

# I. ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА: ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОСКОПА

## Введение

Микроскоп является чрезвычайно важным вспомогательным инструментом в целом ряде областей физики и других наук. Он служит для рассматривания предметов слишком малых для того, чтобы быть видимыми невооружённым глазом. Прообразом микроскопа является обычная lupa, изобретённая Левенгуком более 200 лет назад, при помощи которой учёный сделал ряд важных биологических открытий.

Пользуясь лупой можно достигать увеличений в 5–10 раз. Однако, дальше идти в этом направлении практически невозможно по следующей причине.

Увеличение лупы, как известно, определяется формулой:

$$W = \frac{25}{f}$$

где  $W$  — увеличение лупы,  $f$  — главное фокусное расстояние, выраженное в сантиметрах, а 25 — расстояние наилучшего видения, тоже выраженное в сантиметрах.

При достаточно малом  $f$  увеличение казалось могло бы быть сделано сколь угодно большим. Однако, для достижения полного увеличения лупа с коротким фокусом должна располагаться в непосредственной близости к рассматриваемому объекту и к зрачку глаза. Такое расположение объекта, лупы и глаза на расстояниях в несколько десятков миллиметров, является, конечно, очень неудобным. Поэтому лупа была дополнена второй линзой, предназначенной для рассматривания изображения, даваемого лупой. Так возник простейший микроскоп, состоящий из объектива и окуляра.

Схема микроскопа изображена на Рис. 1.

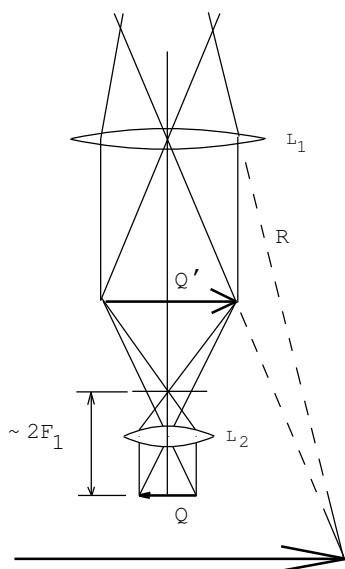


Рис. 1. Прохождение лучей через микроскоп

## Устройство микроскопа

Объективом микроскопа служит короткофокусная линза ( $L_1$  на Рис. 1), которая располагается перед светящимся объектом  $Q$  на расстоянии, немного превышающем главное фокусное расстояние.

В этом случае изображение  $Q'$  получается действительным, обратным и увеличенным и лежит в некоторой плоскости  $R$ , расположенной между бесконечностью и двойным фокусным расстоянием. Линза  $L_2$ , называемая окуляром, имеет фокусное расстояние 16–18 см, она располагается так, чтобы её фокус почти точно совпадал с плоскостью  $R$ , тогда глаз, расположенный над окуляром и аккомодированный на бесконечность, увидит мнимое, увеличенное и обратное изображение объекта  $Q$ , локализованное на бесконечности.

Немного придвинув окуляр к плоскости  $R$ , можно перенести изображение из бесконечности на расстояние 25 см, то есть на расстояние наилучшего видения.

Человеческий глаз легко аккомодируется на все расстояния от 25 см до бесконечности, а поэтому в этих пределах практически безразлично, в каких условиях производятся наблюдения.

Кроме основных оптических частей — объектива и окуляра, — микроскоп имеет ещё одну оптическую систему — конденсор. Конденсором называется линза или вогнутое зеркало, которое служит для освещения рассматриваемого объекта.

Все три оптические системы соединены между собой механическими частями, устройство которых, за исключением отдельных деталей, почти одинаково во всех приборах. Мы упоминаем здесь наиболее важные из них.

Штатив микроскопа (1) (на Рис. 1) жёстко связан с предметным столиком (2), имеющим прорезь для пропускания света и металлические лапки (3) для укрепления рассматриваемого объекта, который располагается на предметном столике. В дорогих микроскопах на предметном столике имеется каретка, которую можно при помощи микроскопических винтов весьма тонко перемещать в горизонтальной плоскости; это позволяет рассматривать различные части объекта.

Тубус (4), укрепленный в штативе, имеет в своей нижней части нарезку для ввинчивания объектива (5). Окуляр (6) просто вставляется в верхнее отверстие тубуса. Нормальная длина тубуса — 16 см (в английских микроскопах бывает 18 см).

Для перемещения тубуса в вертикальном направлении служат два винта: макровинт (7) и микровинт (8).

Макровинт (7) служит для отыскания изображения, окончательная же фокусировка производится микровинтом (8). Винтовые нарезки оправ объектива и диаметр тубуса одинаковы у микроскопов, выпускаемых почти

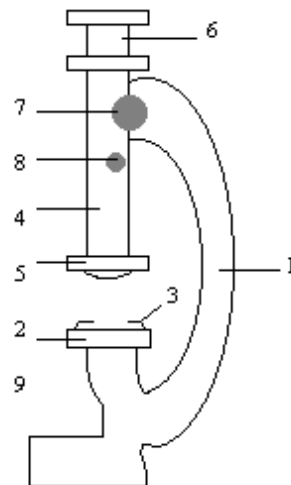


Рис. 2. Схематическое изображение микроскопа

всеми крупными фирмами мира; это даёт возможность работать с микроскопами, различные части которых изготовлены на разных заводах.

К нижней части штатива прикреплено зеркало (9), которое может быть повёрнуто во всех направлениях. Зеркало направляет свет от источника на объект; обычно оно делается вогнутым для того, чтобы можно было фокусировать пучок света, падающий на объект.

### Устройство объектива и окуляра

Микроскоп, составленный из двух простых линз, как это показано на схематическом Рис. 1, обладал бы целым рядом важных недостатков. Простая линза всегда создаёт ряд ошибок: сферическую aberrацию, заключающуюся в том, что фокусное расстояние оказывается различным для лучей, падающих на линзу под разными углами, хроматическую aberrацию, заключающуюся в том, что лучи различных длин волн преломляются линзой различно, астигматизм, дисторсию и т.п.

Пользуясь линзами, сделанными из различных сортов стекла, можно построить систему из положительных и отрицательных линз, которая не будет обладать указанными дефектами, вернее будет обладать ими в столь малой степени, что это не будет сказываться на качестве изображения. Систему можно изготовить таким образом, чтобы, при определённом положении объекта и изображения, ошибки были минимальными. Так как длина тубуса стандартна (16 см), то объективы делаются так, чтобы ошибки были наименьшими, когда изображения объекта находятся на этом расстоянии. Один из часто встречающихся типов сложного объектива схематически изображён на Рис. 3. Более сложные объективы имеют до 10 линз, часть которых делается не из стекла, а из флюорита или кварца, так как не удаётся получить стекла с требуемым показателем преломления и дисперсией. Наиболее сильные объективы микроскопа дают увеличение до 160 раз. Окуляры, дающие значительно меньшее увеличение (3–15 раз) устроены, соответственно, много проще.

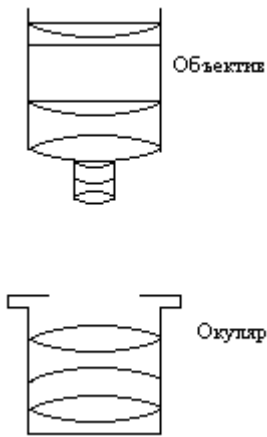


Рис. 3. Схематическое изображение объектива и окуляра

### Предел разрешающей силы микроскопа

При современной оптической технике не представляет особого труда изготовление объектива, дающего 160-ти кратное увеличение, и окуляра, увеличение которого равно 25. При этом общее увеличение микроскопа будет 4000. Невооружённый глаз видит две точки отдельно, если они находятся на расстоянии, большем чем 0,1 мм; при меньшем расстоянии эти точки будут сливаться в одну.

Казалось бы, что, рассматривая предмет в микроскоп с увеличением 4000, можно было бы различать детали, имеющие размеры  $\frac{0,1}{4000} \text{ мм} = 0,000025 \text{ мм} = 250 \text{ \AA}$ . Однако, не удаётся построить оптический микроскоп, при помощи которого можно было бы различать детали, меньше чем 0,0005 мм или 5000 Å. Причина этого лежит не в неудачной конструкции микроскопа, а в основных свойствах света.

Разрешающая сила в 250 Å была нами вычислена на основании увеличений объектива и окуляра, то есть по величинам, которые определяют исключительно геометрическими параметрами системы — фокусными расстояниями и взаимным расположением линз. Но пользоваться законами геометрической оптики а priori можно только тогда, когда размеры объекта и изображения превышают длину волны света, то есть 4000 ÷ 5000 ангстрем. Если же это условие не соблюдено, то необходимо учитывать явление дифракции, из-за которого даже в идеальной, безабберационной системе изображение точки получается размытым и окружённым дифракционными кольцами. Эта размытость, имеющая размеры длины волны, и создаёт предел для разрешающей силы микроскопа.

Для анализа разрешающей способности рассмотрим частный, но чрезвычайно важный случай, когда рассматриваемым объектом служит правильная дифракционная решётка.

Пусть на решётку вдоль её нормали падает плоская монохроматическая волна (см. Рис. 4).

После решётки будет наблюдаться система плоских волн, соответствующих дифракционным максимумам различных порядков. Направление этих волн должно удовлетворять основному уравнению дифракционной решётки.

$$d \sin \alpha = m \lambda \tag{1}$$

где  $\alpha$  — угол между нормалью к решётке и нормалью к фронту волны,  $d$  — постоянная решётки,  $\lambda$  — длина волны,  $m$  — порядок спектра.

Необходимо отметить, что каждая из плоских волн, идущих от решётки, является обычной плоской волной и не несёт с собой никакой характеристики решётки. Только по совокупности всех плоских волн, созданных решёткой, можно в дальнейшем восстановить во всех деталях структуру решётки. В этом заключается основная мысль дифракционной теории изображений, созданной Аббе.

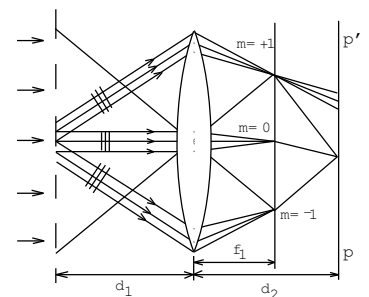


Рис. 4.

Когда решётка находится перед объективом микроскопа, то некоторые из созданных ею плоских волн пройдут через объектив и образуют в его фокальной плоскости изображения, которые Аббе назвал первичными. Образование этих изображений показано на Рис. 4, где плоские волны изображены сначала в виде волновых поверхностей, а дальше обычным способом.

Если бы объектив был идеальной линзой, то все первичные изображения были бы точечными. В дальнейшем эти точки можно рассматривать как источники света, причём все они когерентны, так как созданы одной плоской волной, попавшей на дифракционную решётку. В любой плоскости  $pp'$  можно наблюдать результат интерференции лучей, пришедших от всех этих точек. Эта интерференционная картина по определению Аббе — «вторичное изображение». В плоскости  $pp'$ , сопряженной с плоскостью объекта, она будет воспроизводить в той или иной степени структуру дифракционной решётки и при этом тем точнее, чем больше порядков спектра захвачено объективом. Вопрос о качестве вторичного изображения при различном числе используемых первичных, разобран более подробно в приложении I. Однако, без специального анализа легко установить следующее.

Одно первичное изображение, одна светящаяся точка, не может создать никакого вторичного изображения, потому что как было уже указано, оно создано плоской волной, не зависящей от структуры решётки. Два первичных изображения уже создают интерференционную картину, по которой можно составить некоторое представление о решётке. Таким образом, в объектив микроскопа должно попадать по крайней мере два дифракционных максимума. Это требование кладёт естественный предел разрешающей силе микроскопа, ибо, чем тоньше структура решётки, чем меньше  $d$  в формуле 1, тем под большим углом  $\varphi$  будет расположен максимум. Если угол зрения объектива равен  $2\varphi$ , то разрешающая сила микроскопа, при нормальном освещении объектива, ограничивается условием:

$$d \sin \varphi = \lambda$$

Так как  $\sin \varphi$  не может быть больше единицы, то минимальное расстояние между точками, которое может быть разрешено в этих условиях, равно  $\lambda$ , то есть, в случае красного цвета, 7000 ангстрем или 0,0007 мм. Этот предел может быть несколько отодвинут двумя способами. Во-первых, пространство между решёткой и объективом микроскопа можно заполнить прозрачной средой с высоким показателем преломления.

Как легко понять, при этом уменьшаются все углы, под которыми наблюдаются дифракционные максимумы, даваемые решёткой; формула решётки примет такой вид:

$$d \sin \varphi = \frac{m\lambda}{n}$$

и, следовательно, минимальное расстояние  $d$  уменьшится в  $n$  раз:

$$d = \frac{m\lambda}{n \sin \varphi}$$

Микроскопы, в которых применяется этот способ, называется иммерсионными. Жидкостью, каплю которой опускают под объектив, обычно служит кедровое масло ( $n = 1.55$ ).

Второй способ увеличения разрешающей способности — освещение объектива боковым светом. Если освещать решётку не по нормали к ней, а под углом  $\varphi$  к нормали, то можно захватить объективом первый дифракционный максимум даже тогда, когда он составляет угол  $2\varphi$  с нормалью. Нетрудно видеть, что при этом минимальное расстояние  $d$  может быть уменьшено в два раза.

В результате обоих улучшений можно различать точки, отстоящие друг от друга на  $\frac{1}{3}$  длины волны. Очевидно, что пользуясь светом с малой длиной волны, можно различать более мелкие детали. Видимый свет может быть с успехом заменён ультрафиолетовым; при этом, однако, приходится изготавливать всю оптическую систему микроскопа из кварца, флюорита или других материалов, прозрачных для ультрафиолетовых лучей.

Путём микрофотографирования в ультрафиолетовом свете ( $\lambda = 2570$  ангстрем) минимальное расстояние  $d$  удалось довести до 1000 ангстрем, то есть 0,0001 мм.

Все изложенные выше рассуждения были проведены для специального, наиболее простого случая — решётки, на которую по нормали падает параллельный пучок монохроматического света. Однако, если перейти к более общему случаю — освещение широким источником белого света, — то качественная картина остаётся прежней. Первичные изображения уже не будут при этом точками, но будут состоять из налагающихся друг на друга спектральных изображений источника света, в противоположность этому вторичное изображение не будет окрашенным.

### Экспериментальная часть.

Настоящая работа состоит в проверке уравнения  $d \sin \varphi = \lambda$ , определяющего разрешающую силу объектива. Экспериментально это сводится к определению наименьшей апертуры, при которой ещё имеет место изображение решётки и к определению периода решётки.

Так как в фокальной плоскости объектива получается спектральное изображение источника и мы диафрагируем его так, чтобы спектр нулевого и двух первых порядков был виден целиком, то длину волны нужно брать для красной части спектра (7000 ангстрем).

## Измерение периода решётки

Период решётки определяется при помощи рисовальной призмы и объект-микрометра. Объект-микрометр представляет собой шкалу, нанесённую на стеклянную пластинку. Цена деления шкалы 0,01 мм. Рисовальная призма позволяет одновременно рассматривать наложенные друг на друга изображения изучаемого объекта и листа бумаги, положенного рядом с микроскопом. Её устройство ясно из Рис. 5, где 1—призма полного внутреннего отражения, 2—зеркальце, 3—окуляр.

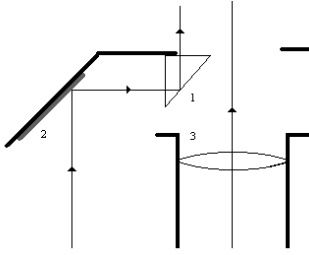


Рис. 5.

Отсчитав на объект-микрометре несколько делений, отмечают карандашом на бумаге первый и последний из отсчитанных штрихов. Затем, заменив объект-микрометр исследуемой решёткой, считают число периодов, укладывающихся между штрихами, нанесёнными на бумаге. Если на протяжении  $n$  делений объект-микрометра укладывается  $N$  периодов решётки, то  $d = \frac{n}{N} * 0.01$  мм.

## Определение наименьшей апертуры

Как уже указывалось, структуру решётки можно увидеть в микроскоп только в том случае, когда в объектив микроскопа попадают, по крайней мере, два дифракционных максимума. В нашем микроскопе угол зрения (апертуру) можно изменять ирисовой диафрагмой, укрепленной в оправе объектива. В этой плоскости получаются первичные изображения, совокупность которых в нашем случае представляет собой спектр источника света, даваемый дифракционной решёткой. Для изучения первичных изображений между окуляром и объективом микроскопа может быть введена дополнительная линза, систему «окуляр—дополнительная линза» можно сфокусировать на верхнюю фокальную плоскость объектива. Перед измерением минимальной апертуры полезно проверить теорию Аббе (см. приложение) качественно. Согласно Аббе, чем больше дифракционных максимумов будет обрезано ирисовой диаграммой, тем хуже качество изображения решётки, а когда через решётку будет проходить только нулевой максимум, изображение вообще исчезнет и поле зрения будет равномерно освещено. Напомним, что дифракционные максимумы (первичные изображения) наблюдаются с дополнительной линзой, а изображение решётки (вторичное изображение) без неё.

Перед началом измерения минимальной апертуры объектива необходимо особенно тщательно отъюстировать осветительную систему, с тем, чтобы дифракционная картина была строго симметрична относительно ирисовой диафрагмы. Вводя диафрагму, обрезать красную область в спектре первого порядка. Таким образом у нас будет установлена минимальная апертура объектива для красной области спектра ( $\lambda = 7000$  ангстрем). Для измерения этой апертуры рядом с микроскопом установлена шкала. Осветив её настольной лампой и получив её изображение в микроскопе с помощью плоского зеркала, можно измерить участок шкалы  $x$  (см), видимый внутри ирисовой диафрагмы. Тогда:

$$\operatorname{tg} \varphi = \frac{x}{2L}$$

где  $L$  (см)— расстояние от шкалы до объектива. Поскольку угол  $\varphi$  мал, то  $\operatorname{tg} \varphi \approx \varphi \approx \sin \varphi$ .

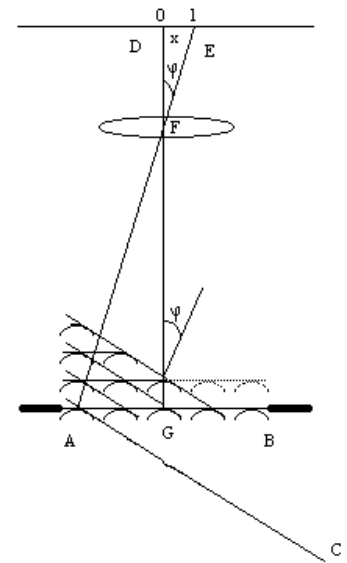


Рис. 6.

## Приложение. Дифракционная теория Аббе.

Основная мысль Аббе такова: плоская волна расчленяется дифракционной решёткой на совокупность плоских волн, часть которых, проходя объектив, собирается в его фокальной плоскости в точке. Это так называемое первичное изображение. Оно состоит из ряда светящихся точек, которые можно рассматривать как когерентные, но не синфазные источники.

В самом деле: в момент, когда из элементарных волн зарождалась плоская волна нулевого порядка (положение  $AB$ ), плоская волна той же фазы, соответствующая первому порядку, существовала лишь в точке на границе поля зрения (положение  $AC$ ) (см. Рис. 6). Поэтому оптические длины путей, определяющие фазы колебаний в точках  $D$  и  $E$ , должны быть равными  $AE$  и  $DG$ .

Совершенно очевидно, что путь  $AE$ , пройденный светом в воздухе и в стекле, больше пути  $GD$ . Соответственно этому и колебания в  $E$  будут отставать от колебаний в  $D$ , на некоторую фазу  $\delta$ , когерентность при этом очевидна, ибо оба колебания созданы одним и тем же первичным колебанием. Расстояние между точками  $D$  и  $E$  есть  $x = F \sin \varphi$  или, если учесть условия дифракции на решётке,

$$d \sin \varphi = \lambda; \quad x = F \frac{\lambda}{d}$$

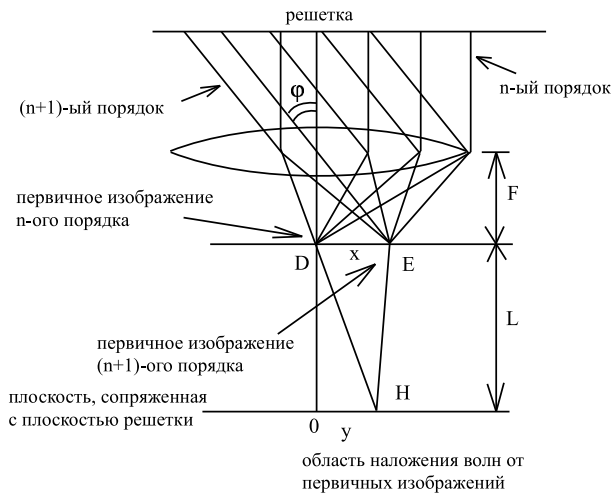


Рис. 7.

откуда следует, что первичные изображения, образованные различными волнами, будут сдвинуты относительно нулевого максимума на различные расстояния, то есть будут спектральными.

Если даже только два дифракционных максимума попадут в объектив и, следовательно, первичное изображение представит собой два когерентных источника, то в любой вышележащей плоскости можно ожидать интерференционную картину.

Рассмотрим интерференционную картину в плоскости, сопряжённой с плоскостью решётки (см. Рис. 7). Найдём на ней такую точку  $H$ , в которую оба колебания проходят с разностью фаз  $2k\pi$ , ( $k$  — целое число), то есть дают интерференционный максимум.

Определим расстояние точки  $H$  от центра поля зрения, обозначим его через  $y$ .

Фаза колебания, пришедшего из  $D$ , равна

$$\omega t - 2\pi \frac{\sqrt{L^2 + y^2}}{\lambda}.$$

Фаза колебания, пришедшего из  $E$ , равна

$$\omega t - \delta - 2\pi \frac{\sqrt{L^2 + (y-x)^2}}{\lambda}.$$

Определим разность фаз:

$$\delta - 2\pi \frac{\sqrt{L^2 + y^2} - \sqrt{L^2 + (y-x)^2}}{\lambda} = \delta - 2\pi \frac{L(1 + \frac{1}{2}\frac{y^2}{L^2} + \dots) - L(1 + \frac{1}{2}\frac{(y-x)^2}{L^2} + \dots)}{\lambda} = \delta - \frac{2\pi L}{\lambda} \left( \frac{2xy}{2L^2} - \frac{x^2}{2L^2} \right) \approx \delta - \frac{2\pi}{\lambda L} xy$$

где  $x = \frac{\lambda}{d}$ , тогда разность фаз равна:

$$\delta - \frac{2\pi F \lambda}{\lambda L d} y = 2k\pi$$

Откуда

$$y = \frac{(\delta - 2\pi k)Ld}{2\pi F} \quad (2)$$

Изменение  $k$  на единицу соответствует переходу к соседнему максимуму интерференционной картины. Связанное с этим изменение  $y$  есть  $\Delta y = Ld/F$  и следовательно, если принять интерференционную картину за изображение решётки, то увеличение периода соответствует предсказаниям геометрической оптики:

$$\frac{\Delta y}{d} = \frac{L}{F}.$$

Интересно отметить, что смещение решётки на  $r$  вызывает смещение интерференционной картины (вторичное изображение) на  $R$ , причём

$$\frac{R}{r} = \frac{L}{F}.$$

В самом деле, из Рис. 8 видно, что смещение на  $r$  изменит оптический путь первого порядка на  $r \sin \varphi = r \frac{\lambda}{d}$ , что вызывает уменьшение  $\delta$  на величину  $\frac{2\pi}{\lambda} r \frac{\lambda}{d} = \frac{2\pi r}{d}$  такому изменению  $\delta$  согласно формуле 2 соответствует изменение  $y$  на  $R = rL/F$ , что и указывалось выше.

Итак: интерференционная картинка (вторичное изображение) имеет период во столько раз больше, чем период решётки, во сколько раз период изображения должен быть больше периода объекта. При смещении объекта интерференционная картина смещается в том же направлении и на ту же величину, на которую должно смещаться изображение на основании соображений геометрической оптики. Из того факта, что в выражение для  $y$  не входит  $\lambda$ , следует, что интерференционная картина будет общей для всех цветов, то есть состоять из чередующихся тёмных и светлых полос. Все эти выводы позволяют отождествить интерференционную картину с изображением решётки. Такое отождествление позволяет не только определить предел разрешающей силы микроскопа, но и оценить роль апертуры.

В самом деле, с ростом апертуры объектива всё большее и большее число дифракционных максимумов, возникающих в решётке, создают свои источники, когерентные прежним. Интерференция волн, вышедших из многих источников, как известно, приводит к более резко выраженным максимумам, что воспринимается как более чёткое и подробное изображение объекта.

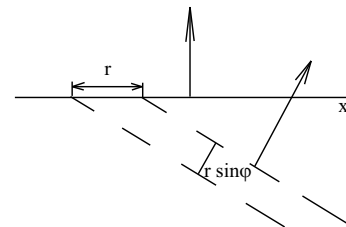


Рис. 8.

### Задание на работу

1. Подобрать минимальную апертуру объектива микроскопа и произвести качественную проверку теории Аббе.
2. Измерить минимальную апертуру объектива микроскопа. Измерение произвести не менее пяти раз и вычислить среднюю квадратичную ошибку.
3. Определить период решётки. Измерение произвести не менее пяти раз и вычислить среднюю квадратичную ошибку.
4. Проверить уравнение, определяющее разрешающую силу микроскопа.

### Требования, предъявляемые к отчёту

1. Привести ход лучей в микроскопе с дополнительным объективом и без него. Дать оптическую схему установки с рисовальной призмой.
2. Дать таблицу измерений минимальной апертуры, привести её среднюю квадратичную ошибку.
3. Дать таблицу измерений периода решётки, привести его среднее значение и среднюю квадратичную ошибку.
4. Привести значение эффективной длины волны, вычисленной из уравнения, определяющего разрешающую силу микроскопа.