



## LABORATORIUM OPTYKI GEOMETRYCZNEJ

### MIKROSKOP

#### 1. Cel ćwiczenia

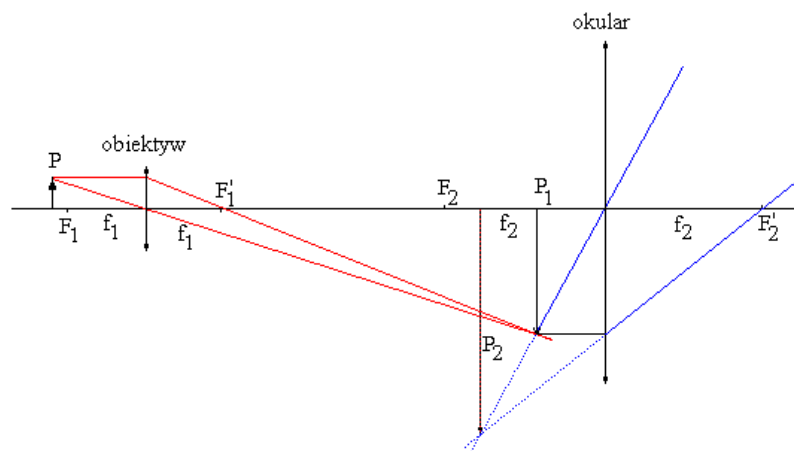
Zapoznanie się z budową i podstawową obsługą mikroskopu biologicznego.

#### 2. Zakres wymaganych zagadnień:

- Budowa mikroskopu.
- Powstawanie obrazu w mikroskopie.
- Powiększenie liniowe.
- Apertura numeryczna mikroskopu.
- Zdolność rozdzielcza.

#### 3. Wprowadzenie

Układ optyczny mikroskopu składa się z obiektywu i okularu rozmieszczonych na końcach rury zwanej tubusem. Przedmiot ustawia się w odległości większej niż ogniskowa obiektywu, a mniejszej niż podwójna ogniskowa. Dzięki temu powstający obraz jest rzeczywisty, powiększony i odwrócony i ten obraz staje się przedmiotem dla okularu, w którym powstaje obraz prosty, powiększony i urojony. Przedmiot musi pojawić się w odległości mniejszej niż ogniskowa okularu. Przybliżony schemat optyczny mikroskopu przedstawiono na rysunku 1.



**Rys. 1.** Schemat powstawania obrazu w mikroskopie.

Aby uniknąć wad soczewek obiektyw i okulary mikroskopów tworzą bardzo złożone układy optyczne składające się z soczewek różnych kształtów i wykonanych z różnych materiałów oraz przesłon.

Powiększenie mikroskopu w przybliżeniu obliczamy biorąc iloczyn powiększenia danego przez obiektyw i okular

$$P = P_{ob} \cdot P_{ok} \quad (1)$$

Powiększenie dawane przez obiektyw obliczamy z zależności:

$$P = \frac{H}{n} = \frac{y}{x} \approx \frac{y}{f_1} \quad (2)$$

przyjmując  $x \approx f_1$ , ponieważ przedmiot umieszczamy tuż za ogniskiem obiektywu. Obraz powstający w okularze jest taki sam jak obraz powstający w lupie, zatem powiększenie okularu obliczamy z zależności:

$$P_{ok} = \left| \frac{D}{f_2} \right|$$

gdzie:  $D$  jest odległością dobrego widzenia a  $f_2$  ogniskową okularu.

Zakładając, że  $f_2 \ll l$ , gdzie:  $l$  - jest długością tubusa, to wówczas możemy przyjąć

$$y \cong l.$$

Zatem powiększenie obiektywu w przybliżeniu obliczamy ze wzoru:

$$P_{ob} = \left| \frac{l}{f_1} \right|$$

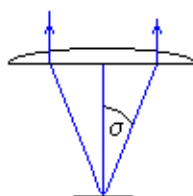
A powiększenie mikroskopu:

$$P = \left| \frac{l D}{f_1 f_2} \right| \quad (3)$$

Miarą zdolności rozdzielczej jest minimalna długość odcinka łączącego punkty rozpoznawane pod mikroskopem jako dwa (odcinek może być zastąpiony kątem). Zdolność rozdzielcza przyrządu decyduje o możliwości odczytania szczegółów budowy przedmiotu obserwowanego pod mikroskopem.

Zdolność rozdzielcza obiektywu wzrasta wraz ze wzrostem kąta pod jakim światło wpada do obiektywu i zależy od współczynnika załamania środowiska znajdującego się między obiektywem a obserwowanym przedmiotem.

Wielkością charakterystyczną obiektywu, określającą możliwość jego optymalnego wykorzystania w danym środowisku jest apertura numeryczna  $A$ .



**Rys. 2.** Apertura numeryczna obiektywu mikroskopowego.

Przy czym:

$$A = n \sin \sigma \quad (4)$$

gdzie:  $n$  - współczynnik załamania środowiska między przedmiotem a obiektywem,  $\sigma$  - kąt rozwarcia obiektywu.

Jasność obrazu mikroskopowego jest proporcjonalna do kwadratu apertury numerycznej, a odwrotnie proporcjonalna do kwadratu powiększenia.

Zdolność rozdzielcza obiektywu  $N$  jest proporcjonalna do jego apertury numerycznej  $A$ , a odwrotnie proporcjonalna do długości fali  $\lambda$  światła oświetlającego przedmiot.

$$N = \frac{1}{d} = \frac{A}{\lambda} \quad (5)$$

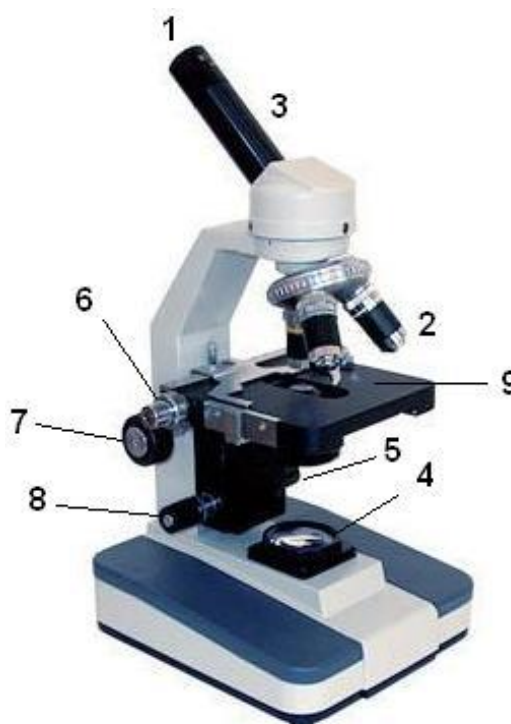
gdzie:  $d$  - długość odcinka łączącego punkty rozpoznawane jeszcze jako dwa. Ostatni związek jest prawdziwy wtedy, gdy przedmiot zostanie oświetlony wiązką promieni osiowych.

Ogólnie zdolność rozdzielczą definiujemy jako możliwość obserwacji 2 blisko siebie leżących punktów jako odrębne, a nie jako pojedynczą plamę.

### 3. Elementy podstawowe mikroskopu

Schemat mikroskopu:

- 1 – okular,
- 2 – obiektyw,
- 3 – tubus,
- 4 – zwierciadło lub oświetlacz,
- 5 – kondensator,
- 6 – śruba mikrometryczna do przesuwu stolika krzyżowego
- 7 – śruba do zgrubnego przesuwu stolika góra/dół,
- 8 – dokładna zmiana położenia stolika góra/dół,
- 9 – stolik.



### 4. PRZEBIEG WYKONANIA ĆWICZENIA

#### Kalibrowanie mikroskopu

1. Włączyć lampę oświetlającą mikroskopu.
2. Cechowanie mikroskopu.

Na stoliku mikroskopu umieścić płytkę ze skalę. Ustalić takie położenie skali okularu i skali na płytce, aby podziałki pokrywały się. Odczytać liczbę podziałek skali okularu odpowiadającą liczbie podziałek skali na płytce. Wyskaluj podziałkę okularu wiedząc, że odległość między podziałkami na płytce wynosi  $10 \mu\text{m}$ .

3. Pomiary przeprowadzić dla obiektywów 5x, 10x i 40x.

#### Pomiar grubości włosa

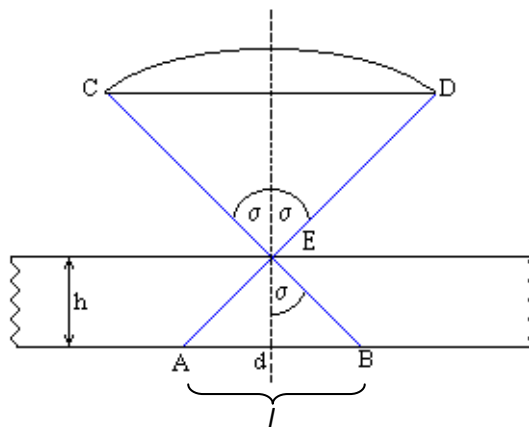
Wyznaczyć rozmiary : włosa stosując obiektyw 5x, 10x i 40x.

Skorzystaj z danych z cechowania mikroskopu.

### Pomiar apertury numerycznej

1. Na stoliku mikroskopu kładziemy skalę wzorcową (o podziałce 100  $\mu\text{m}$ ) i przykrywamy ją płytką płasko równoległościenną.
2. Otrzymujemy ostry obraz górnej powierzchni płytki (płytkę musimy trochę pobrudzić).
3. Nie zmieniając wysokości stolika zdejmujemy płytkę szklaną z nad skali wzorcowej oraz wyjmujemy okular i na jego miejsce wkładamy przesłonę z otworkiem.
4. Odczytujemy liczbę ( $n$ ) działek skali widocznych w okienku przesłony.
5. Przeliczamy liczbę  $n$  działek na długość  $l$  wyrażoną w milimetrach.
6. Mierzymy grubość płytki  $h$ .
7. Sinus kąta  $\sigma$  obliczamy z zależności:

$$\sin(\sigma) = \sqrt{\frac{\text{tg}^2(\sigma)}{1 + \text{tg}^2(\sigma)}} = \frac{l}{\sqrt{4h^2 + l^2}}$$

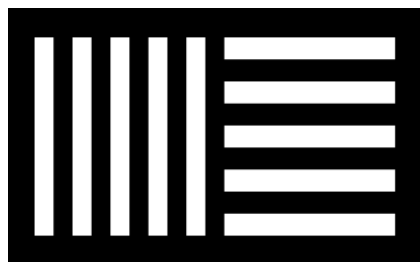


**Rys.3.** Bieg promieni przy pomiarze apertury numerycznej obiektywu mikroskopowego.

8. Czynności opisane w punktach 1 do 7 powtarzamy dla pozostałych obiektywów.

### Pomiar rozdzielczości mikroskopu

1. Umieścić na stoliku mikroskopowym slajd do badania rozdzielczości mikroskopu.
2. Obserwując kolejne obrazy szukamy takiego, dla którego możliwe jest rozróżnienie pełnego wzorca:



3. Wiedząc, że szerokość pojedynczego paska wynosi 35/8192 [mm] wyznacz rozdzielczość mikroskopu (numer przy każdym obrazku określa ile pikseli szerokości ma każdy biały lub czarny obszar).

4. Czynności opisane w punktach 1-3 powtarzamy dla pozostałych obiektywów.

**Obserwacja preparatu mikroskopowego**

Dokonać obserwacji 3 wybranych preparatów mikroskopowych i podać wymiary charakterystycznych elementów obrazu.



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

