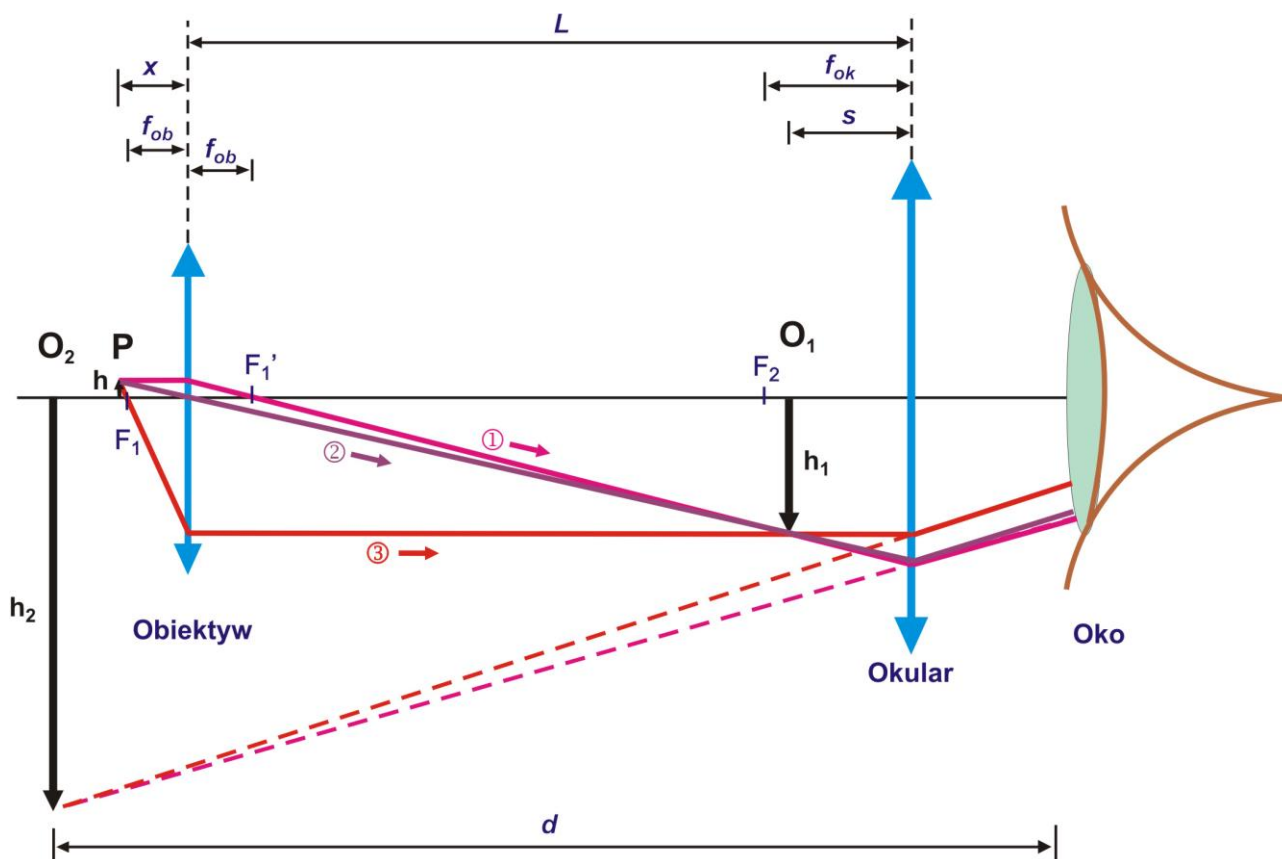


Ćw. 9. Skalowanie mikroskopu i pomiar małych przedmiotów

Wprowadzenie

Mikroskop jest przyrządem optycznym dającym znaczne powiększenia małych przedmiotów poprzez zwiększenie kąta widzenia tych przedmiotów znajdujących się blisko oka w odległości „dobrego widzenia”. Składa się on z dwóch optycznych układów zbierających: obiektywu i okularu. Obiektyw wytwarza obraz rzeczywisty, powiększony i odwrócony przedmiotu umieszczonego w pobliżu ogniska. Obraz ten, oglądany przez okular, który działa jak lupa jest jeszcze raz powiększony. Ostateczny obraz widziany przez oko jest więc obrazem odwróconym i urojonym.



Rys. 1. Schemat powstawania obrazu w mikroskopie: P – przedmiot (strzałka); O_1 , O_2 – obrazy; F_1 , F_2' – ogniska obiektywu; F_2 – ognisko okularu.

Aby wyznaczyć powiększenie mikroskopu posłużymy się uproszczoną konstrukcją powstawania obrazu z wykorzystaniem optyki geometrycznej, przedstawioną na rysunku 1. Przedmiot P o wysokości h oglądany przez mikroskop umieszcza się w odległości x nieznacznie większej od odległości ogniska F_1 . Powstawanie obrazu O_1 wytwarzanego przez obiektyw (traktowany tutaj jak cienka soczewka skupiająca) opiszemy analizując promienie wychodzące z grotu strzałki P , których

bieg znany. Promień ① biegnący równoległe do osi optycznej, po przejściu przez obiektyw pobiegnie przez ognisko F_1' . Promień ② przechodzący przez środek obiektywu nie zmieni kierunku. Natomiast promień ③, który najpierw przechodzi przez ognisko F_1 , po przejściu przez obiektyw będzie biegł równoległe do osi optycznej. Wszystkie trzy promienie przetną się w jednym punkcie wytwarzając grot strzałki w obrazie O_1 . Analogicznie pozostałe promienie wychodzące z przedmiotu P będą się przecinać i wytwarzać obraz całej strzałki o wysokości h_1 w miejscu oznaczonym na rysunku 1 jako O_1 . Długość tubusa L , czyli odległość obiektywu od okularu jest tak dobrana, że powiększony, odwrócony i rzeczywisty obraz O_1 powstaje między okularzem i ogniskiem F_2 , bardzo blisko tego ogniska.

Ponieważ obraz O_1 w stosunku do okularu znajduje się w odległości s mniejszej niż jego ogniskowa f_{ok} (ogniskowa – odległość ogniska od środka soczewki), więc okular działa tak jak lupa. Promienie świetlne przechodzą przez okular, który wytwarza dodatkowo powiększony, pozorny obraz O_2 - widziany przez obserwatora w odległości dobrego widzenia d (dzięki własnościom oka skupiającym promienie świetlne).

Powiększenie mikroskopu jest definiowane jako stosunek wielkości obrazu O_2 do wielkości przedmiotu P , a z prostych przekształceń wynika, że jest ono równe iloczynowi powiększeń obiektywu i okularu (1):

$$p = \frac{h_2}{h} = \frac{h_2}{h_1} \cdot \frac{h_1}{h} = p_{ob} \cdot p_{ok} , \quad (1)$$

gdzie: p_{ok} , p_{ob} – odpowiednio powiększenie okularu i obiektywu. Z podobieństwa trójkątów powiększenie obiektywu jest równe:

$$p_{ob} = \frac{h_1}{h} = \frac{L-s}{x} \approx \frac{L}{f_{ob}} . \quad (2)$$

Można zastosować to przybliżenie, gdyż: 1) przedmiot znajduje się w odległości x tylko nieznacznie większej od ogniskowej obiektywu, więc $x \approx f_{ob}$, oraz 2) odległość s jest nieznacznie mniejsza od ogniskowej okularu, która jest mała w porównaniu z długością tubusa, zatem $L - s \approx L$. Należy zaznaczyć, że z uwagi na czytelność rysunku 1, nie wszystkie proporcje zostały na nim zachowane. Powiększenie okularu, traktowanego jako lupy służącej do powiększenia obrazu O_1 jest równe:

$$p_{ok} = \frac{d}{s} \approx \frac{d}{f_{ok}} , \quad (3)$$

gdzie d - odległość dobrego widzenia, która dla większości ludzi wynosi około 25 cm. Ostatecznie, na podstawie wzorów (1), (2) i (3) można napisać:

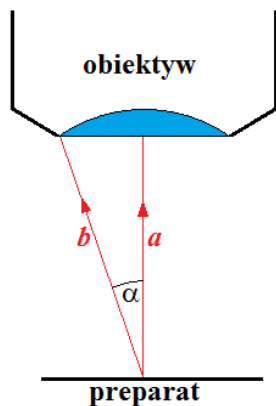
$$p = \frac{L}{f_{ob}} \cdot \frac{d}{f_{ok}} . \quad (4)$$

Zatem powiększenie mikroskopu optycznego jest proporcjonalne do długości tubusa i odwrotnie proporcjonalne do iloczynu ogniskowych obiektywu i okularu. Powiększenia tego nie można jednak zwiększać do dowolnie dużych wartości, gdyż z czasem zaczynają się ujawniać efekty dyfrakcyjne i interferencyjne związane z falową naturą światła. Przy pomocy dobrej klasy mikroskopu optycznego można uzyskać powiększenie rzędu 2000 razy.

Wielkością charakteryzującą mikroskopy pod względem możliwości rozróżniania elementów badanego preparatu jest tzw. **zdolność rozdzielcza** z mikroskopu:

$$z = \frac{1}{d_{\min}} , \quad (5)$$

gdzie d_{\min} jest najmniejszym rozmiarem przedmiotu, który może rozróżnić mikroskop. Na oglądanym przedmiocie następuje ugięcie promieni świetlnych, tak jak w szczelinach siatki dyfrakcyjnej. Szczegóły preparatu dostrzeżemy tylko wtedy, gdy do obiektywu trafi oprócz wiązki nie ugiętej (wiązka centralna) co najmniej jedna wiązka ugięta, wytwarzająca jasny obraz pierwszego rzędu (rys. 2).



Rys. 2. Przypadek, gdy do mikroskopu dochodzi oprócz wiązki centralnej a dochodzi wiązka pierwszego rzędu b ugięta pod kątem α .

Na podstawie zależności opisującej siatkę dyfrakcyjną: $d \cdot \sin \alpha = \lambda$, gdzie: d – stała siatki (w naszym przypadku $d = d_{\min}$), α – kąt ugięcia wiązki światła pierwszego rzędu, λ – długość fali padającego światła, otrzymujemy:

$$d_{\min} = \frac{\lambda}{\sin \alpha} . \quad (6)$$

Podstawiając zależność (6) do związku (5) otrzymujemy:

$$z = \frac{\sin \alpha}{\lambda} . \quad (7)$$

Zdolność rozdzielczą możemy zwiększyć zmniejszając długość fali. Jeżeli zatem między obiektyw i obserwowany przedmiot wprowadzimy ośrodek (ciecz immersyjną) o współczynniku załamania n względem powietrza, to do zależności (7) trzeba wprowadzić zamiast λ zmienioną długość fali λ_1 ($\lambda_1 = \lambda/n$); otrzymujemy wówczas

$$z = \frac{n \cdot \sin \alpha}{\lambda} . \quad (8)$$

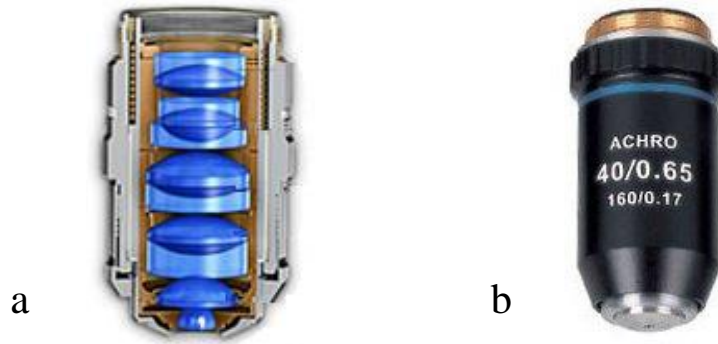
Z powyższej zależności widać, że zdolność rozdzielcza zależy od wyrażenia $n \cdot \sin \alpha$, które jest związane z parametrami obiektywu i nazywa się **aperturą numeryczną** A :

$$A = n \cdot \sin \alpha . \quad (9)$$

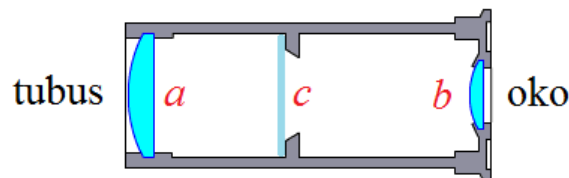
Obiektyw mikroskopu jest złożony jest z układu wielu soczewek eliminujących wady optyczne, które uwydatniają się wówczas gdy z preparatu do obiektywu dochodzi rozbieżna wiązka światła. O jakości mikroskopu decyduje zwłaszcza jakość obiektywu. Przykładowy przekrój obiektywu oraz jego fotografię wraz z oznaczeniami przedstawia rysunek 3ab.

Budowa okularu mikroskopu jest o wiele prostsza niż budowa obiektywu. Najczęściej stosowanym jest okular typu Huygensa (rys. 4), który zbudowany jest z tubusa wyposażonego w dwie soczewki zbierające. Często wewnątrz tubusa okularu umieszczona jest przezroczysta

płytką z naniesioną podziałką zwana skalą okularową. W nowoczesnych mikroskopach często zamiast okularu stosujemy kamerę cyfrową podłączoną do komputera.

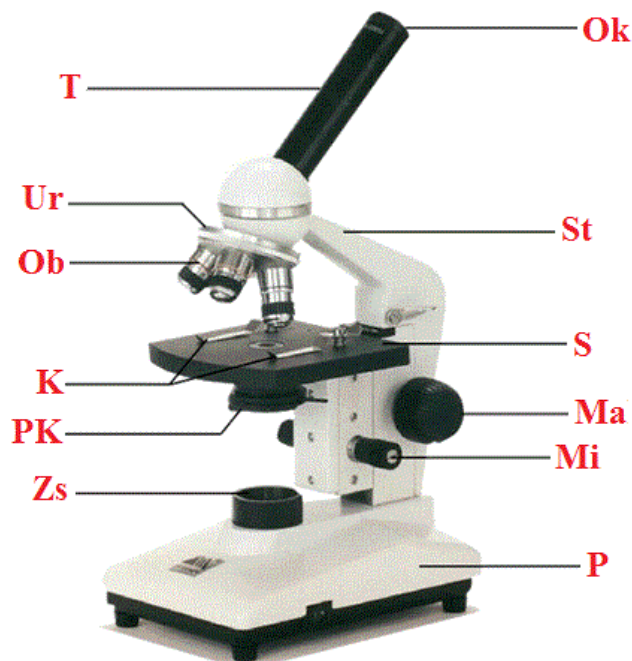


Rys.3. a) Przekrój obiektywu planachromatycznego. b) Widok obiektywu achromatycznego o powiększeniu 40x, aperturze numerycznej 0,65 stosowanego do mikroskopu z tubusem o długości 160 mm. Maksymalna grubość szkiełka nakrywkowego (przykrywającego preparat) 0,17 mm.



Rys. 4. Przekrój okularu typu Huygensa: *a* i *b* – soczewki płasko-wypukłe, *c* – przesłona z umieszczoną skalą.

Bardzo ważne w mikroskopie jest odpowiednie oświetlenie preparatu, dlatego też stoliki mikroskopów wyposażone są w soczewki (kondensory) i przesłony pozwalające odpowiednio oświetlić (najczęściej od spodu) oglądany preparat. Mikroskopy wyposażone są w lampkę oświetlającą lub w zwierciadło pozwalające kierować na preparat wiązkę światła zewnętrznego. Budowę zewnętrzną mikroskopu przedstawia rysunek 5.



Rys. 5. Budowa mikroskopu optycznego (objaśnienie w tekście).

Mikroskop składa się ze statywu (St), tubusa (T), w którym osadzony jest okular (Ok). Uchwyt rewolwerowy (Ur) pozwala na obrotowe ustawienie żądanego obiektywu (Ob). Na stoliku przedmiotowym (S) umieszczamy szkiełko z preparatem. Szkiełko przytrzymywane jest za pomocą klipsów (K). Preparat oświetlany jest od spodu za pomocą źródła światła (Zs) w postaci elektrycznej lampki, która przymocowana jest do podstawy (P). Zamiast lampki często stosuje się zwierciadełko. Światło, zanim trafi na preparat, przechodzi przez przesłonę z kondensorem (PK), gdzie odbywa się regulacja jego intensywności. Śruba makrometryczna (Ma) służy do oddalania lub przybliżania stolika od obiektywu regulując tym samym zgrubnie ostrość. Do dokładnego ustawienia ostrości służy śruba mikrometryczna (Mi).

Metoda pomiaru

Aby dokonywać pomiarów rozmiarów preparatów za pomocą mikroskopu należy zastosować okular wyposażony w podziałkę. Podziałka ta musi być odpowiednio wyskalowana. Skalowania podziałki okularowej dokonujemy umieszczając na stoliku przedmiotowym w miejscu preparatu tzw. skalę mikrometryczną, która ma długość 1 mm i jest podzielona najczęściej na 100 części. Postępujemy tak, aby przez mikroskop widzieć jednocześnie dwie skale umieszczone równolegle względem siebie, jedna pod drugą. Ponadto położenia skal dobieramy w ten sposób, aby uzyskać dwa miejsca, w których kreski podziałki okularu pokrywają się z kreskami skali mikrometrycznej. Pomiar jest tym dokładniejszy im dłuższy odcinek skali przyjmiemy. Najlepiej przyjąć maksymalną długość jednej z podziałek (tej, która jest mniejsza w polu widzenia). Stałą podziałki skali okularowej, czyli jakiej części milimetra odpowiada jedna działka okularu, obliczamy według wzoru (10):

$$k = \frac{n}{100 \cdot b} \quad [mm], \quad (10)$$

gdzie: k – stała podziałki; b – liczba działek skali okularowej; n - liczba działek skali mikrometrycznej.

Przykład wyznaczenia n oraz b dla skali okularowej mającej 100 działek oraz skali mikrometrycznej mającej 100 działek/1 mm przedstawia rys. 6. W tym wypadku można przyjąć np. $b = 100$ i $n = 63$ (pomiar najdokładniejszy) lub $b = 70$ i $n = 44$. **Uwaga:** w opisywanym przykładzie, gdy widoczna skala mikrometryczna była by mniejsza niż skala okularowa, wówczas to $n > b$.



Rys. 6. Przykład widoku dwóch skal pod mikroskopem.

Znając wartość k możemy, dla tego samego okularu i obiektywu, dokonać pomiaru interesującego nas preparatu. W tym celu zamiast skali mikrometrycznej umieszczamy pod obiektywem dany preparat i określamy żądany wymiar preparatu w działkach okularu. Jeżeli przyjmiemy, że liczba działek okularu określająca rozmiar preparatu wyniesie z , to rozmiar preparatu w milimetrach wyniesie:

$$l = k \cdot z. \quad (11)$$

Wykonanie ćwiczenia

1. Na stoliku przedmiotowym umieścić badany przedmiot w postaci cienkiego drucika zatopionego w płytce.
2. Umieścić okular z podziałką w tubusie mikroskopu oraz obracając uchwyt rewolwerowy nastawić żądany obiektyw, przy czym powiększenie mikroskopu należy dobrać tak, aby widoczny przedmiot mógł być zmierzony możliwie dokładnie.
3. Zmierzyć średnicę drucika wyrażoną w liczbie działek okularu z .
4. Pomiaru średnicy dokonać co najmniej trzykrotnie dla takiej samej kombinacji okular-obiektyw, o ile prowadzący ćwiczenia nie zaleci inaczej.
5. Wyjąć badany przedmiot i w jego miejsce umieścić skalę mikrometryczną.
6. Używając tej samej pary okular-obiektyw, którą mierzyliśmy badany przedmiot, ustawić ostrość i położenie skali mikrometrycznej i określić liczbę działek skali okularowej b oraz odpowiadającą jej liczbę działek skali mikrometrycznej n .
7. Wyliczyć stałą działki okularu k ze wzoru (10).
8. Za pomocą wzoru (11) dokonać obliczeń średnicy próbki l .
9. Pomiaru wpisać do tabeli, obliczając także średnią wartość l .
10. Niepewność pomiarową wielkości l obliczamy metodą różniczkową wykorzystując wzór:

$$l = \frac{n}{100 \cdot b} \cdot z$$

w którym przyjmujemy niepewność jednej ze zmiennych n lub b , w zależności od tego, którą podziałkę odczytywaliśmy, oraz niepewność odczytu z .

Tabela pomiarowa: przykład dla trzech pomiarów.

Numer obiektywu	Numer okularu	b [działki]	n [działki]	k [mm]	z [działki]	l [mm]	$l_{\text{śred}}$ [mm]

Zagadnienia do kolokwium:

1. Powstawanie obrazu w mikroskopie, powiększenie mikroskopu.
2. Rozdzielczość mikroskopu.
3. Budowa mikroskopu.
4. Pomiar małych przedmiotów za pomocą mikroskopu.

Bibliografia:

1. Szczeniowski S., *Fizyka doświadczalna*, PWN, Warszawa 1983 Cz. 4, Optyka.
2. Meyer-Arendt J. R., *Wstęp do optyki*, PWN Warszawa 1979.
3. Dryński T., *Zajęcia laboratoryjne z fizyki*. PWN, Warszawa 1976.
4. Halliday D., Resnick R., Walker J., *Podstawy fizyki*, PWN Warszawa 2003, tom 4.

Opiekun ćwiczenia: dr Jarosław Borec