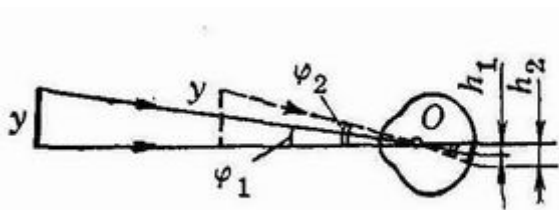


ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 11

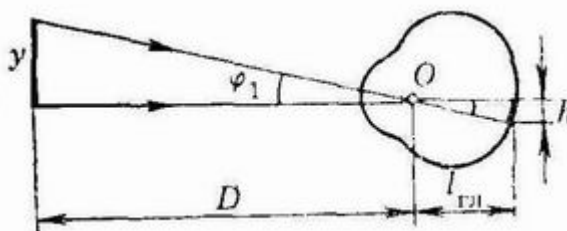
МИКРОСКОП

Цель работы. Изучить устройство микроскопа, измерить его увеличение и определить предел разрешения.

Глаз. В оптическом отношении глаз можно рассматривать как собирающую линзу с переменным фокусным расстоянием, дающую перевернутое уменьшенное действительное изображение предметов на сетчатке глаза. В зависимости от удаления предмета мышцы сжимают хрусталик глаза так, что изображение точно фокусируется на сетчатке. Эта способность глаза называется аккомодацией. Существует ближний предел аккомодации. У детей он порядка 10 см, у взрослых — 20—25 см и более в зависимости от возраста.



Р и с. 1



Р и с. 2

Расстояние до предмета, при котором наиболее удобно (без перенапряжения) рассматривать детали предмета, называют расстоянием наилучшего видения (зрения). Для нормального глаза расстояние наилучшего видения $D = 0,25$ м. Это обычное рабочее расстояние при чтении или письме. При меньших расстояниях человек с нормальным зрением лишь с трудом аккомодирует свой глаз и быстро утомляется. При аккомодации на очень удаленный предмет (на бесконечность) изображение фокусируется на сетчатке без какого бы то ни было напряжения мышц.

Две близкие точки предмета воспринимаются нами отдельно (разрешаются), если их изображения на сетчатке глаза попадают на разные нервные окончания, т. е. находятся друг от друга на расстоянии, не меньшем некоторого предельного. В противном случае изображение воспринимается как одна точка (так называемая физиологическая точка).

Линейный размер h изображения на сетчатке зависит от угла зрения φ (рис. 1). При малых углах отношение линейных размеров изображений приблизительно равно отношению углов зрения:

$$h_2 / h_1 = \varphi_2 / \varphi_1 \quad (1.1)$$

Минимальный угол зрения φ_{\min} , при котором еще разрешаются две точки, называется разрешаемым угловым расстоянием, а обратная величина — разрешающей способностью или остротой зрения. Для нормального глаза $\varphi_{\min} \approx 1'$. Следовательно, минимальный физиологически разрешаемый линейный размер предмета с расстояния наилучшего видения D равен

$$y_{\min} = D\varphi_{\min} \quad (1.2)$$

При этом линейный размер изображения на сетчатке

$$h_{\min} = l_{\text{гл}}\varphi_{\min}, \quad (1.3)$$

где $l_{\text{гл}}$ — глубина глаза (от оптического центра O до сетчатки, рис. 2). Если $\varphi_{\min} \approx 1'$, а $l_{\text{гл}} \approx 1,5$ см, то $y_{\min} \approx 7 \cdot 10^{-5}$ м и $h_{\min} \approx 4 \cdot 10^{-6}$ м. Величина h_{\min} и характеризует расстояние между двумя соседними зрительными рецепторами на сетчатке глаза.

Таким образом, разрешающая способность глаза ограничена физиологической структурой его сетчатки. Кроме того, разрешающая способность любой оптической системы (в том числе и глаза) ограничена дифракцией света на входном зрачке. Предельный угол разрешения, определяемый дифракцией на зрачке:

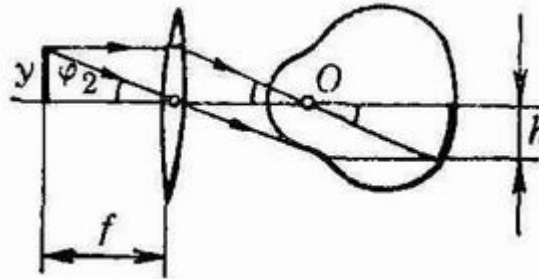
$$\Theta_{\min} = 1,22\lambda / d, \quad (1.4)$$

где λ — длина волны света; d — диаметр входного зрачка. Полагая для глаза $d = 2$ мм и $\lambda = 5 \cdot 10^{-7}$ м, получим $\Theta \approx 1'$. Эта величина удивительно хорошо согласуется с физиологической возможностью глаза ($\varphi_{\min} \approx 1'$), т. е. структура его сетчатки практически позволяет достичь максимума, принципиально допустимого законами природы.

Лупа. Приближение предмета позволяет увеличить угол зрения (см. рис. 1) и, следовательно, уменьшить минимальный разрешимый линейный размер предмета. Но такая возможность ограничена аккомодационным пределом. При очень близком расположении предмета лучи света, вышедшие из одной точки предмета и попадающие в зрачок глаза, расходятся под большим углом (большой апертурный угол). Аккомодационная мышца при этом не в состоянии сжать хрусталик настолько, чтобы преломить эти лучи и точно сфокусировать их на сетчатке. «Помочь» глазу в этом случае может короткофокусная собирающая линза (лупа), располагаемая между глазом и предметом. Если предмет приблизить настолько, чтобы он попал в переднюю фокальную плоскость лупы, то лучи, вышедшие из любой точки предмета, после лупы образуют параллельные пучки (рис. 3) и поэтому будут фокусироваться на сетчатке.

Таким образом, назначение лупы заключается в увеличении угла зрения путем приближения предмета к глазу на расстояния, заметно меньшие, чем $D = 0,25$ м.

Найдем угловое увеличение лупы. Угловым увеличением γ оптического прибора называется отношение угла зрения φ_2 при наблюдении объекта через оптический прибор к углу зрения φ_1 при наблюдении невооруженным глазом с расстояния наилучшего видения.



Р и с. 3

Из рисунков 2 и 3 следует, что

$$\varphi_1 = y/D \text{ и } \varphi_2 = y/f, \quad (1.5)$$

где y — линейный размер предмета; f — фокусное расстояние лупы. Следовательно, угловое увеличение лупы

$$y = D/f. \quad (1.6)$$

Из (1.6) видно, что чем меньше фокусное расстояние лупы, тем больше ее увеличение. Однако изготавливать лупы с малыми значениями f , а значит, и с малыми диаметрами линз, довольно сложно. Пользоваться ими также крайне трудно. Кроме того, для таких луп очень велики aberrации (искажения изображений). Поэтому практически используют лупы с увеличением, не превышающим 40.

Значительно большего увеличения можно достичь с помощью микроскопа.

Теория метода

Оптическая система микроскопа состоит из двух собирающих систем линз — объектива O_1 и окуляра O_2 (рис. 4). Предмет $y = |AB|$ помещается на малом расстоянии перед передним фокусом объектива (см. рис. 4). Объектив образует перевернутое увеличенное действительное изображение $y_1 = |A_1B_1|$, которое располагается в передней фокальной плоскости окуляра — окуляр действует как лупа.

Из рисунка 4 следует, что увеличение объектива

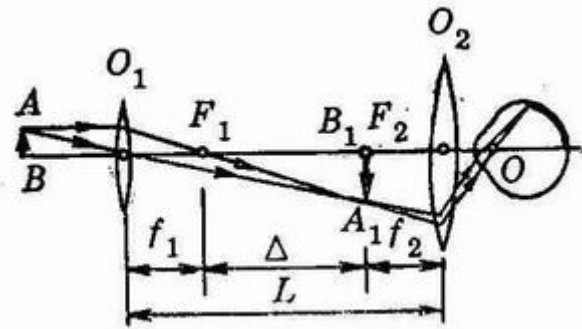
$$\beta = \frac{y_1}{y} = \frac{\Delta}{f_1} = \frac{L - f_1 - f_2}{f_1}, \quad (1.7)$$

где Δ — оптический интервал между объективом и окуляром (расстояние между задним фокусом F_1 объектива и передним фокусом F_2 окуляра); L — расстояние между объективом и окуляром; f_1 и f_2 — их фокусные расстояния.

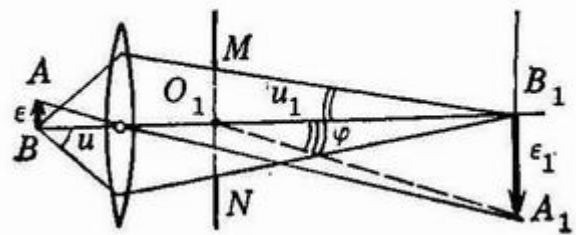
Увеличение окуляра определяется соотношением (1.6). Следовательно, увеличение микроскопа

$$\gamma_M = |\beta|\gamma = \frac{D(L - f_1 - f_2)}{f_1 f_2}. \quad (1.8)$$

Расстояние L задается тубусом микроскопа (стандартная длина 160 или 190 мм). Значения $|\beta|$ и γ указываются на оправках объектива и окуляра.



Р и с. 4



Р и с. 5

Если $f_1 = 1,5$ мм, $f_2 = 10$ мм, то увеличение $\gamma = 2,5 \cdot 10^3$. Однако такое большое увеличение бесполезно и даже вредно при наблюдении мелких деталей из-за дифракционного размывания изображения. Дело в том, что сферическая световая волна, распространяющаяся от некоторой точки объекта, испытывает дифракцию на входном отверстии микроскопа. В результате данной точке предмета в плоскости изображения соответствует не точка, а светлый дифракционный кружок с рядом concentric светлых и темных колец. Аналогичные дифракционные картины дают все другие точки объекта. В итоге изображение объекта представляет собой наложение множества дифракционных кружков и колец. При этом изображения очень близких точек объекта могут сливаться, а наложившиеся друг на друга кольца — дать ложную, совершенно несвойственную рассматриваемому объекту структуру.

Разрешающая сила микроскопа. Практический интерес при использовании микроскопа представляет не угловое, а линейное разрешаемое расстояние. Предположим, что aberrations, как более грубые искажения по сравнению с дифракционным размыванием изображения, устранены. Рассмотрим две близкие точки A и B объекта (рис. 5), испускающие некогерентные волны (объект самосветящийся или рассеивающий свет от протяженного осветителя). Введем обозначения: $\epsilon = |AB|$ — линейный размер предмета, $\epsilon_1 = |A_1B_1|$ — линейный размер изображения, $d = |MN|$ — диаметр апертурной (наиболее сильно ограничивающей пучок лучей) диафрагмы, $r = |O_1B_1| \approx |O_1A_1|$ — расстояние от диафрагмы до плоскости изображения, φ — угол дифракции на отверстии апертурной диафрагмы, u — апертурный угол со стороны пространства объектов, n — показатель преломления этого пространства, u_1 — апертурный угол со стороны пространства изображений, n_1 — показатель преломления этого пространства (для воздуха $n_1 = 1$).

Вследствие фраунгоферовой (в микроскопе угол n_1 мал) дифракции на круглом отверстии апертурной диафрагмы точки A_1 и B_1 окружены дифракционными кольцами. Согласно критерию Рэлея, изображения источников света считаются разрешенными, если дифракционный максимум для одного из них совпадает с первым дифракционным минимумом для другого. Поэтому $\epsilon_1 = r_1$, где r_1 — радиус первого темного кольца. Поскольку угловой радиус φ этого кольца мал и определяется из условия $d \sin \varphi = 1,22\lambda$, а $d = r2u_1$, то

$$\epsilon_1 u_1 = 0,61\lambda \quad (1.9)$$

Используя условие синусов $\varepsilon n \sin u = \varepsilon_1 n_1 \sin u_1$, выполняющееся в микроскопе для устранения некоторых aberrаций, получаем

$$\varepsilon = \frac{0,61\lambda}{n \sin u}. \quad (1.10)$$

Можно показать, что в случае, когда точки A и B испускают когерентные волны, разрешающая сила

$$\varepsilon = \frac{0,50\lambda}{n \sin u}. \quad (1.11)$$

В реальных условиях освещение объектов в микроскопах производится широкими пучками лучей различных направлений. Следовательно, полной когерентности нет. Поэтому величину, определяемую соотношением (1.10), можно рассматривать как предел разрешения микроскопа, обусловленный волновой природой света.

Таким образом, разрешающая способность $1/\varepsilon$ микроскопа зависит лишь от числовой апертуры A ($A = n \sin u$) объектива и от длины волны λ света, в котором ведется наблюдение, и не зависит от увеличения.

Для повышения разрешающей способности (уменьшения ε) используют широкие апертуры u , а также иммерсионные среды — жидкости с большими значениями показателя преломления (вода $n = 1,333$; кедровое масло $n = 1,516$; бромнафталин $n = 1,660$; йодистый метилен $n = 1,741$). Жидкостью заполняют пространство между предметом и передней поверхностью объектива. При этом одновременно уменьшается рассеяние света и тем самым увеличивается контрастность изображения.

В лучших современных иммерсионных объективах числовая апертура достигает значения $A = 1,5$. В этих условиях

$$\varepsilon \approx 0,4\lambda \quad (1.12)$$

Следовательно, детали объекта, имеющие размер менее $0,4 \lambda$, выявить с помощью микроскопа уже нельзя.

Из (1.12) видно, что в ультрафиолете ($\lambda \sim 200\text{—}300$ нм) разрешимы более мелкие детали, чем в видимом диапазоне световых волн. Использование электронных микроскопов позволяет достигнуть значения $\varepsilon \sim 10^{-10}$ м.

Рациональное увеличение. Ограничение разрешающей способности микроскопа обуславливает и ограничение увеличения, которое целесообразно применять при рассмотрении мелких объектов.

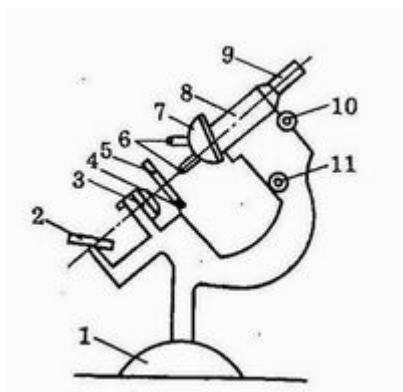
Оценим увеличение, достаточное для наблюдения деталей с линейными размерами порядка предела разрешения ε . Пусть объект освещается светом длиной волны $\lambda = 500$ нм, а числовая апертура безымерсионного объектива $A = 0,94$. Тогда в соответствии с (1.10) $\varepsilon \approx 3,2 \cdot 10^{-7}$ м. Для невооруженного глаза, согласно (1.2), $y_{\min} = 7 \cdot 10^{-5}$ м. Следовательно, достаточное линейное увеличение микроскопа $\beta_M = y_{\min} / \varepsilon \approx 2,2 \cdot 10^2$. Для иммерсионных объективов ($A \approx 1,5$) $\beta_M \approx 3,3 \cdot 10^2$. Практически используют и несколько большие увеличения. Однако строить микроскопы с увеличением $\beta_M \sim 10^3$ и более совершенно бессмысленно.

Описание установки

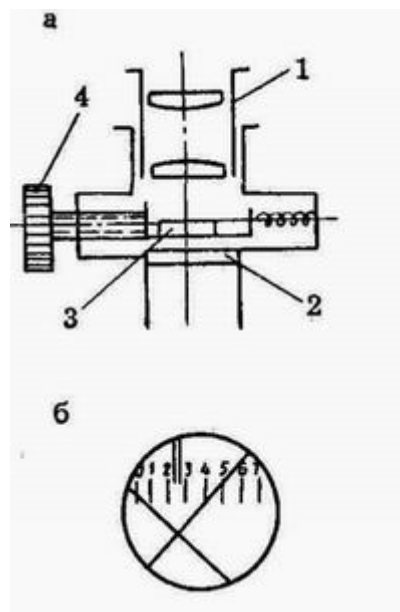
Общий вид микроскопа показан на рисунке 6. Все его детали монтируются на массивном основании 1 . Оптическая часть сосредоточена в тубусе 8 , в верхней части которого крепится окуляр 9 , а в нижней имеется поворотная турель 7 с набором объективов 6 . Наблюдаемый объект располагают на предметном столике 5 , который с помощью винтов 4 может перемещаться в двух взаимно перпендикулярных направлениях, а также поворачиваться вокруг вертикальной оси. Под предметным столиком находятся зеркало 2 и конденсор 3 , с помощью которых свет от лампы направляется на объект. Наводка на резкость осуществляется вертикальным перемещением тубуса с помощью

рукояток *10, 11*, одна (*10*) из которых служит для быстрого, а вторая (*11*) для медленного перемещения.

Если возникает необходимость не только наблюдать, но и измерять линейные размеры объектов, то вместо окуляра на тубусе крепится окулярный микрометр (рис. 7,а).



Р и с. 6

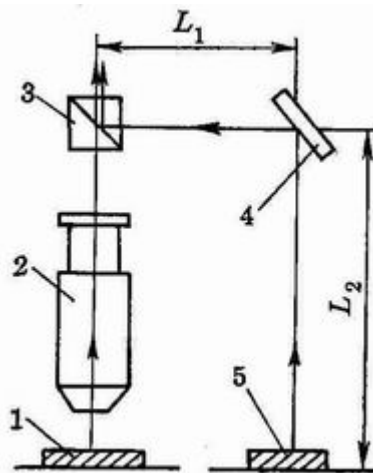


Р и с. 7

Окулярный микрометр представляет собой окуляр *1*, в который вмонтирована измерительная шкала *2*. Шкала располагается точно в плоскости действительного изображения, создаваемого объективом, и вместе с этим изображением рассматривается через окуляр *1*. При вращении измерительного барабана *4* в поле зрения окулярного микрометра перемещается крестообразный указатель (рис. 7,б) и связанный с ним индекс в виде двойной линии, которые выгравированы на нижней стороне стеклянной пластинки *3*. Принцип измерения состоит в том, что к одному краю изображения объекта подводят перекрестие крестообразного указателя и отсчитывают его координату по шкале микрометра (целые деления показывает двойная линия непосредственно в поле зрения, а десятые и сотые доли — указатель на шкале барабана).

Аналогично находят координату второго края изображения объекта. Разность двух координат, умноженная на цену деления, и будет равна линейному размеру объекта. Цена деления зависит только от объектива и определяется предварительно с помощью объект-микрометра.

Объект-микрометр представляет собой вмонтированную в оправу маленькую плоскопараллельную стеклянную пластинку круглой формы, на которой выгравирована шкала длиной в 1 мм с делениями, расположенными через 0,01 мм.



Р и с. 8

Для измерения увеличения всего микроскопа применяют рисовальный аппарат Аббе. Рисовальный аппарат крепится на тубусе микроскопа над окуляром и состоит из светоделительной призмы 3 и зеркала 4 (рис. 8). В светоделительной призме отражающая диагональная грань полупрозрачна, благодаря чему в глаз попадают лучи как из микроскопа 2, так и от расположенного рядом с микроскопом предмета (листа бумаги) 5. Таким образом, при соответствующем подборе освещения объектов 1 и 5 их изображения — одно увеличенное, а второе в натуральную величину — видны в поле зрения наложенными друг на друга. Это дает возможность зарисовать на листе бумаги, положенном на стол рядом с микроскопом, контуры наблюдаемых в микроскоп объектов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕНЫ ДЕЛЕНИЯ МИКРОСКОПА

Теория метода

Цена деления микроскопа

$$a = l/N, \quad (1.13)$$

где l — длина предмета; N — количество делений шкалы окулярного микрометра, соответствующее длине изображения предмета. В качестве предмета известной длины l используется участок шкалы объект-микрометра. Ее изображение совмещается со шкалой окулярного микрометра, по которой отсчитывается соответствующее число делений N , и затем по формуле (1.13) определяется величина a .

Задание

1. Поместить объект-микрометр на предметный столик и установить его шкалу параллельно шкале окулярного микрометра.
2. Измерить возможно больший отрезок шкалы объект-микрометра l в делениях N окулярного микрометра.
3. По формуле (1.13) рассчитать цену деления a .

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УВЕЛИЧЕНИЯ МИКРОСКОПА

Теория метода

Линейное увеличение микроскопа

$$\beta_M = l_2 / l \quad (1.14)$$

где l — длина объекта; l_2 — длина его изображения в микроскопе. В качестве предмета известной длины l используется участок шкалы объект-микрометра. Величина l_2

определяется по длине соответствующего отрезка, отмеченного карандашом на бумаге и совмещенного с помощью рисовального аппарата Аббе с изображением участка l_1 , наблюдаемым в микроскопе. Длина l_2 измеряется линейкой. При определении увеличения β_m суммарное расстояние $L_1 + L_2$ (см. рис. 8) должно быть равно расстоянию наилучшего зрения $D = 0,25$ м.

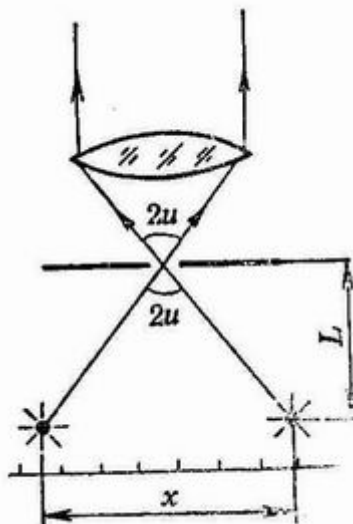
Задание

1. При отведенной в сторону светоделительной призмы навести микроскоп на хорошую видимость изображения шкалы объект-микрометра.
2. Установить призму на место и отметить карандашом на бумаге концы возможно большего отрезка l шкалы объект-микрометра.
3. Измерить линейкой расстояние l_2 между отметками на бумаге.
4. По формуле (1.14) рассчитать линейное увеличение микроскопа.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛОВОЙ АПЕРТУРЫ МИКРОСКОПА

Теория метода

Для определения числовой апертуры A необходимо измерить апертурный угол u . Схема измерения изображена на рисунке 9. На предметном столике размещается пластинка с небольшим отверстием (диафрагма). Микроскоп фокусируется на края диафрагмы, которая регулировочными винтами устанавливается в центре поля зрения. В результате диафрагма, а следовательно, и плоскость предметного столика будет находиться вблизи фокальной плоскости объектива. Если теперь вынуть окуляр, осветительное зеркало и конденсор и разместить под объективом (на ножках основания) специальную масштабную линейку, то при наблюдении через тубус (без окуляра) видна часть этой линейки, длина x которой будет



Р и с. 9

зависеть от апертурного угла u (см. рис. 9):

$$\operatorname{tg} u = x/(2L) \quad (1.15)$$

Если деления шкалы линейки плохо различимы, то для измерения расстояния x используются две маленькие горящие лампочки, передвигающиеся вдоль линейки. Определив из соотношения (1.15) апертурный угол u , можно найти и числовую апертуру $A = \sin u$.

Задание

1. Подготовить микроскоп к измерению апертурного угла согласно описанию метода.
2. Лампочки на линейке расположить так, чтобы их изображения оказались на краях поля зрения. Измерить расстояние x между лампочками.
3. Измерить расстояние L от плоскости диафрагмы до уровня нитей накала лампочек.
4. Используя формулу (1.15), вычислить апертурный угол u и числовую апертуру A .

Контрольные вопросы

1. Каковы назначение и принцип действия лупы и микроскопа? Начертите ход лучей в этих приборах.
2. Чем микроскоп отличается от зрительной трубы?
3. Как увеличить разрешающую способность лупы, микроскопа? Чем ограничена эта величина?
4. Можно ли с помощью микроскопа наблюдать отдельные молекулы?
5. Почему при измерении апертурного угла необходима фокусировка на диафрагму?

Литература: [9, с. 281—301; 14, с. 325—336, 348— 366; 30, с. 162—172].