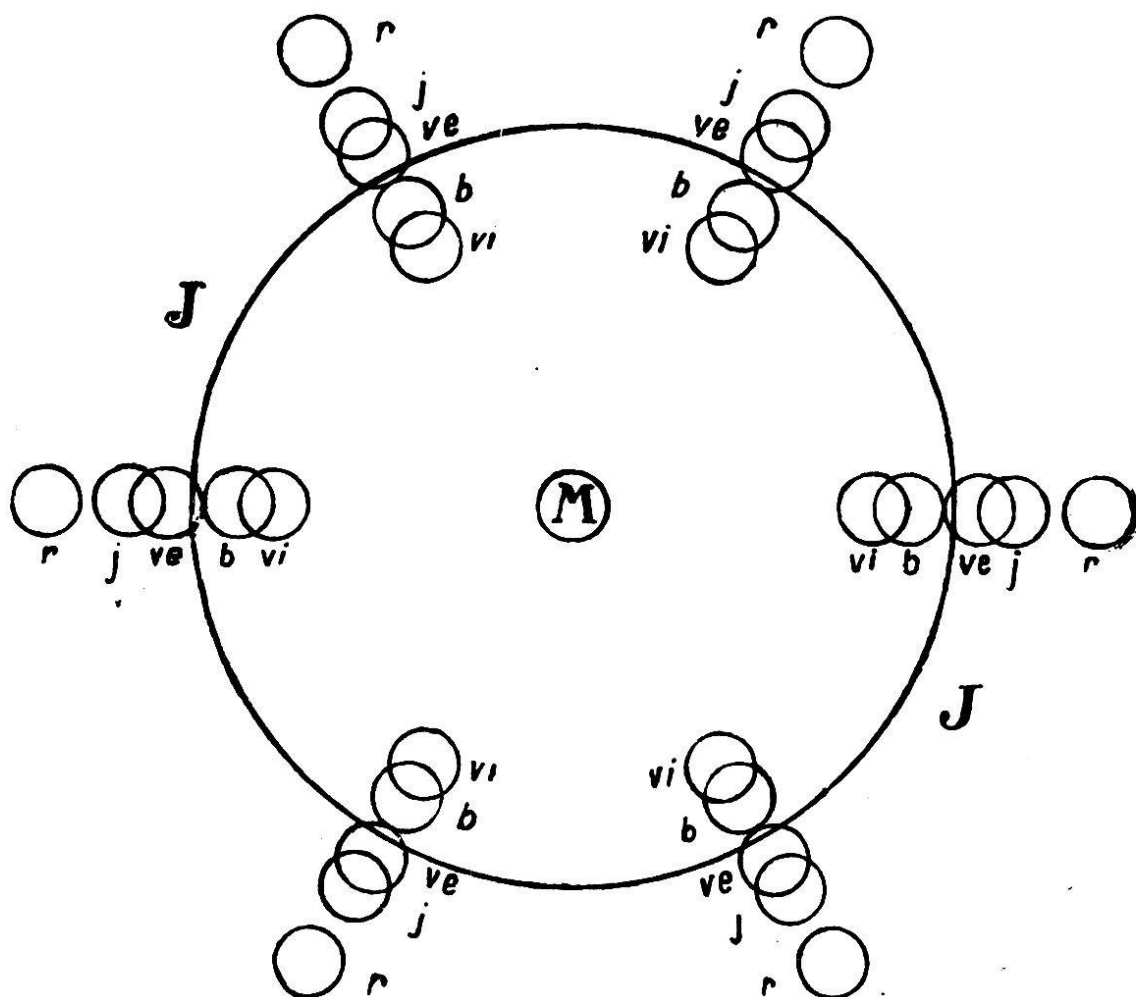
Dans ces conditions, le pouvoir résolvant de l'objectif a atteint sa valeur maximale. Mais cela ne veut pas dire que ce qu'il nous montre maintenant de la structure du Pleurosigma, soit l'image réelle de cette structure : il faudrait en effet pour cela, qu'outre le maximum absolu, tous les maxima de 2^me ordre d'intensité appréciable soient admis par l'objectif. Or, en admettant au minimum 6 rangées de ces maxima, cela représenterait un total d'au moins 36 qui devraient concourir à la formation de l'image, au lieu des 6 qu'admet maintenant notre objectif.

On voit par cet exemple, combien il faut se garder de tirer des conclusions hâtives sur la structure de pareils objets en se basant sur l'image qu'en donne le microscope et combien inutiles, je dirai même oiseuses, sont les discussions sur la structure intime de ces objets faites sans tenir compte des phénomènes que nous venons d'étudier. Ces structures diffractantes, même celles dont

¹ Je remarquerai en passant que cette expérience pourrait servir de base à une méthode de détermination des longueurs d'onde au moyen du microscope.

la finesse est loin d'atteindre la limite de distinctibilité microscopique, nous restent inconnues, malgré l'excellence relative de nos microscopes actuels, car cet instrument ne nous en montre que des traces fort incomplètes, n'ayant forcément qu'un rapport éloigné avec la structure vraie qui reste inaccessible à nos moyens actuels d'investigation.

Pour terminer, je représenterai par une figure les résultats de l'expérience que je viens de décrire et donnerai les résultats des calculs, du reste fort simples, qui s'y rapportent.



Spectres de diffraction de la structure du *Pleurosigma angulatum* au plan focal supérieur de l'objectif V de Seibert. Echelle 10 : 1.

Mesures :

Diamètre de l'iris J de l'objectif mesuré au micromètre : 6,50 mill.

Diamètre apparent de la petite ouverture du diaphragme dans le plan focal de l'objectif : 0,67 mill.

Distance focale de l'objectif $f = 3,6$ mill.

Ecartement linéaire des stries du *Pleurosigma* $e = 0,00055$ mill.

Partie du spectre solaire employée.	Rouge.	Jaune.	Vert.	Bleu.	Violet.
Longueur d'onde en μ	0,7	0,6	0,5	0,45	0,4
Distance ε du centre de l'iris en mill.	4,5	3,7	3,5	2,9	2,6
Portion du diamètre des maxima de la 1 ^{re} rangée visible dans le plan focal en millim.	0	0	0,08	6,7	6,7

M maximum absolu.

r, j, ve, b, vi maxima de 2^{me} ordre, formant la première rangée du spectre de diffraction, avec la lumière homogène rouge, jaune, verte, bleuë et violette.

Lausanne, en juillet 1894.

II

LA LIMITE DU POUVOIR RÉSOUVANT DU MICROSCOPE ET L'AVENIR DE CET INSTRUMENT ¹

*(Communication faite à la séance de la Société
du 9 janvier 1895.)*

Nous avons vu que, pour que le microscope puisse donner une image d'une structure produisant un spectre de diffraction, il faut et il suffit que l'objectif puisse admettre, à côté du maximum absolu de ce spectre, au moins un maximum de 2^{me} ordre dans le cas le plus simple où cette structure n'est composée que d'un seul système de stries parallèles.

Imaginons une structure pareille placée devant l'objectif et désignons par E l'écartement linéaire des éléments de cette structure et par λ la longueur d'onde de la lumière employée. Nous savons que l'angle de divergence du faisceau diffracté correspondant au premier maximum de 2^{me} ordre étant donné par la relation

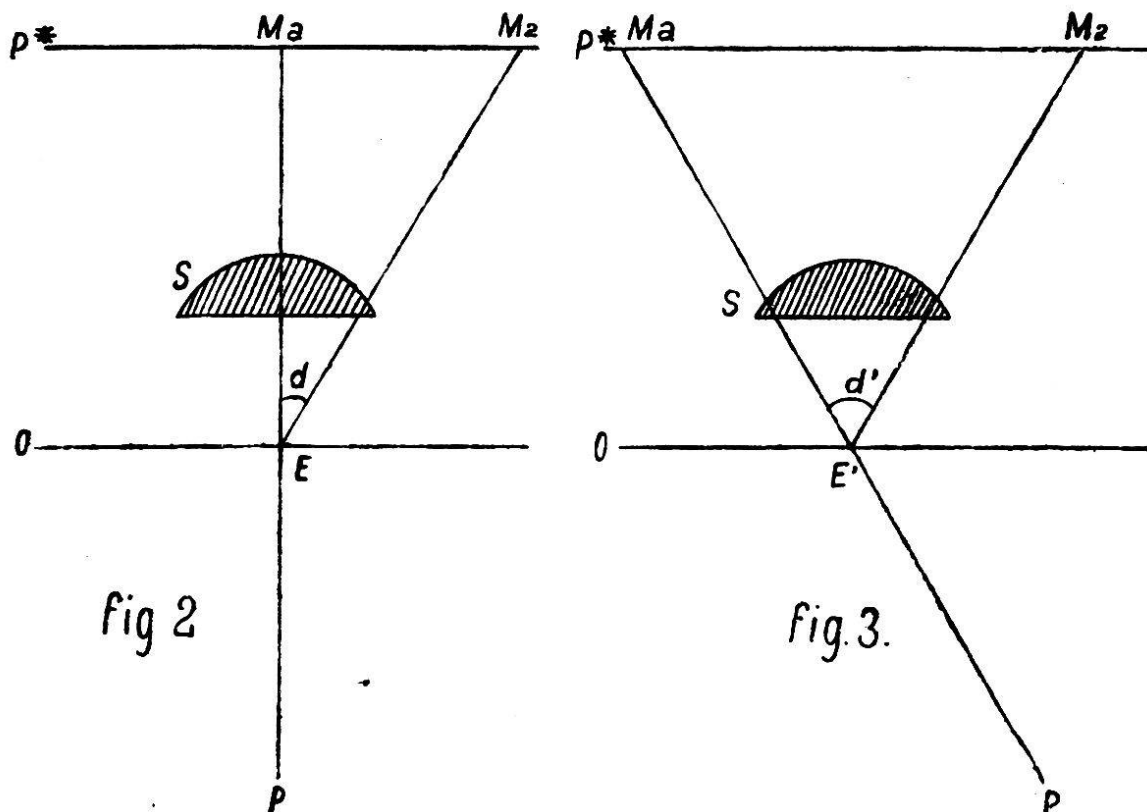
$$\sin \alpha = \frac{\lambda}{E}$$

¹ J'ai tenu compte, pour la deuxième partie de ce travail, de l'article du professeur Abbé. « The future of the microscope » paru dans le *Journal of the royal Microscopical Soc.* 1886, et de celui du Dr Czapski, *Die voraussichtlichen Grenzen der Leistungsfähigkeit des Mikroskops* (Biolog. Centralblatt, B. XI N° 20, pag. 609 et seq.).

le $\frac{1}{2}$ angle d'ouverture u de l'objectif devra être, dans le cas de l'éclairage axial, tel que

$$\sin u = \frac{\lambda}{E}$$

pour que l'objectif admette, outre le maximum absolu, les maxima de 2^{me} ordre formant la première rangée du spectre de diffraction.



P source lumineuse.

O plan objectif.

E et E' structure diffractante.

S objectif.

P* plan coordonné au point P.

Ma lieu du maximum absolu.

M2 lieu d'un maximum secondaire.

α et α' angles de divergence.

Si maintenant nous passons de l'éclairage axial correspondant à l'incidence normale PE, à l'éclairage à son maximum d'obliquité, de telle sorte que l'angle d'incidence du faisceau non diffracté qui correspond au maximum absolu, devienne égal à l'angle u , il est clair que le même objectif pourra admettre maintenant un faisceau diffracté correspondant à une première rangée de maxima secondaires dont l'angle de divergence sera

$$\alpha' = 2\alpha = 2u.$$

Cet angle de divergence correspondra à une structure d'une

finesse double de celle à laquelle correspond l'angle α ; l'écartement des éléments de cette dernière structure sera

$$E' = 2 E.$$

Nous aurons dans ce cas

$$\sin \alpha' = \frac{\lambda}{E'} = \frac{\lambda}{2 E}.$$

C'est-à-dire, qu'avec l'éclairage à son maximum d'obliquité, le pouvoir résolvant du microscope est le double de celui qu'il possède avec l'éclairage axial.

Mais l'ouverture de l'objectif dépend de l'indice de réfraction n du milieu qui se trouve entre la lentille frontale et l'objet. Cette ouverture devient, en tenant compte de ce facteur,

$$a = n \sin u.$$

Cette expression a reçu d'Abbé le nom d'*ouverture numérique*. Elle permet de comparer immédiatement entr'elles les ouvertures d'objectifs de toutes sortes et représente l'*unité* adoptée par les opticiens et les microscopistes pour faire cette comparaison, cette unité d'ouverture numérique étant celle d'un objectif idéal d'angle d'ouverture égal à 180° dans un milieu d'indice de réfraction $n = 1$.

Nous devons avoir par conséquent la relation :

$$a = n \sin u = \frac{\lambda}{2 e},$$

d'où nous tirons :

$$e = \frac{\lambda}{2 a},$$

qui est la formule de Helmholtz et Abbé, laquelle, traduite en langage ordinaire, peut s'exprimer comme suit :

Le pouvoir résolvant du microscope, c'est-à-dire la faculté que possède cet instrument de nous donner des images de la structure des objets que nous lui soumettons, dépend de l'ouverture de l'objectif et de la longueur d'onde de la lumière employée, de telle sorte que l'écartement des éléments de la structure la plus fine dont le microscope peut fournir une image, est directement proportionnel à la longueur d'onde et inversement propor-

tionnel à l'ouverture numérique pour l'éclairage axial, ou au double de cette ouverture pour l'éclairage à son maximum d'obliquité.

On voit donc, et ceci est un fait d'une importance capitale, que le pouvoir résolvant du microscope ne dépend nullement du grossissement et que ce dernier n'est, pour ainsi dire, qu'une fonction accessoire de cet instrument. Il est clair, cependant, qu'il doit y avoir un certain rapport nécessaire entre l'ouverture de l'objectif et le grossissement, car un objectif à faible ouverture et à court foyer ne donnerait qu'un grossissement vide sans aucun détail de la structure des objets, tandis qu'un objectif d'ouverture considérable et capable de fournir des détails de structure très fins, doit permettre, en même temps, un certain grossissement minimum pour que ces détails puissent être perçus par notre œil, c'est-à-dire pour que leur image rétinienne atteigne une certaine dimension.

On a souvent assimilé le pouvoir résolvant du microscope au pouvoir optique du télescope. Les considérations qui précèdent montrent à priori que cette assimilation est erronée. En effet, le pouvoir optique du télescope, tel qu'il a été défini par Foucault, est limité par les phénomènes de diffraction produits par le diaphragme de l'instrument, puisqu'il résulte de ce fait que l'image d'un point lumineux, ayant toujours une dimension finie et se trouvant élargie par la diffraction, il faut, pour que deux étoiles, par exemple, puissent être distinguées l'une de l'autre au moyen du télescope, que les images de ces deux étoiles n'empiètent par l'une sur l'autre. Ces phénomènes sont d'un ordre analogue, mais cependant bien différents de ceux qui limitent le pouvoir résolvant du microscope. Tandis que ce dernier est, comme nous venons de le voir, une fonction de l'*angle* d'ouverture, le pouvoir optique du télescope est proportionnel au *diamètre* de l'ouverture par laquelle les rayons incidents pénètrent dans l'instrument. Il y a là une différence fondamentale, car ce diamètre de l'objectif du télescope qui peut, théoriquement parlant, être aussi grand que l'on voudra, n'est limité que par des difficultés techniques de construction; tandis que l'ouverture de l'objectif du microscope ne saurait dépasser une limite théorique que nous sommes bien près d'avoir atteinte dans les conditions qu'il est actuellement possible de réaliser.

Pour augmenter le pouvoir résolvant du microscope, il faudra donc :

1° Travailler avec une lumière de longueur d'onde aussi petite que possible.

2° Augmenter autant que possible l'ouverture de l'objectif.

La première de ces conditions est, dans une certaine mesure, la plus facile à réaliser. Si, au lieu de la lumière blanche à laquelle correspond une longueur d'onde $\lambda = 0,55\mu$, nous employons pour l'observation les rayons bleus ou même violets du spectre de longueurs d'onde égales à $0,45\mu$ ou $0,40\mu$ environ, nous augmentons le pouvoir résolvant dans la proportion de 1 à 1,2 ou de 1 à 1,37.

Mais nous sommes bientôt arrêtés dans cette voie par la propriété que possèdent tous nos verres d'absorber fortement les rayons les plus réfrangibles : le verre ordinaire des lentilles absorbe déjà 25 % des rayons correspondant à la raie C et, à partir de $\lambda = 0,35\mu$, la plus grande partie de la lumière est absorbée. Il faudrait, pour pouvoir utiliser ces ondes lumineuses très courtes, que nous ayons à notre disposition une substance qui offre la transparence du quartz ou du spath fluor pour ces rayons, sans avoir les propriétés polarisantes ou autres de ces substances, qui empêchent de les utiliser pour le microscope. On pourrait, dans ce cas, utiliser la région ultraviolette du spectre, à l'aide de substances fluorescentes ou même au moyen de la microphotographie.

Dans les circonstances actuelles, les limites extrêmes de longueurs d'onde que nous pouvons utiliser sont :

pour l'observation oculaire directe $\lambda = 0,40\mu$
 pour la photographie $\lambda = 0,35\mu$

Mais, pour pouvoir travailler avec ces rayons très réfrangibles, il faudrait employer des objectifs corrigés spécialement pour cette région du spectre, ou bien des apochromates.

La seconde condition pour augmenter le pouvoir résolvant de nos objectifs, consiste à augmenter leur ouverture numérique. Nous avons vu que celle-ci est le produit de deux facteurs et qu'elle est proportionnelle à l'angle d'ouverture et à l'indice de réfraction du milieu qui se trouve entre l'objet et l'objectif. En ce qui concerne l'angle d'ouverture, sa limite théorique est 180° mais, dans la pratique, il est très difficile de dépasser 140° ($\sin u = 0,94$ à $0,95$). D'un côté, les formules d'Huyghens montrent que l'aberration longitudinale de sphéricité est directement proportionnelle au carré de l'ouverture, et l'aberration transver-

sale au cube de cette ouverture : dès que l'on veut dépasser une certaine limite, les difficultés de correction croissent dans une proportion infiniment plus rapide que les avantages résultant de l'augmentation de l'angle d'ouverture. De 140° à 175° la valeur de $\sin u$ n'augmente, en effet, que de 0,056 tandis que l'aberration transversale de sphéricité augmente à peu près dans la proportion de 2 à 2,5. Puis il est absolument nécessaire que l'objectif ait une distance frontale suffisante pour permettre l'usage d'un verrelet ainsi qu'un certain espace pour faire varier la mise au point.

Nous admettons donc, comme limite pratiquement réalisable de l'angle d'ouverture, celle qui correspond à $\sin u = 0,95$.

Il ne nous reste maintenant, pour augmenter l'ouverture, et, avec elle, le pouvoir résolvant du microscope, qu'à placer, entre l'objectif et l'objet, un milieu à indice de réfraction aussi élevé que possible.

Ce but a été poursuivi, dès le début, par les opticiens constructeurs. On a commencé par les objectifs à sec pour lesquels $n = 1$ $a = \sin u$, limite $a = 0,95$, puis on a construit des lentilles à immersion dans l'eau $n = 1,33$ $a = 1,33 \cdot \sin u$, limite $a = 1,26$, ensuite celles à immersion homogène dans un liquide possédant le même indice de réfraction que le *crown* et à peu près le même pouvoir dispersif, telles que l'essence de cèdre épaissie ou la vaseline liquide. Et enfin, dans ces dernières années, le professeur Abbé a calculé un système à immersion dans le monobromure de naphthaline $n = 1,65$ (indice du flint) $a = 1,6$, qui a été construit par la maison Carl Zeiss, à Jena. Ceci est, pour le moment, le dernier pas qui ait été fait dans cette voie, et les résultats pratiques obtenus ne sont guère propres à nous encourager à pousser plus loin dans cette direction, car les difficultés que présente l'emploi de cette lentille en restreignent tellement l'usage, que la construction de cet objectif ne peut guère être considérée que comme un essai théorique.

Les opticiens ont maintenant à leur disposition des verres dont l'indice de réfraction est presque égal à 2, de sorte que, si nous parvenions à trouver un liquide de même indice ou d'indice supérieur et qui présentât les autres propriétés requises pour l'immersion, nous pourrions arriver à $a = 1,9$.

En admettant même qu'on fasse un pas de plus dans cette voie et qu'on fasse par exemple la lentille frontale de l'objectif

en diamant¹ $n = 2,47$, que nous trouvons un liquide approprié pour l'immersion et que nous puissions, du reste, réaliser toutes les autres conditions nécessaires, nous arriverions à

$$a = 2,4 \text{ environ.}$$

Voyons maintenant quelles sont les limites du pouvoir résolvant, c'est-à-dire les valeurs minima de e correspondant à ces différentes conditions réalisées ou peut-être réalisables.

Dans les conditions ordinaires d'observation, c'est-à-dire avec la lumière blanche, ces limites sont les suivantes :

Lentilles à sec

$$a = 0,95 \quad e = 0^{\mu},29, \text{ soit } 3400 \text{ éléments env. au millim. (N) } = 502^2.$$

Lentilles à immersion dans l'eau

$$a = 1,26 \quad e = 0^{\mu},22, \text{ soit } 4700 \text{ éléments env. au millim. (N) } = 664.$$

Lentilles à immersion homogène

$$a = 1,44 \quad e = 0^{\mu},19, \text{ soit } 5300 \text{ éléments env. au millim. (N) } = 760.$$

Lentilles à immersion monobrom. naphtaline.

$$a = 1,60 \quad e = 0^{\mu},17, \text{ soit } 5800 \text{ éléments env. au millim. (N) } = 850.$$

La structure la plus fine connue jusqu'à ce jour est celle des valves d'une diatomée, l'*Amphipleura pellucida*, avec 4000 stries transversales au millimètre. Nos plus puissants objectifs montrent en outre, au moyen de la photographie, les premiers indices d'un système de stries longitudinales.

Si, au lieu d'employer la lumière blanche, nous utilisons les parties les plus réfrangibles du spectre solaire visible, soit pour l'observation oculaire directe le violet $\lambda = 0,44^{\mu}$, et pour la photographie le violet extrême $\lambda = 0,35^{\mu}$, en employant des apochromates, ces limites du pouvoir résolvant sont notablement reculées et deviennent :

Pour les lentilles à sec

$$\text{pour } \lambda = 0^{\mu},44 \quad e = 0^{\mu},23, \text{ soit } 4000 \text{ éléments au millim.}$$

$$\text{» } \lambda = 0^{\mu},35 \quad e = 0^{\mu},18, \text{ soit } 5500 \quad \text{»} \quad \text{»}$$

¹ L'opticien anglais Pritchard a, dans la première moitié de ce siècle, taillé des lentilles de diamant et de saphir de $\frac{1}{150}$ " de foyer. Il est extraordinairement difficile, du reste, de donner au diamant une courbure un peu considérable.

² (N) représente le grossissement nécessaire pour montrer ces détails.

Pour les lentilles à immersion homogène

$\lambda = 0^{\mu},44$ $e = 0^{\mu},15$, soit 6600 éléments au millim.

$\lambda = 0^{\mu},35$ $e = 0^{\mu},12$, soit 8300 » »

Pour les lentilles à immersion au monobrom. naphthaline.

$\lambda = 0^{\mu},44$ $e = 0,14$, soit 7000 éléments au millim.

$\lambda = 0^{\mu},35$ $e = 0,10$, soit 10000 » »

Et, en admettant que nous puissions aller plus loin :

Lentille hypothétique $\alpha = 1,9$ ($n = 2$) ($N = 1000$)

pour $\lambda = 0^{\mu},44$ $e = 0^{\mu},12$, soit 8300 éléments au millim.

» $\lambda = 0^{\mu},35$ $e = 0,09$, soit 11000 » »

Lentille frontale en diamant $\alpha = 2,4$ ($n = 2,5$) ($N = 1300$)

pour $\lambda = 0^{\mu},44$ $e = 0^{\mu},09$, soit 11000 éléments au millim.

» $\lambda = 0^{\mu},35$ $e = 0^{\mu},07$, soit 14000 » »

La question a souvent été posée de savoir si le perfectionnement du microscope pourrait jamais être poussé assez loin pour qu'il nous permette de distinguer les dernières particules matérielles des corps : les molécules.

Les considérations qui précèdent et les formules que nous avons obtenues vont nous donner une réponse à cette question ; mais pour cela il faut, en outre, chercher à nous faire une idée, sinon des dimensions absolues des molécules, du moins de l'ordre de grandeur de ces dimensions. Ici nous entrons dans le domaine de l'hypothèse, puisque l'existence elle-même des molécules est hypothétique.

Les résultats obtenus par les différents mathématiciens qui ont essayé de calculer cette grandeur, diffèrent dans des limites très éloignées.

On a calculé, en tenant compte des coefficients de condensation, des aberrations à la loi de Mariotte, des variations des coefficients de dilatation, de la chaleur de vaporisation et des constantes diélectriques, que la molécule d'air, considérée comme une sphère, aurait un diamètre compris entre $0^{\mu},01$ et $0^{\mu},001$, $\left(\frac{1}{100\,000} \text{ et } \frac{1}{1\,000\,000} \text{ mill.}\right)$ et qu'il est probable que ces limites ne sont pas dépassées de beaucoup, ni dans un sens, ni dans l'autre.

Sir William Thomson, qui s'attaque volontiers aux très grands nombres, a, lui aussi, abordé cette question ¹ et a cherché à la résoudre pour les corps transparents, en se basant sur 4 ordres de faits relatifs à la théorie ondulatoire de la lumière, aux phénomènes électriques de contact, de l'attraction capillaire et de la théorie cynétique des gaz. Il arrive à cette conclusion qui, selon lui, présente un très haut degré de probabilité, que dans chaque liquide ou solide transparent, la distance moyenne entre les centres de deux molécules contigues est moindre que $\frac{1}{5\,000\,000}$ de *centimètre* et plus grande que $\frac{1}{1\,000\,000\,000}$ de centimètre (soit $<0^{\circ},002$ et $>0^{\circ},00001$).

Mais il résulte des recherches de Reinold et Rücker ² qui ont mesuré des pellicules de Plateau d'une extrême ténuité, qu'en admettant les limites de grandeur des molécules données par sir Thomson, l'épaisseur de la pellicule la plus mince qu'ils ont pu mesurer étant de $7,2 \times 10^{-6}$ mill., ne serait formée, dans le sens de son épaisseur, que de 3 molécules au moins et de 720 au plus. Or, ce premier nombre de 3 molécules paraît à priori beaucoup trop petit, car il n'est guère probable qu'une pellicule pareille ne soit formée que par 3 couches de molécules seulement.

Nous sommes, par conséquent, portés à admettre que la grandeur réelle des molécules est considérablement moindre que celle qui correspond à la limite supérieure indiquée par sir Thomson.

D'un autre côté Dupré a démontré, dans un théorème sur la désagrégation totale et les forces de réunion, qu'il y a beaucoup plus de 25 000 000 000 de molécules dans un cube d'eau à 0° de 1^{re} de côté.

Ceci donne pour une rangée de molécules de 1^{re} de longueur moins de $\sqrt[3]{25\,000\,000\,000} = 3000$ molécules environ. En admettant ces molécules en contact ³, chacune d'elle doit avoir moins de $0^{\circ},0003 \left(\frac{3}{10\,000\,000} \text{ millim.} \right)$.

¹ *Proceedings of the Royal Institute*, 1883.

² *Nature*, 1883, pag. 389-93.

³ Ce qui ne saurait être le cas dans la réalité.

Cette limite supérieure me paraît offrir un degré de probabilité plus grand que celles qui précèdent et c'est ce nombre que nous adopterons pour nos calculs.

En admettant donc 30 000 000 de molécules au millimètre soit $\frac{3}{10\,000\,000}$ de millimètre comme dimension de la molécule, nous allons calculer, au moyen de la formule $a = \frac{\lambda}{2e}$, quelle devrait être l'ouverture de l'objectif ou la longueur d'onde employées, pour que le microscope puisse nous permettre de distinguer ces molécules. Nous trouvons si $e = 0,0003\mu$, pour a , les valeurs suivantes :

$$\begin{aligned} \text{Pour } \lambda &= 0,44\mu & a &= 730 \\ \text{» } \lambda &= 0,35\mu & a &= 600. \end{aligned}$$

Ouvertures qui nécessiteraient des grossissements minimum de 400 000 ou 300 000 diamètres pour être utilisées.

Or comme $a = n \sin u$ et que la valeur maximale de $\sin u$ est 1, nous devrions avoir :

$$n = 600 \text{ ou } 730.$$

Nous ne pouvons nous faire aucune idée de ce que seraient des milieux avec des indices de réfraction pareils. Celui des corps les plus réfringents que nous connaissons actuellement n'atteint pas même 3. Les propriétés optiques de milieux hypothétiques pareils seraient, du reste, telles que seuls les rayons dont l'angle d'incidence serait très faible pourraient y pénétrer et en ressortir pour passer dans les milieux dont nous disposons actuellement.

Si nous admettons comme limite de a la valeur de 2,5, comme $\lambda = 2ae$, nous devrions avoir dans ce cas :

$$\lambda = 0,0015\mu,$$

C'est-à-dire utiliser des ondes vibratoires dont nous n'avons aucune idée à l'heure qu'il est, qui seraient les harmoniques supérieures de celles que nous percevons sous la forme d'ondes lumineuses, exactement comme celles-ci sont les harmoniques supérieures des ondes calorifiques. La dernière raie du spectre ultra-violet de l'hydrogène que la photographie a pu nous montrer, correspondant d'après les recherches de M. Schumann à

une longueur d'onde de $0,100\mu$ environ, nous n'avons, pour le moment, aucun moyen de percevoir ni d'étudier des ondes aussi courtes que celles en question. Mais il est permis d'espérer que nous irons plus loin dans ce domaine aussi, car de même que nous étudions maintenant les ondulations Hertziennes dont nous ne soupçonnions pas même l'existence il n'y a pas très longtemps, il n'est nullement improbable que ces ondulations très courtes ne deviennent un jour accessibles à nos moyens d'observation.

En admettant comme dimension absolue de la molécule la valeur de $\frac{1}{1\,000\,000}$ de millim., soit $e = 0,001\mu$, l'ouverture de l'objectif devrait être

$$\begin{array}{ll} \text{pour } \lambda = 0,44\mu & a = 220 \\ \text{» } \lambda = 0,35\mu & a = 175 \end{array}$$

ou bien si $a = 2,5$ $\lambda = 0,005\mu$.

Ceci nous indique clairement que la vision ou la photographie des molécules au moyen du *microscope* est un fait physiquement impossible.

Il est probable qu'à l'heure qu'il est, nous arrivons à distinguer, au moyen de l'objectif $a = 1,6$, des rangées de 100 à 300 molécules environ. Avec $a = 2,5$, nous arriverions à des rangées de 70 à 90 molécules.

Ce sont là les limites extrêmes que nous avons atteintes ou auxquelles nous pouvons espérer atteindre en nous plaçant à un point de vue tout à fait optimiste.

Comme on le voit, si, d'un côté, les résultats acquis sont relativement considérables, nous ne pouvons nous cacher que nous sommes aujourd'hui bien près d'avoir obtenu du microscope *tout* ce qu'il peut pratiquement nous donner dans cette direction. Ce n'est pas à dire que bien des perfectionnements ne puissent être réalisés ultérieurement dans la construction de cet admirable instrument et dans le mode d'application aux différentes recherches, mais, d'une manière générale, on peut dire que la courbe du progrès dans ce domaine tend à devenir asymptotique, comme elle tend du reste à le devenir pour chacune des créations spéciales de l'intelligence humaine. Il est possible, je dirai même qu'il n'est pas improbable que cette intelligence qui marche toujours en avant, invente un jour une méthode d'observation qui permette de reculer encore les limites imposées aujourd'hui à notre œil par la lumière elle-même. Cette découverte

transformera le microscope en un instrument qui sera au microscope actuel ce que le bolomètre, par exemple, est au thermomètre : elle sera, en quelque sorte, l'analogue de l'application par Döppler et Fizeau de l'analyse spectrale à l'astronomie, qui a permis de dédoubler, par l'observation du déplacement des raies du spectre, certaines étoiles (comme β du Cocher, p. ex.), que nos plus puissants télescopes ne pouvaient dédoubler, et qui peut être considérée comme l'une des conquêtes les plus belles de l'esprit humain.

Ce que sera cette méthode, nous n'en avons encore aucune idée, tout ce que nous pouvons en dire, c'est que l'instrument qu'elle emploiera n'aura probablement que très peu de ressemblance avec notre microscope actuel.

Lausanne, le 31 décembre 1894.

OBSERVATIONS MÉTÉOROLOGIQUES

aux Rochers de Naye et au Mont de Caux.

Si les chemins de fer de montagne n'ont pas l'heur de plaire à tout le monde, s'ils détruisent, au dire de quelques sévères clubistes, la sublime poésie des hauts sommets, il faut reconnaître que d'autre part ils favorisent singulièrement les recherches scientifiques.

C'est ainsi que grâce à la création du Glion-Naye et à l'hivernage d'un gardien au sommet de Naye, nous sommes en possession de quelques observations météorologiques dès le 6 novembre 1893. Du Mont de Caux nous avons également une série d'observations, faites avec beaucoup de soin par le concierge du Grand Hôtel, depuis le 1^{er} janvier 1894.

La différence notable de l'altitude, jointe à la courte distance qui sépare ces deux points des Avants et de Clarens sont des facteurs assez importants pour justifier l'intérêt que les observations pourraient présenter par la suite.

Naye est le point culminant d'un chaînon qui se dirige du Nord au Sud, le Mont de Caux est un éperon qui se détache à