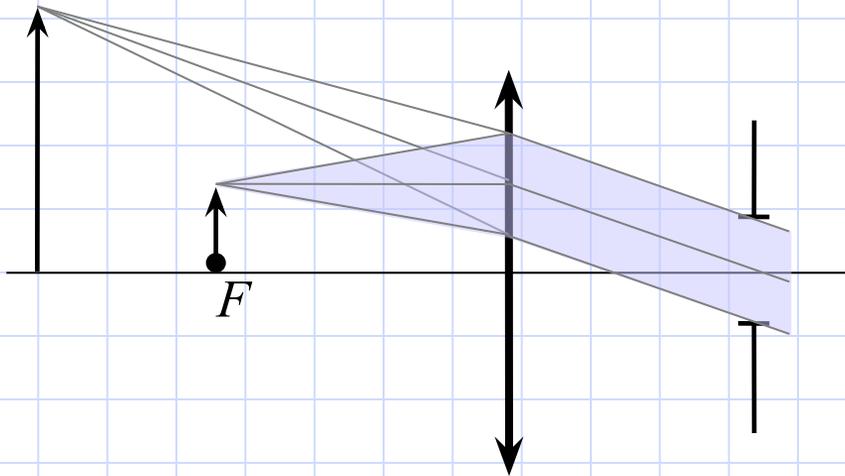


Микроскопы

Введение в специальность
кафедра
прикладной и компьютерной оптики

Лупа

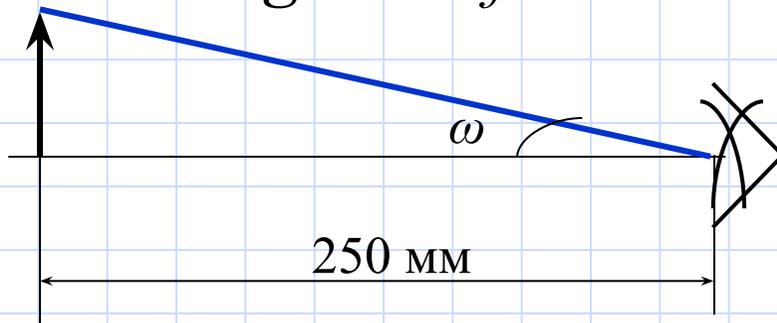
- **Лупа** – оптическая система, состоящая из линзы или нескольких линз, предназначенная для наблюдения предметов, расположенных на конечном расстоянии



Видимое увеличение лупы

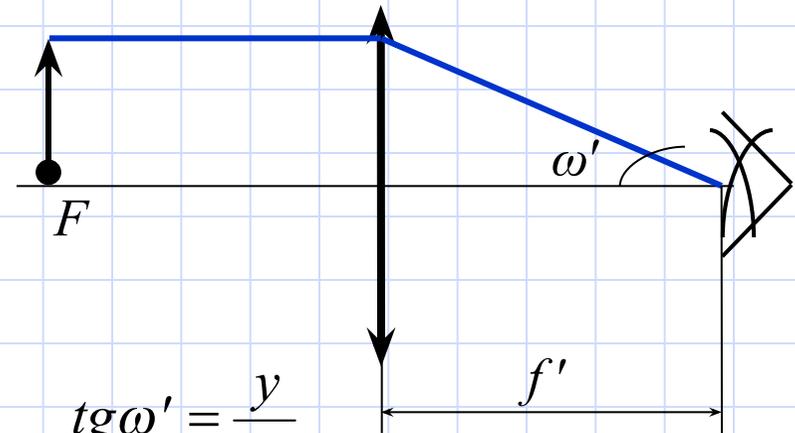
- Видимое увеличение лупы – отношение тангенса угла, под которым виден предмет через лупу, к тангенсу угла, под которым наблюдается предмет невооруженным глазом с расстояния наилучшего видения

$$\bar{\Gamma} = \frac{\operatorname{tg}\omega'}{\operatorname{tg}\omega} = \frac{250}{f'}$$



$$\operatorname{tg}\omega = \frac{y}{250}$$

наблюдение невооруженным глазом



$$\operatorname{tg}\omega' = \frac{y}{f'}$$

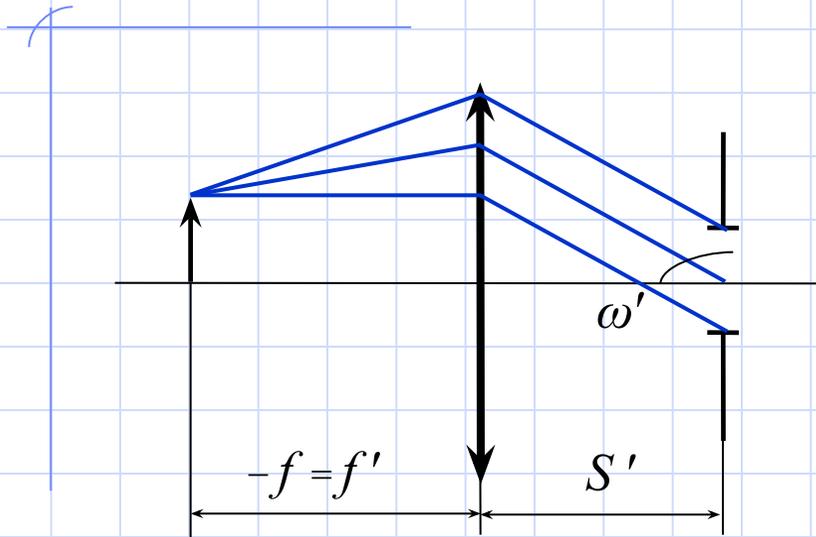
наблюдение через лупу

Диаметр выходного зрачка лупы

- Апертурной диафрагмой и одновременно выходным зрачком системы «лупа-глаз» является зрачок глаза:

$$D' = D_{\text{гл}}$$

Поле зрения лупы



Размер поля в пространстве изображений:

$$\operatorname{tg} \omega' = \frac{D_{\text{л}} - D_{\text{гл}}}{2S'}$$

$D_{\text{л}}$ – диаметр лупы

$D_{\text{гл}}$ – диаметр зрачка глаза

Размер поля в пространстве предметов:

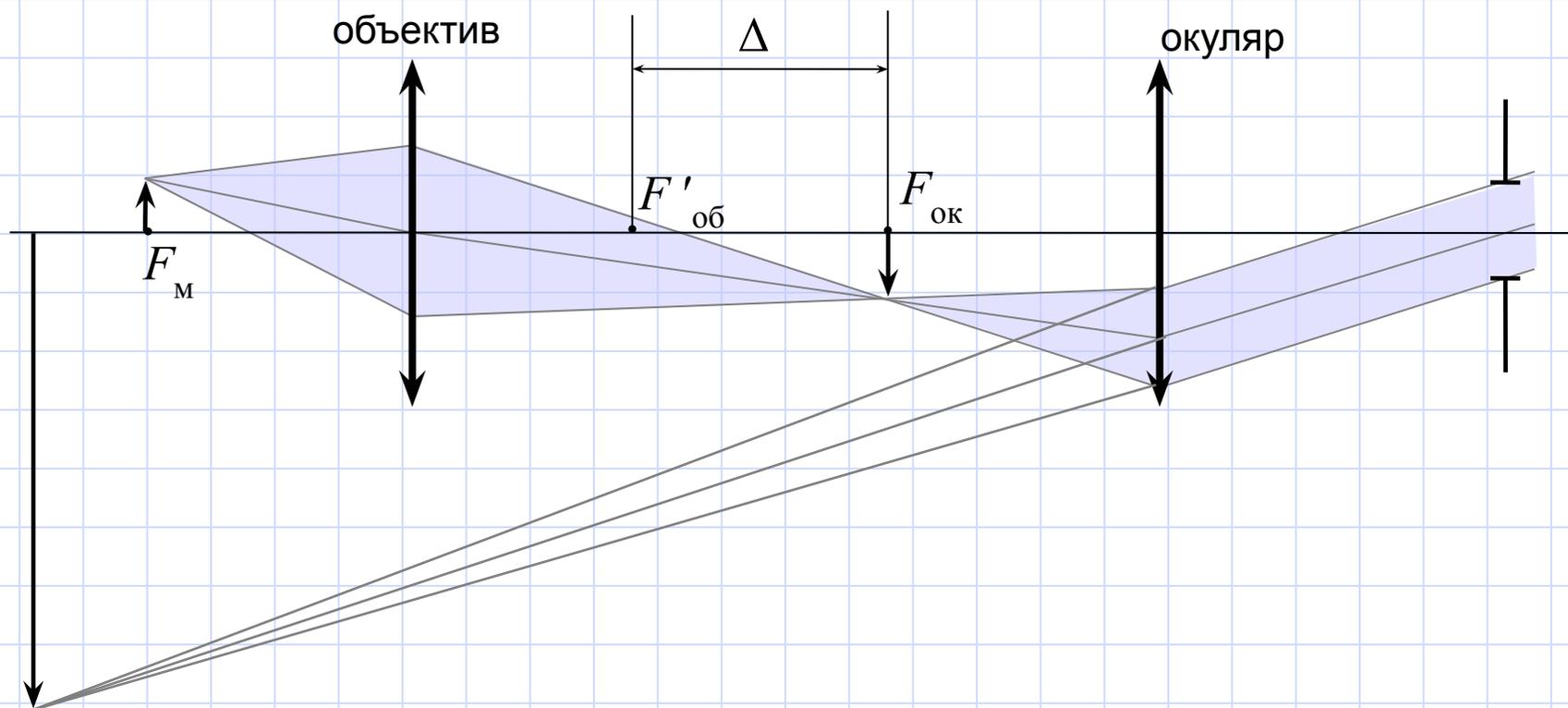
$$2y = 2f' \cdot \operatorname{tg} \omega' = f' \cdot \frac{D_{\text{л}} - D_{\text{гл}}}{S'}$$

Примеры луп

| Модель | Увеличение, крат | Диаметр (мм) | Габариты (мм) | Вес (г) | Материал линзы | Корпус |
|-------------------|------------------|--------------|---------------|---------|----------------|------------------|
| ЛПК 471 | 2,1 | 78 | 113x95x20 | 127 | Стекло | Пластик |
| ЛП 3 (90) | 3 | 88 | 195x95x20 | 150 | Стекло | Пластик |
| ЛТ 1-7* | 7 | 16 | 36x21x14 | 20 | Стекло | Металл / Пластик |
| ЛЧ-5 | 5 | 17 | 30x38 | 9 | Стекло | Пластик |
| ЛЧ-10 | 10 | 16 | 50x38 | 15 | Стекло | Пластик |
| ЛБН-2,5* (стерео) | 2,5 | | 56x188x240 | 145 | Стекло | Пластик |
| Горизонт 4* | 4 | 30 | 70x50x50 | 190 | Стекло | Пластик |
| Горизонт 8* | 8 | 20 | 53x47 | 110 | Стекло | Пластик |
| Горизонт 10* | 10 | 18 | 44x49 | 112 | Стекло | Пластик |
| Лупа 6x30 двойная | 6/3 | 30 | 36x58 | | Пластик | Пластик |



Микроскоп



Увеличение микроскопа

- Линейное увеличение микрообъектива:

$$V_{об} = -\frac{\Delta}{f'_{об}}$$

- где $f'_{об}$ – фокусное расстояние микрообъектива, Δ – оптическая длина тубуса (расстояние между задним фокусом объектива и передним фокусом окуляра)

- Видимое увеличение окуляра:

$$\bar{\Gamma}_{ок} = \frac{250}{f'_{ок}}$$

Увеличение микроскопа

- Общее увеличение микроскопа:

$$\bar{\Gamma} = V_{\text{об}} \cdot \bar{\Gamma}_{\text{ок}}$$

$$\bar{\Gamma} = \frac{250}{f'_M}$$

- где f'_M – фокусное расстояние микроскопа

- стандартные увеличения объективов: 3.5, 8, 10, 20, 40, 60, 90 крат
- стандартные увеличения окуляров: 5, 7, 10, 15, 20 крат

Поле зрения микроскопа

$$2y = \frac{500 \cdot \operatorname{tg} \omega'}{\bar{\Gamma}}$$

- где ω' – угловое поля окуляра

Диаметр выходного зрачка микроскопа

$$D' = \frac{500 \cdot A}{\bar{\Gamma}}$$

- где A – передняя апертура микроскопа

Разрешающая способность микроскопа

- Линейный предел разрешения микроскопа – это минимальное расстояние между точками предмета, которые изображаются как отдельные:

$$\sigma = \frac{\lambda}{2A}$$

- Предельно достижимая разрешающая способность оптического микроскопа:
 - максимально возможное значение синуса угла $A = n \cdot \sin \alpha = 1 \cdot 1$

$$\sigma = \frac{\lambda}{2A} = \frac{0.5}{2 \cdot 1} = 0.25 \text{ мкм}$$

Повышение разрешающей способности микроскопа

Иммерсия

- Иммерсионная жидкость – прозрачное вещество с показателем преломления больше единицы:
 - вода ($n=1.33$), кедровое масло ($n=1.52$), раствор глицерина и т.д.
- Апертура иммерсионного объектива $A=1.5$
- Предельно достижимая разрешающая способность иммерсионного оптического микроскопа:

$$\sigma = \frac{\lambda}{2A} = \frac{0.5}{2 \cdot 1.5} = 0.15 \text{ мкм}$$

Повышение разрешающей способности микроскопа

Применение ультрафиолетовых лучей

- Длина волны ультрафиолетовых лучей $\lambda=0.2$ мкм
- Предельно достижимая разрешающая способность микроскопа:

$$\sigma = \frac{\lambda}{2A} = \frac{0.2}{2 \cdot 1} = 0.1 \text{ мкм}$$

Полезное увеличение микроскопа

- **Полезное увеличение** – это видимое увеличение, при котором глаз наблюдателя будет полностью использовать разрешающую способность микроскопа, то есть разрешающая способность микроскопа будет такая же, как и разрешающая способность глаза

Полезное увеличение микроскопа

- Угловое расстояние между изображениями двух точек, расположенных на расстоянии σ :

$$\Psi' = \frac{\sigma}{f'_M}$$

$$\bar{\Gamma} = \frac{250}{f'_M} \quad \sigma = \frac{\lambda}{2A}$$

- Видимое увеличение микроскопа: $\bar{\Gamma} = \frac{500A}{\lambda} \cdot \Psi'$

- Для $\Psi_{\text{гл}} = 2-4'$, и $\lambda = 0.5$ мкм:

$$500 \cdot A < \bar{\Gamma}_{\text{п}} < 1000 \cdot A$$

если $\Gamma < 500A$: $\sigma_M < \sigma_{\text{гл}}$

если $\Gamma > 1000A$: $\sigma_M > \sigma_{\text{гл}}$

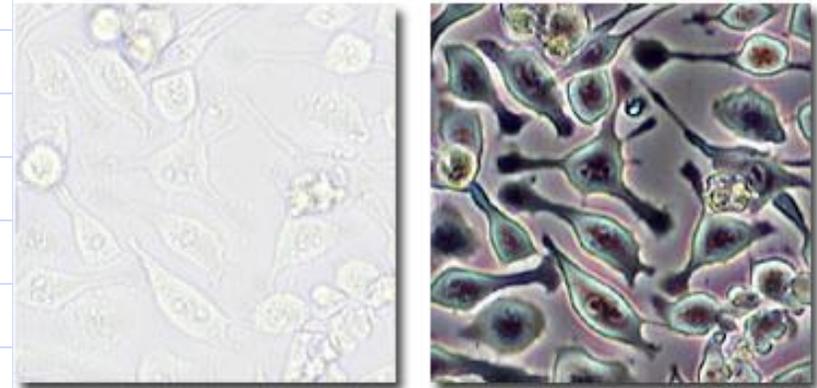
Методы наблюдения

- **Метод светлого поля**
 - **в проходящем свете** – для исследования прозрачных препаратов (тонкие окрашенные срезы животных и растительных тканей, тонкие шлифы минералов)
 - **в отраженном свете** – для наблюдения непрозрачных объектов (травленные шлифы металлов, биологические ткани, минералы)
- **Метод темного поля**
 - **в проходящем свете** – для исследования прозрачных и непоглощающих объектов (применяется в биологии, коллоидной химии, минералогии)
 - **в отраженном свете**



Методы наблюдения

- **Метод исследования в поляризованных лучах**
 - применяется в проходящем и в отраженном свете для анизотропных объектов (минералы, угли, некоторые животные и растительные ткани и клетки, искусственные и естественные волокна) [Пример](#)
- **Метод фазового контраста**
 - для прозрачных и бесцветных объектов (неокрашенные биологические препараты, нетравленные шлифы металлов и минералогические объекты)



изображение в светлом поле
и фазовом контрасте

Типы микроскопов

- **Световые микроскопы**
- **Электронные микроскопы**
- **Сканирующие микроскопы**

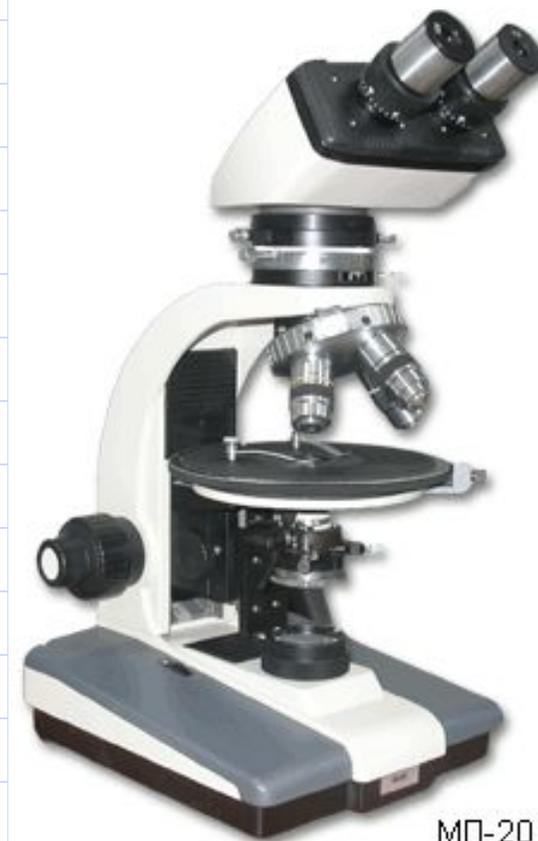
Световые микроскопы

- **Биологические микроскопы**
(серии MULTISCOPE™, LABOROSCOPE™, INVERTOSCOPE™)
 - имеют несколько сменных объективов и окуляров, фотоокуляры и проекционные окуляры
 - различные методы наблюдения: светлое поле, темное поле, метод фазового контраста
- **Микроскопы сравнения**
 - обеспечивают визуальное сопоставление двух препаратов (изображение каждого занимает половину поля зрения)
- **Контактные микроскопы**
(серия METAM™)
 - прижимают объектив к объекту исследования
 - используется для наблюдения микроструктур металлов и т.д.



Световые микроскопы

- **Стереомикроскопы (серии SF™ и MX™)**
 - создается стереоскопический эффект, и изображение воспринимается объемно
- **Ультрафиолетовый и инфракрасный микроскопы**
 - для исследования объектов в ультрафиолетовом или инфракрасном излучении
 - снабжены флуоресцентным экраном, фотокамерой или электронно-оптическим преобразователем
- **Поляризационный микроскоп (серия POLAM™)**
 - позволяет выявлять анизотропию структуры при в поляризованном свете
 - используют при изучении препаратов крови, шлифов зубов, костей и т.п.



Световые микроскопы

- **Люминесцентный микроскоп** (серия LUMAM™)
 - под действием УФ излучения возникает люминесценция некоторых объектов
 - используется в микробиологии и иммунологических исследованиях

Сравнение люминесцентного и фазово-контрастного методов

- **Интерференционный микроскоп**
 - часть света проходит через исследуемый объект, а другая – мимо, в окулярной части лучи соединяются и интерферируют
 - дает возможность исследовать объекты с низкими показателями преломления света и малой толщины
- **Операционный микроскоп** (серии MIKO™, MX™)
 - используется для проведения микрохирургических операций в офтальмологии, нейрохирургии и др.
 - имеет демонстрационное визуальное устройство, фотоприставку



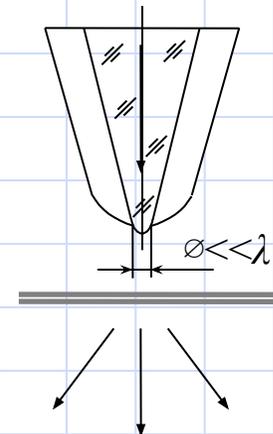
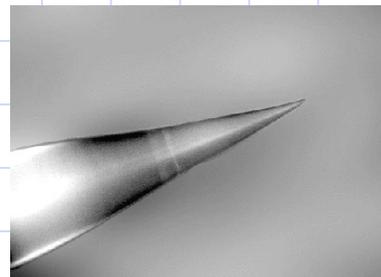
EclipseE600

Сканирующие микроскопы

- Устройство сканирующего микроскопа:
 - принцип действия основан на сканировании объекта сверхмалым зондом. Прошедший или отраженный сигнал регистрируется и используется для формирования трехмерной топографии поверхности образца с помощью ЭВМ
 - в зависимости от принципа взаимодействия зонда и образца разделяют на электронные, атомно-силовые и ближнепольные

Ближнепольный растровый сканирующий микроскоп

- Работает в видимом излучении, позволяет работать с биологическими и медицинскими препаратами в естественных условиях
- Принцип действия:
 - сканирование объекта оптическим зондом на расстоянии меньше длины волны от объекта (в ближнем поле)
 - роль светового зонда выполняют светоизлучающие острия с выходными отверстиями, радиус которых в 10-20 раз меньше длины волны света



Электронные микроскопы

- Устройство электронного микроскопа:
 - вместо видимого света используется пучок электронов
 - роль линз играет совокупность электрических и магнитных полей
 - изображение фотографируется, или проецируется на экран
 - контраст создается за счет разного рассеяния электронов от соседних участков
- Предел разрешения электронного микроскопа:
 - $\lambda=0.005$ нм, $A=0.01$:

$$\sigma = \frac{\lambda}{2 \cdot A} = \frac{0.005}{2 \cdot 0.01} = 0.25 \text{ нм} = 0.25 \cdot 10^{-3} \text{ мкм}$$

- Недостатки электронного микроскопа:
 - невозможность изучения живых биологических объектов

Интернет-ресурсы

- <http://www.lomo.ru>
 - Сайт ОАО "ЛОМО". На сайте содержится информация о фирме и описание производимых приборов.
- <http://micro.magnet.fsu.edu/optics/index.html>
 - представлена история развития оптики, микроскопии и астрономии, обучающие программы моделируют работу микроскопов различных типов и различных методов наблюдения. На английском языке.
- <http://www.microscopyu.com/>
 - Сайт содержит подробное описание, наглядные иллюстрации, фотографии и интерактивные обучающие программы, посвященные микроскопам. На английском языке.
- <http://www.infectology.spb.ru/microscopy/>
 - Раздел «Микроскоп от А до Я» в журнале «Вестник инфектологии и паразитологии». Размещена информация о применении микроскопов в медицине, полезные советы по работе с современными микроскопами, информация о фирмах – производителях микроскопов.