

### 3. MIKROSKOPAS

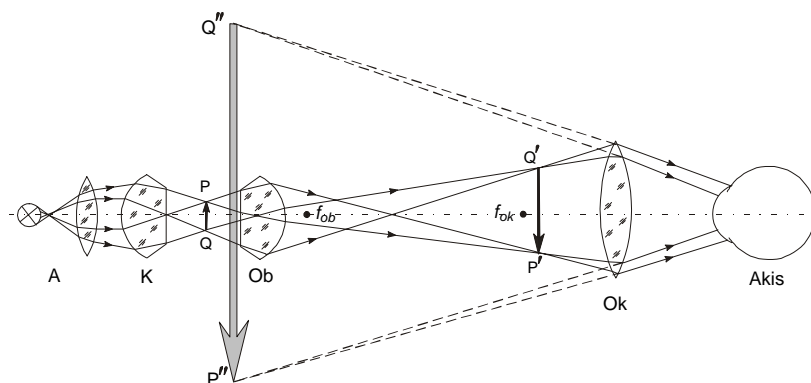
#### Užduotys

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 ( $D = 250 \text{ mm}$ ) gali išskirti smulkiają struktūrą, sudarytą iš linijų arba taškų, jei gretimi struktūros elementai yra ne mažesni kaip  $0,08 \text{ mm}$  atstumu. Tačiau daugelio objektų (bakterijų, smulkių kristalų, metalų mikrostruktūros ir t. t.) matmenys yra gerokai mažesni. Tokie objektai tiriama įvairių rūšių mikroskopais. Mikroskopu nustatoma mažų objektų forma, matmenys ir cheminė sandara. Optiniu mikroskopu galima skirti struktūros elementus, kurių tarpai yra iki  $0,25 \mu\text{m}$ .

Tarkime, kad daiktą PQ apšviečia apšvietiklis A pro kondensorių K (3.1 pav.). 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:



3.1 pav. Mikroskopo optinė schema

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

čia  $V_{ob} = \Delta / f_{ob}$  ( $\Delta$  – 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, geriausio matymo nuotolis). Tada bendrasis mikroskopo kampinis didinimas išreiškiamas taip:

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

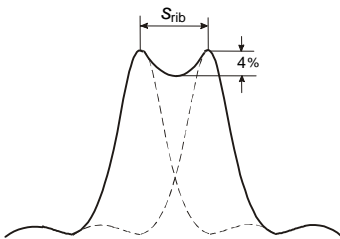
Mikroskopas yra sudėtinga optinė sistema ir joje sklindantys šviesos pluošteliai ne visada yra bendracentriai. Dėl to daikto atvaizdas gerokai iškraipomas, pasireiškia aberacijos. Tačiau kai tenkinama Abės (*Abbe*) sinusų sąlyga

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

(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*

$$A = n \sin u;$$



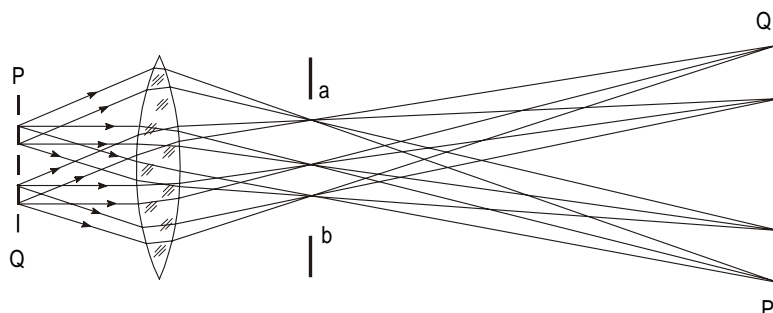
3.2 pav. Ribinis apšvietos skirstinys dviejų artimų taškų atvaizde

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) (3.5 pav.). Kai šviečiantys elementai yra arti vienas kito, jų difrakciniai atvaizdai dengia vienas kitą, ir susidaro sudėtingas apšvietos skirstinys (3.2 pav.). Mažiausias kontrastas, kurį dar galima matyti plika akimi yra 4 %. Tada mažiausias atstumas tarp dviejų šviečiančių taškų, kurį galima išskirti mikroskopu, lygus:

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

Abės išplėtotą klasikinę teoriją pateikia tokia atvaizdo susidarymo samprata. Jei daiktas yra plokščioji gardelė PQ (3.3 pav.), tai į ją krinantis lygiagrečių spindulių pluoštelis difraguoja ir galinėje objektyvo židinio plokštumoje susidaro kelių eilių ( $\dots, -2, -1, 0, 1, 2, \dots$ ) 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 difrakcinių

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



3.3 pav. Atvaizdo sukūrimo schema pagal Abę

Abė įrodė, kad mažiausias atstumas tarp dviejų savime 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 įstrižam apšvietimui. Objektyvo skaitinę apertūrą galima padidinti erdvėje tarp daikto ir objektyvo naudojant vadinamąjį imersinį skystį. Didelio didinimo imersinių objektyvų skaitinė apertūra  $A \approx 1,3$ .

Apskaičiuota, 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 kaupti spindulius taip, kad kiekvienas spindulio taškas vienodai paveiktų visus regėjimo lauko taškus, dėl to ir susidaro tolygi lauko apšvieta.

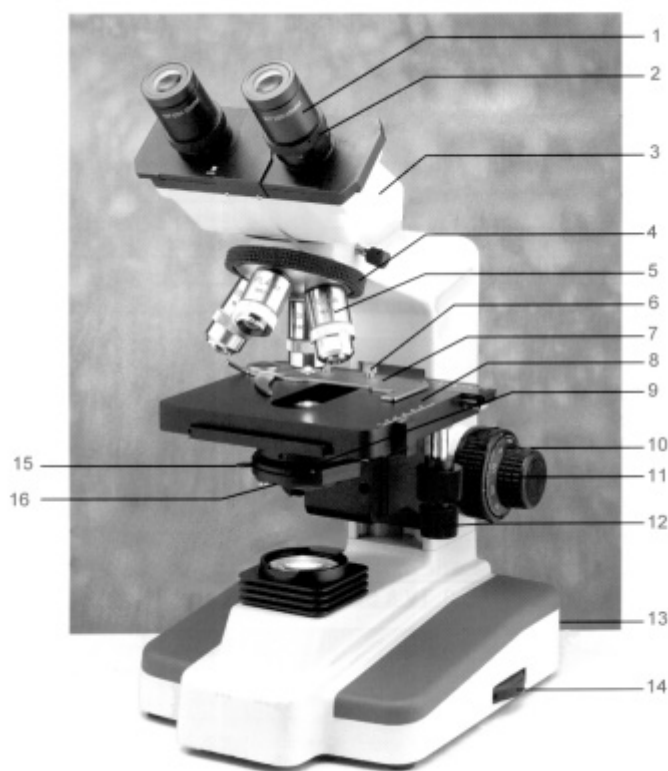
Objektų stebėjimo metodai yra įvairūs, priklauso nuo tiriamojo bandinio pobūdžio. Bandinio struktūrą pro mikroskopą galima pamatyti tik tada, kai atskiros jo dalelės skiriasi viena nuo kitos (arba nuo supančiosios terpės) šviesos sugertimi, atspindžiu arba lūžio rodikliu. Naudojami šie stebėjimo metodai: 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 ilginiam didinimui nustatyti naudojamas objektas – mikrometrinė skalė, kuri dedama ant mikroskopo staliuko 8 (3.4 pav.), ir okuliarinis mikrometras, kuris įdedamas į okuliario vamzdį. Sukinėjant okuliarą nustatomas ryškus siūlų sankirtos (kartu ir dvigubo indekso bei skalės) atvaizdas. Po to sufokusuojamas mikroskopo tubusas, sukiniant mikroskopo makrosraigą 10 ir mikroraigą 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).

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



3.4 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 – makrosraigas,

11 – mikrosraigtas, 12 – stalelio reguliavimo sraigtai, 13 – tinklo jungiklis, 14 – šviesos intensyvumo reguliatorius, 15 – diafragmos reguliavimo rankenėlė, 16 – filtrų laikiklis

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

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) sufokusuojamas 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

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

čia  $V_{ob}$  – mikroskopo objektyvo ilginis didinimas.

## 3. Objektyvo skaitinės apertūros nustatymas

Ant mikroskopo stalelio 8 dedama plokštelė  $p$  (3.5 pav.) su maža skylute ir mikroskopo tubusas sufokusuojamas taip, kad ryškiai matytųsi skylutės atvaizdo kraštai. Išimamas apšvietimo kondensorius 9 (3.4 pav.) ir apačioje ant apšvietiklio dedama liniuotė  $k$ . Iš okuliario 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 tarp objektyvo ir plokštelės yra oras ( $n \approx 1$ ), tai mikroskopo objektyvo skaitinė apertūra apskaičiuojama iš tokios išraiškos:

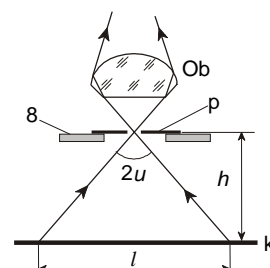
$$A = n \sin u = \frac{l}{2 \sqrt{h^2 + (l/2)^2}}.$$

Nustačius skaitinę apertūrą  $A$  galima įvertinti mikroskopo objektyvo skiriamąją gebą apskaičiuavus skyros vertę:

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

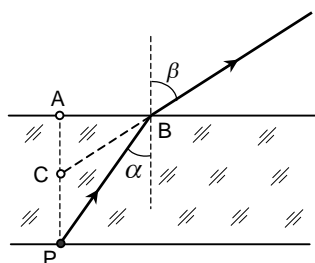
Jei naudojama baltoji šviesa, tai  $\lambda \approx 550$  nm.

## 4. Stiklo lūžio rodiklio matavimas



3.5 pav. Objektyvo skaitinės apertūros nustatymo schema

Tarkime, kad taškas P yra terpėje, kurios lūžio rodiklis  $n$  (3.6 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 išreiškiama taip:  $AB = AC \tan\beta$  ir  $AB = AP \tan\alpha$ .



3.6 pav. Spindulio sklaidimas stiklo plokštelėje

Iš čia

$$AC \tan\beta = AP \tan\alpha,$$

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

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

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

Norint šia išraiška pasinaudoti stiklo plokštelės lūžio rodikliui nustatyti, reikia ant mikroskopo stalelio padėti nupoliruotą plokštelę su žymele paviršiuje. Mikroskopas sufokusuojamas į tą žymelę (taškas P, 3.6 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 apskaičiuojamas pagal tokią formulę:

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