

4 darbas

MIKROSKOPAS

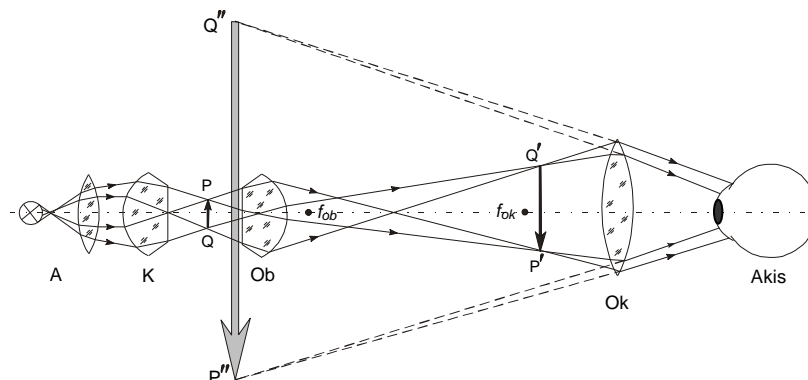
Užduotys

1. Nustatyti mikroskopo objektyvo didinimą.
2. Išmatuoti mažo objekto matmenis.
3. Nustatyti objektyvo skaitinę apertūrą ir apskaičiuoti skyros vertę.
4. Išmatuoti stiklo lūžio rodiklį.

Teorija

Mikroskopas yra optinis prietaisas, sukuriantis mažų objektų padidintą atvaizdą (arba – didinantis mažo objekto regėjimo kampą). Normali žmogaus akis geriausio regėjimo atstumu ($D = 250$ mm) gali išskirti smulkiają struktūrą, sudarytą iš linijų arba taškų, jei gretimi struktūros elementai yra ne mažesniu kaip $0,08$ mm atstumu. Tačiau daugelio objektų (bakterijų, smulkių kristalų, metalų mikrostruktūros ir t. t.) matmenys yra gerokai mažesni. Tokie objektai tiriami įvairių rūšių mikroskopais. Mikroskopu nustatoma mažų objektų forma, matmenys ir cheminė sandara. Optiniu mikroskopu galima skirti struktūros elementus, kurių tarpai yra iki $0,25$ μm .

Tarkime, kad daiktą PQ apšviečia apšvietiklis A pro kondensorių K (4.1 pav.)



4.1 pav. Mikroskopo optinė schema

Mikroskopo objektyvas Ob sukuria tikrąjį, apverstą ir padidintą daikto PQ atvaizdą P'Q'. Šis atvaizdas matomas pro okuliarą Ok, kuris geriausio matymo nuotolyje sukuria tariamą atvaizdą P''Q''. Bendrasis mikroskopo *didinimas* lygus objektyvo didinimo V_{ob} ir okuliario didinimo V_{ok} sandaugai:

$$V = V_{ob} \cdot V_{ok} ;$$

čia $V_{ob} = \Delta / f_{ob}$ (Δ – atstumas nuo galinės objektyvo židinio plokštumos iki atvaizdo P'Q' plokštumos, t. y. optinis mikroskopo *tubuso* ilgis, f_{ob} – objektyvo židinio nuotolis); $V_{ok} = D / f_{ok}$ (f_{ok} – okuliario židinio nuotolis; D – geriausio matymo nuotolis). Tada bendrasis mikroskopo kampinis didinimas reiškiamas taip:

$$V = \frac{\Delta 250}{f_{ob} f_{ok}}.$$

Mikroskopas yra sudėtinga optinė sistema ir joje sklindantys šviesos pluošteliai ne visada yra bendracentriai. Dėl to daikto atvaizdas gerokai iškraipomas, pasireiškia aberacijos. Tačiau kai tenkinama Abės (*Abbe*) sinusų sąlygą

$$n y \sin u = n' y' \sin u'$$

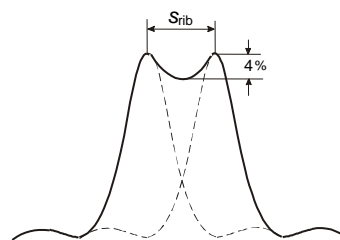
(čia n ir n' – daikto ir atvaizdo terpių lūžio rodiklis, y ir y' – mažų daikto ir atvaizdo atkarpų ilginiai matmenys, u ir u' – apertūros kampai), tada yra tokios plokštumų poros, kurioms gaunamas plokštumos elementų atvaizdas be aberacijų. Tokia jungtinių plokštumų pora vadinama *aplanatinių plokštumų* pora. Taigi mikroskope ryškus daikto atvaizdas sukuriamas tada, kai daiktas yra mikroskopo optinės sistemos aplanatiniame taške. Jis yra labai arti priekinio sistemos židinio.

Svarbus mikroskopo parametras yra jo *skiriamoji geba*, kurią lemia šviesos difrakcija ir priklauso nuo objektyvo skaitinės apertūros ir šviesos bangos ilgio. Nykstamojo šviečiančio taško atvaizdas dėl difrakcijos yra šviesus skritulys, apsuptas keliais šviesiais ir tamsiais žiedais. Pirmojo šviesaus žiedo apšvieta sudaro 1,75 % skritulio apšvietos. Skritulio skersmuo $d = 1,22 \lambda / A$; čia A yra objektyvo *skaitinė apertūra*

$$A = n \sin u;$$

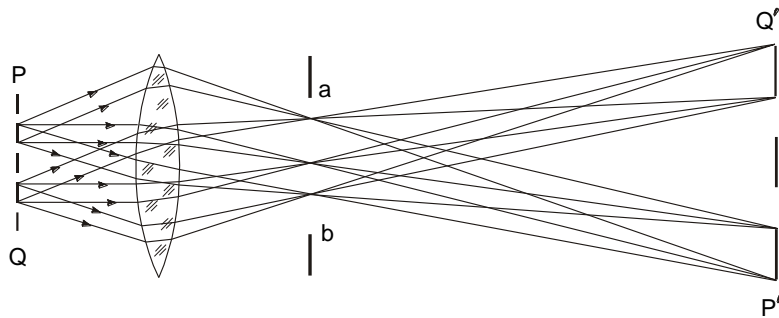
čia n – terpės tarp daikto ir objektyvo lūžio rodiklis, u – *apertūros kampas* (pusė kampo tarp šviesos pluošto kūgio kraštinių spindulių, sklindančių iš objekto mikroskopinių elementų ir patenkančių į objektyvą) (4.5 pav.). Kai šviečiantys elementai yra arti vienas kito, jų difracciniai atvaizdai dengia vienas kitą, ir susidaro sudėtingas apšvietos skirstinys (4.2 pav.). Mažiausias kontrastas, kurį dar galima matyti plika akimi yra 4 %. Tada mažiausias atstumas tarp dviejų šviečiančių taškų, kurį galima išskirti mikroskopu, lygus:

$$s_{rib} = 0,42 d = 0,51 \frac{\lambda}{A} = \frac{0,51 \lambda}{n \sin u}.$$



4.2 pav. Ribinis apšvietos skirstinys dviejų artimų taškų atvaizde

Abės išplėtota klasikinė teorija pateikia tokią atvaizdo susidarymo sampratą. Jei objektas yra plokščioji gardelė PQ (4.3 pav.), tai į ją krintantis lygiagrečių spindulių pluoštelis difraguoja ir galinėje objektyvo židinio plokštumoje susidaro kelių eilių (... , -2, -1, 0, 1, 2, ...) difrakciniai spektrai. Skirtingų spektro eilių spinduliai plokštumoje P'Q' tarpusavyje interferuoja ir sukuria gardelės atvaizdą. Šis atvaizdas yra tuo labiau panašus į objektą, kuo daugiau pereina difrakcinio spektro harmonikų



4.3 pav. Atvaizdo sukūrimo schema pagal Abė

pro objektyvo apertūrinę diafragmą **ab**. Kad susikurtų atvaizdas, reikia ne mažiau kaip dviejų eilių spektrų.

Abė įrodė, kad mažiausias atstumas tarp dviejų savaime nešviečiančių taškų, dar išskiriamų mikroskopu, nusakomas formule:

$$s_{\text{rib}} = \frac{\lambda}{A_1 + A_2} ;$$

čia A_1 ir A_2 – mikroskopo objektyvo ir kondensoriaus skaitinė apertūra. Iš Abės teorijos išplaukia, kad norint išskirti dar smulkesnę struktūrą reikalinga didesnė apertūra, kadangi kuo smulkesnė struktūra, tuo didesnis difragavusių šviesos spindulių kampas. Ribinė skiriamoji geba gaunama esant įstrižai apšvietai. Objektyvo skaitinę apertūrą galima padidinti erdvėje tarp daikto ir objektyvo naudojant vadinamąjį imersinį skystį. Didelio didinimo imersinių objektyvų skaitinė apertūra $A \approx 1,3$.

Nustatyta, kad esant didžiausiai mikroskopo skiriamajai gebai, atstumas tarp dar išskiriamų atvaizdo taškų lygus $(0,3 \div 0,6) \mu\text{m}$. Tai atitinka mikroskopo didinimą $500A \div 1000A$ (vadinamas *naudinguoju mikroskopo didinimu*). Kai didinimas didesnis už $1000A$, stebint vizualiai neišryškėja naujų struktūros smulkmenų.

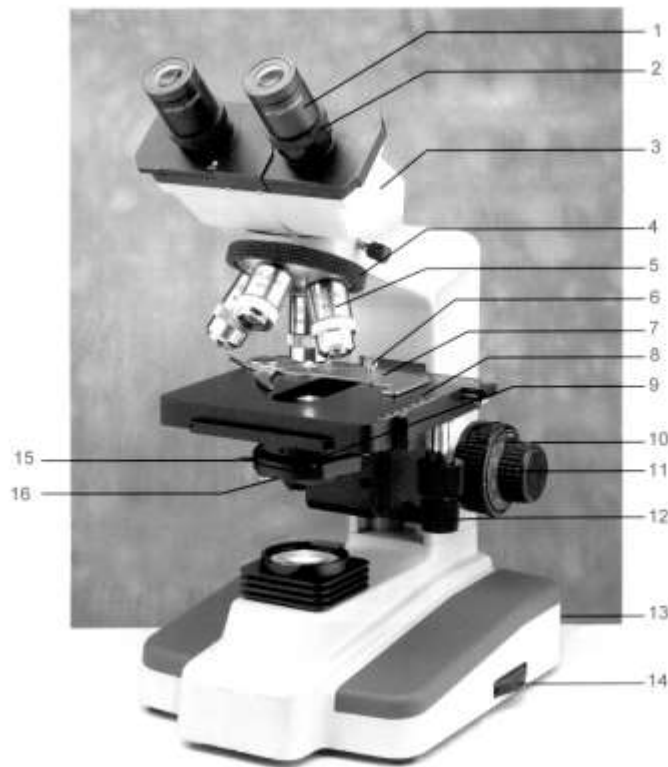
Mikroskopu norint sukurti kontrastingus ir tolygiai apšviestus atvaizdus, svarbu parinkti apšvietiklio sistemos konstrukciją. Ji turi kreipti spindulius taip, kad kiekvienas spindulio taškas vienodai paveiktų visus regėjimo lauko taškus, dėl to ir susidaro tolygi lauko apšvieta.

Objektų stebėjimo metodai yra įvairūs, priklauso nuo tiriamojo bandinio pobūdžio. Bandinio struktūra pro mikroskopą matoma tik tada, kai atskiros jo dalelės skiriasi viena nuo kitos (arba nuo supančiosios terpės) šviesos sugertimi, atspindžiu arba lūžio rodikliu. Naudojami šie stebėjimo metodai: šviesaus lauko metodas, tamsaus lauko metodas, ultramikroskopijos metodas, stebėjimo metodas poliarizuotoje šviesoje, fazinio kontrasto metodas, interferencinis metodas, mikrofotografijos metodas ir kt.

Tyrimas

1. Objektyvo didinimo nustatymas

Mikroskopo ilginis didinimas nustatomas naudojant objektą – mikrometrinę skalę, kuri dedama ant mikroskopo staliuko 8 (4.4 pav.), ir okuliarinį mikrometrą, kuris



4.4 pav. Mikroskopo **Motic B1** bendras vaizdas

1 – okuliaras, 2 – dioptrinis korektorius, 3 – biokuliario laikiklis, 4 – objektyvų revolveris, 5 – objektyvas, 6 – stiklelio laikiklio sraigtas, 7 – stiklelio laikiklis, 8 – staliukas, 9 – kondensorius, 10 ir 11 – mikrosraigtai, 12 – staliuko reguliavimo sraigtai, 13 – tinklo jungiklis, 14 – šviesos intensyvumo reguliatorius, 15 – diafragmos reguliavimo rankenėlė, 16 – filtrų laikiklis

įdedamas į okuliario vamzdį. Sukinėjant okuliarą nustatomas ryškus siūlų sankirtos (kartu ir dvigubo indekso bei skalės) atvaizdas. Po to sufokusuojamas mikroskopo tubusas, sukinėjant mikroskopo makrosraigą 10 ir mikrosraigą 11 taip, kad matytųsi ryškus mikrometrinės skalės atvaizdas. Mikrometrinėje skalėje stebima keletas padalų, užimančių maždaug $2/3$ regėjimo lauko. Sukant okuliario mikrometro sraigą sutapdinamas siūlų sankirtos taškas su mikrometrinės skalės atvaizdo pradiniu brūkšneliu ir užrašomas okuliario mikrometro skalės rodmuo a_1 pagal okuliario regėjimo lauke matomą nejudamą skalę, kurios padalos vertė yra 1 mm, ir okuliario mikrometro būgno padalas (padalos vertė 0,01 mm). Pasukus mikrometro būgną 360° matymo lauke esantis dvigubas brūkšnelis paslenka viena padala (t.y. 1 mm). Milimetro dalis rodo būgno padalų skaičius.

Sukant okuliario mikrometro sraigą toliau, sutapdinamas siūlų sankirtos taškas su z -osios padalos brūkšneliu ir užrašomas rodmuo a_2 . Mikroskopo objektyvo didinimas

$$V_{\text{ob}} = \frac{a_2 - a_1}{z \cdot k};$$

čia k – mikrometrinės skalės padalos vertė ($k = 0,01$ mm).

2. Objekto matmenų matavimas

Ant mikroskopo stalelio 8 dedamas tiriamasis bandinys. Mikroskopo tubusas (sraigtais 10 ir 11) fokusuojamas taip, kad pro mikroskopo okuliarą matytųsi ryškus bandinio struktūros atvaizdas. Sukant okuliario mikrometro būgną sutapdinamas siūlų sankirtos taškas su matuojamojo mikroobjekto atvaizdo kraštais ir užrašomi rodmenys b_1 ir b_2 . Tada bandinio ilginis matmuo

$$l = \frac{b_2 - b_1}{V_{\text{ob}}};$$

čia V_{ob} – mikroskopo objektyvo ilginis didinimas.

3. Objektyvo skaitinės apertūros nustatymas

Ant mikroskopo stalelio 8 dedama plokštelė p (4.5 pav.) su maža skylute ir mikroskopo tubusas fokusuojamas taip, kad ryškiai matytųsi skylutės atvaizdo kraštai. Išimamas apšvietimo kondensorius 9 (4.4 pav.) ir apačioje ant apšvietiklio dedama liniuotė k . Iš okuliarų laikiklio 3 ištraukiamas okuliaras ir žiūrima į sumažintą liniuotės atvaizdą. Nustatoma matoma liniuotės atkarpa l , užimanti visą regėjimo lauką, ir atstumas h nuo liniuotės iki plokštelės. Jei tarpė tarp objektyvo ir plokštelės yra oras ($n \approx 1$), tai mikroskopo objektyvo skaitinė apertūra apskaičiuojama pagal išraišką:

$$A = n \sin u = \frac{l}{2\sqrt{h^2 + (l/2)^2}} .$$

Nustačius skaitinę apertūrą A galima įvertinti mikroskopo objektyvo skiriamąją gebą. Skaičiuojama skyros vertė:

$$s = 0,51 \frac{\lambda}{A} .$$

Baltajai šviesai $\lambda \approx 550 \text{ nm}$.

4. Stiklo lūžio rodiklio matavimas

Tarkime, kad taškas P yra terpėje, kurios lūžio rodiklis n (4.6 pav.). Išėjęs iš taško P spindulys taške B lūžta ir nutolsta nuo statmens. Stebėtojiui atrodo, kad spindulys sklinda iš taško C. Iš trikampių ACB ir APB reiškiami: $AB = AC \tan \beta = AP \tan \alpha$. Iš čia

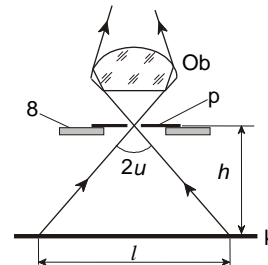
$$\frac{AP}{AC} = \frac{\tan \beta}{\tan \alpha} = \frac{\sin \beta}{\cos \beta} \frac{\cos \alpha}{\sin \alpha} = n \frac{\cos \alpha}{\cos \beta} .$$

Kadangi stebima beveik statmenąja kryptimi, tai dalmuo $(\cos \alpha / \cos \beta) \approx 1$. Tada

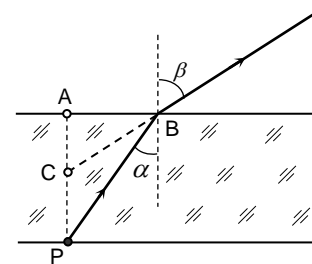
$$n = \frac{AP}{AC} .$$

Norint šia išraiška panaudoti stiklo plokštelės lūžio rodiklio nustatymui, reikia ant mikroskopo staliuko padėti poliruotą plokštelę su žymele paviršiuje. Mikroskopas fokusuojamas į tą žymelę (taškas P, 4.6 pav.) ir užrašomas mikrosraigto rodmuo p . Po to ant viršaus dedama tiriamoji plokštelė su žymelėmis abiejuose paviršiuose. Mikroskopas fokusuojamas į apatinę tiriamosios plokštelės žymelę (taškas C) ir užrašomas mikrosraigto rodmuo c . Po to mikroskopas fokusuojamas į viršutinę žymelę (taškas A) ir užrašomas mikrosraigto rodmuo a . Tada $AP = a - p$, $AC = a - c$ ir tiriamosios plokštelės lūžio rodiklis skaičiuojamas pagal formulę:

$$n = \frac{a - p}{a - c} .$$



4.5 pav. Objektyvo skaitinės apertūros nustatymo schema



4.6 pav. Spindulio sklindimas stiklo plokštelėje