

Jeżeli dla przykładu założy się, że dopuszczalnym warunkiem położenia płaszczyzny π_1 , w głębi ostrości mikroskopu jest dwukrotnie większa średnica plamki obrazu punktu, wówczas $\Delta w_g = 4'$ i z wyrażenia (5.40) po zmianie minut na radiany otrzymuje się

$$2x_{1g} = \frac{n 0,6}{A_0^2} \mu\text{m}$$

W skrajnym przypadku dla obiektywu immersyjnego $100\times$, $A_{0\max} = 1,4$, $n = 1,5$ i $2x_{1g} = 0,46 \mu\text{m}$. Dla obiektywu o powiększeniu $10\times$ $n = 1$, $A_0 = 0,25$, więc $2x_{1g} = 10 \mu\text{m}$. Z uwagi na tak małą głębię ostrości mikroskopu wymagają precyzyjnych mechanizmów ustalających ich położenia względem przedmiotu.

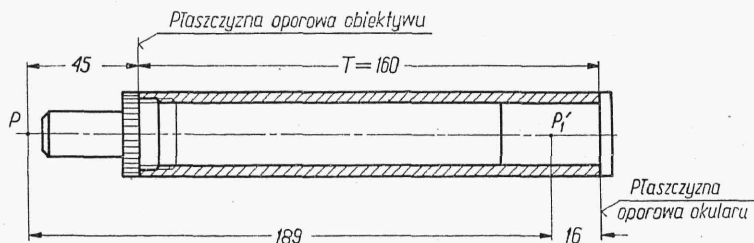
Przytoczone tu dane liczbowe wskazują jednak tylko na rząd tych wielkości, gdyż trudno poza przedmiotami punktowymi ustalić wartości kąta Δw_g . Ogólnie zależą one od rodzaju przedmiotu (rozkładu w nim intensywności) oraz stopnia koherencji oświetlenia. Teoretycznie należałoby to zagadnienie rozpatrywać w kategoriach spadku kontrastu obrazu (zmniejszenie się modułu funkcji przenoszenia) w zależności od częstości przestrzennych przedmiotu. Większość przedmiotów jednak charakteryzuje się dość złożonym widmem częstości, co praktycznie uniemożliwia ogólne rozwiązanie zagadnienia.

5.3.4. Mikroskopy biologiczne

W zależności od przeznaczenia i związanych z tym wymagań dotyczących jakości odwzorowania, stosowanego powiększenia, dodatkowego wyposażenia itp. mikroskopy można podzielić na pewne grupy. Do najczęściej spotykanych należą mikroskopy biologiczne, metalograficzne, warsztatowe, projekcyjne i stereoskopowe. Większość podstawowych elementów mikroskopów jest wspólna dla wszystkich typów, lecz z uwagi na różne wymagania ich budowa jest różna. Z uwagi na zakres powiększeń i wyposażenia mikroskopy biologiczne obok metalograficznych należą do najbardziej złożonych i dlatego zostaną omówione w pierwszej kolejności.

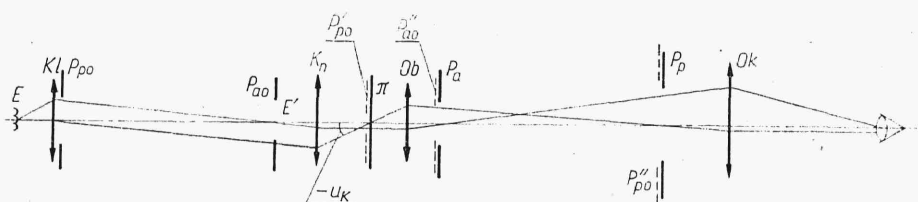
Specyfika obserwacji biologicznych wymaga najpierw ogólnej oceny preparatu przy względnie dużym polu widzenia i małym powiększeniu, a następnie po wybraniu interesującego fragmentu przejścia do obserwacji szczegółów pod dużym powiększeniem. Wiąże się z tym konieczność szybkiej zmiany powiększenia i dostosowania zgodnie z warunkiem (5.34) odpowiedniej apertury obiektywu. Teoretycznie można byłoby zrealizować układ, który miałby odpowiednio dużą aperturę w całym zakresie powiększeń, lecz praktycznie niemożliwe jest skonstruowanie obiektywu, który by jednocześnie przenosił pole niezbędne przy małych powiększeniach i miał aperturę stosowaną przy największych ich wartościach. Dlatego zmiana powiększenia odbywa się przez wymianę obiektywów, zamocowanych najczęściej w uchwycie rewolwerowym, których konstrukcja powinna zapewniać dla danego powiększenia okularu właściwą relację między powiększeniem mikroskopu a jego aperturą (zależność 5.34). Ewentualna zmiana powiększenia okularu jest zabiegiem pomocniczym, umożliwiającym dopasowanie powiększenia zgodnie z nierównością (5.34) do indywidualnych cech obserwatora.

Z uwagi na wygodę obserwacji i ekonomikę pracy wymiana elementów nie może pociągać za sobą zmiany środka obserwowanego fragmentu pola oraz takiego przesunięcia płaszczyzny odwzorowania, aby obserwowany przedmiot wyszedł poza obszar głębi ostrości. Warunki te narzucają z jednej strony bardzo ostre wymagania co do współosiowości wymienianych obiektywów i okularów, z drugiej na ich odległości. Tubus mikroskopu (rys. 5.32) ma dwie płaszczyzny oporowe, względem których ustalane jest położenie okularu i obiektywu. Odległość między tymi płaszczyznami T nazywana jest *mechaniczną długością tubusa*. Przy założeniu, że obserwator akomoduje na punkt nieskończenie odległy wówczas obraz P' dany przez obiektyw pokrywa się z ogniskiem przedmiotowym okularu. Oznacza to, że przy wymianie okularów nie nastąpi zmiana akomodacji obserwatora, jeżeli dla każdego okularu będzie stała odległość między jego ogniskiem przedmiotowym a płaszczyzną oporową. Z kolei przy wymianie obiektywu powinna być zachowana stała odległość między przedmiotem P i obrazem P' danym przez obiektyw, co przy danej odległości tubusa T narzuca dla każdego obiektywu stałą odległość przedmiotu od płaszczyzny oporowej. Odległości te mogą być ustalone w różny sposób przez różne firmy produkujące mikroskopy i dlatego nie zawsze jest spełniony warunek stałego położenia obrazu dla obserwatora przy stosowaniu obiektywów jednej firmy do tubusów drugiej. Na rys. 5.32 podano wspomniane wyżej odległości przyjęte przez Polskie Zakłady Optyczne.



Rys. 5.32

Układ oświetlający mikroskopu powinien zapewniać zwiększenie luminancji preparatu i tym samym uzyskanie odpowiedniego natężenia oświetlenia w płaszczyźnie siatkówki obserwatora. Ponadto w zależności od metody obserwacji (jasne pole, ciemne pole, kontrast fazowy itp.) powinien umożliwiać przystosowanie mikroskopu do różnego rodzaju warunków pracy.



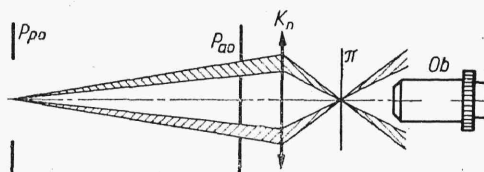
Rys. 5.33

Najbardziej racjonalnym rozwiązaniem oświetlacza jest układ zaproponowany przez Kihlera, pokazany łącznie z układem mikroskopu na rys. 5.33. Obraz żarnika E jest utworzony przez kolektor Kl w płaszczyźnie

przysłony aperturowej oświetlacza P_{ao} i następnie przez kondensator K_n i obiektyw Ob odwzorowany w przysłonie aperturowej P_a obiektywu. Obraz przysłony pola P_{po} oświetlacza dany przez kondensator tworzy się w płaszczyźnie preparatu π i dalej przez obiektyw w płaszczyźnie przysłony pola P_p okularu. Oznacza to, że przez zmianę średnicy przysłony P_{ao} zmieniany jest kąt aperturowy u_k oświetlacza, natomiast przez zmianę średnicy P_{po} — zmieniana jest średnica pola oświetlanego w płaszczyźnie preparatu.

Dla podstawowego sposobu badań mikroskopowych (*jasne pole*), kiedy preparat oświetlany jest światłem przechodzącym przez cały układ mikroskopu, zdolność rozdzielcza układu jest teoretycznie (p. 3.3.5) wyższa, gdy kąt aperturowy u_k oświetlacza jest większy od kąta aperturowego u_o obiektywu. Jednak z uwagi na powstające wtedy światło rozproszone przy odbiciu od opraw soczewek obiektywu dobiera się zawsze aperturę $A_k = n \sin u_k$ kondensora nieco mniejszą od apertury obiektywu $A_o = n \sin u_o$ stąd średnica obrazu P''_{po} jest mniejsza od średnicy przysłony aperturowej P_a obiektywu (rys. 5.33). Z tej samej przyczyny ta sama relacja powinna być zachowana między obrazem przysłony P''_{po} i przysłoną pola okularu P_p . Jednak wpływ odbłasków pochodzących od światła idącego poza obrazem pola widzenia przyrządu jest znacznie mniejszy w porównaniu z odbłaskami mającymi swe źródło w zbyt dużej aperturze kondensora, ponadto obraz krawędzi przysłony P''_{po} z uwagi na brak dobrej korekcji kondensora jest rozmyty i w świetle białym zabarwiony i dlatego ze względów estetycznych średnica obrazu P''_{po} jest zwykle nieco większa od średnicy przysłony pola P_p .

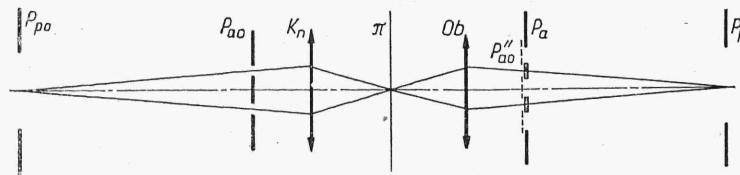
W przypadku przedmiotów fazowych stosowana jest obserwacja metodą ciemnego pola lub kontrastu fazowego. Pierwsza polega na odcinaniu zerowych częstości harmonicznych rozkładu amplitud i faz preparatu, natomiast druga na zmniejszeniu ich amplitud i przesunięciu w fazie względem częstości niezerowych. Teoretyczna strona zagadnienia została wyjaśniona w p. 3.3.6.



Rys. 5.34

Metoda *ciemnego pola* realizowana jest przez przesłonięcie środkowej części przysłony aperturowej P_{ao} oświetlacza (rys. 5.34), przez co otrzymuje ona kształt pierścienia. Na przedmiot padają promienie, które przy stałym w nim rozkładzie amplitud i faz nie wejdą do obiektywu. Tylko informacje o wyższych częstościach zarówno amplitud jak i faz dotrą do płaszczyzny obrazu, przy czym te ostatnie w postaci zmiany amplitud. Zmiany fazy w przedmiocie zostaną zamienione na zmiany intensywności w płaszczyźnie obrazu. Wadą metody ciemnego pola jak już było wspomniane w p. 3.3.6 jest mała intensywność obrazu i brak możliwości wykrycia kierunku zmiany fazy i dlatego obecnie większe zastosowanie do badania przedmiotów fazowych mają mikroskopy interferencyjno-polaryzacyjne opisane w p. 3.5.5 oraz metoda *kontrastu fazowego*. W tym ostatnim

przypadku przysłona aperturowa oświetlacza ma również kształt pierścienia (rys. 5.35) z tym, że jej obraz pokrywa się z pierścieniową płytką fazową umieszczoną w przysłonie aperturowej obiektywu. Płytkę absorbuje ponad 80% energii na nią padającej i ponadto przesuwą to zaburzenie w fazie o $\pi/2$ w stosunku do światła przechodzącego przez pozostałe części

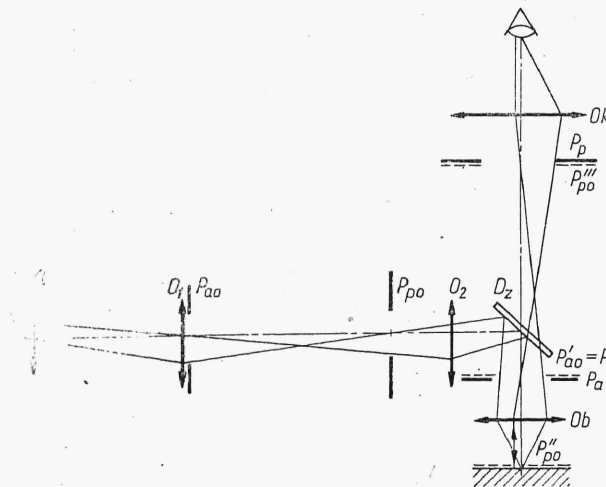


Rys. 5.35

żrenicy wyjściowej obiektywu. Teoretycznie przysłona aperturowa powinna być punktowa, gdyż tylko wtedy zachowane są warunki oświetlenia koherentnego i w przysłonie aperturowej obiektywu P_a powstanie jednoznaczny rozkład widma przedmiotu. Wiąże się to jednak z małą energią jaką wtedy oświetlany jest preparat i dlatego z konieczności stosowane źródło jest rozciągle. Każdy z punktów źródła daje w płaszczyźnie P_a własne widmo przedmiotu. Płytkę fazową, która ma za zadanie tylko absorbować i przesuwąć w fazie składową o częstości zerowej wpływa częściowo i na składową o innych częstościach. Można wykazać, że dla przysłony pierścieniowej przy ustalonej powierzchni źródła wpływ ten jest najmniejszy.

5.3.5. Mikroskopy metalograficzne

W przypadku preparatów nieprzezroczystych istnieje konieczność obserwowania ich w świetle odbitym. Zasada pracy takiego mikroskopu niczym się nie różni od pracy w świetle przechodzącym, z tym tylko, że



Rys. 5.36

obiektyw jednocześnie spełnia rolę kondensora. Na rys. 5.36 przedstawiono układ mikroskopu z oświetlaczem realizującym zasadę Köhlera.