



LABORATION 2

MIKROSKOPET

Personnummer	Namn
--------------	------

Laborationen godkänd

Datum	Assistent
-------	-----------

LABORATION 2 MIKROSKOPET

Att läsa före lab:	Synvinkel, vinkelförstoring, luppen och mikroskopet, d.v.s. delar av föreläsning 12 och hela föreläsning 13 (sid. 189-194 i kursboken).
Förberedelseuppgifter:	2 st, se nedan. Skall vara gjorda före labtillfället.
Vad labben går ut på:	Karaktärisera mikroskopets olika delar Bygga ett mikroskop Förstå och bestämma vinkelförstoring Se en demonstration av faskontrast
Utrustning:	Mikroskopobjektiv med 16 ggr förstoring Olika objekt, inkl. fasobjekt Fiberljuslampa Retikel med fingraderad skala Linser till okular, kollimator och kondensor Skena, ryttare, hållare, etc.

TEORI

Mikroskopet är ett sammansatt linssystem som används för att ge en förstord bild av små föremål (objekt). Det är idag ett standardinstrument och används dagligen av optiker. I den här labben skall du få bekanta dig med hur ett mikroskop fungerar. Avsnitten nedan behandlar mikroskopets uppbyggnad och hur bilden av ett objekt uppkommer. Laborationen går ut på att du själv skall bygga ihop ett mikroskop och sedan studera olika objekt.

Mikroskopets uppbyggnad

Mikroskopet är i huvudsak uppbyggt av ett objektiv (eng. *objective*) och ett okular (eng. *eyepiece*). Objektivet sitter närmast objektet som skall studeras och ger en förstord reell bild, den s.k. mellanbilden. Objektivet har en positiv brytkraft och kan i princip bestå av en enda positiv lins, men kommersiella objektiv består normalt av ett antal linser för att minimera avbildningsfel och maximera den numeriska aperturen. Okularet är också ett linssystem med positiv brytkraft. Okularet fungerar som en lupp och förstordar upp mellanbilden från objektivet till en virtuell slutbild. I det enklaste fallet består okularet av en enda positiv lins, men en vanligare konfiguration är det s.k. ramsdenokularet som består av två planokonvexa linser (de två linserna är då vända med de krökta ytorna mot varandra för att minimera avbildningsfel).

Fig. 1 visar strålgången i ett mikroskop, där objektiv och okular för enkelhets skull antagits vara tunna linser. Objektet som skall studeras placeras strax bortom objektivets främre fokuspunkt. Mellanbildens läge, d. v. s. var objektivet lägger sin reella bild, tas fram genom att dra tre strålar: den obrutna strålen från objektet genom objektivets mitt och strålarna genom främre respektive bakre fokuspunkterna, F_1 och F_1' . Okularet placeras sedan så att mellanbilden hamnar strax framför okularets vänstra fokuspunkt (i fig. 1 är avstånden från fokuspunkterna överdrivna: objektet ligger i själva verket mycket nära F_1 och mellanbilden mycket nära F_2). En person som ser genom okularet kommer nu att se en förstord virtuell bild. Den virtuella bildens läge konstrueras genom att först dra den stråle från mellanbilden som går genom okularets mitt och därför inte bryts. Sen drar man strålen som är parallell med optiska axeln och därmed passerar okularets bakre fokuspunkt F_2' . Genom att strecka denna stråle bakåt ser man den virtuella bildpunktens läge, d. v. s. den punkt som strålarna efter okularet ser ut att komma ifrån.

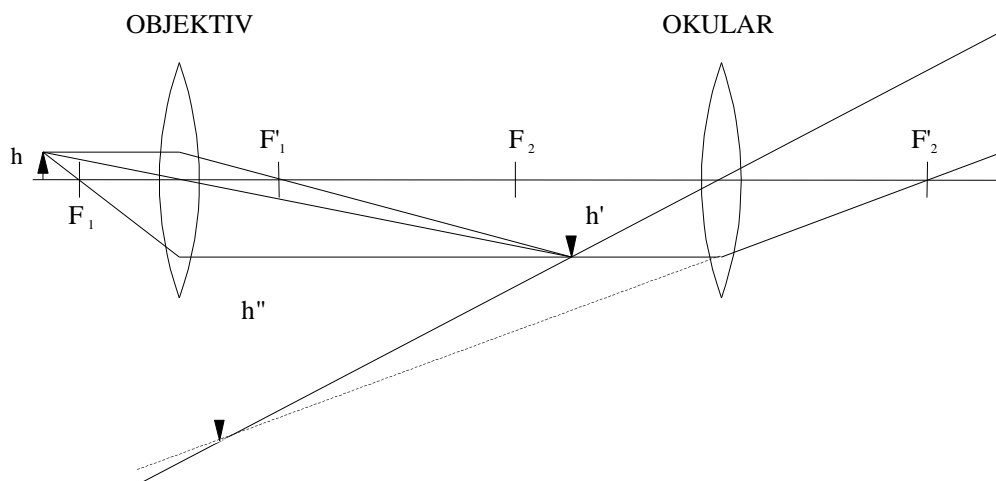


Fig 1. Strålgången i ett mikroskop

I många fall brukar man lägga en glasskiva med ett färdigt mönster i det plan där mellanbilden hamnar, en s.k. retikel. Eftersom okularet avbildar detta plan ser man både skalan på retikeln och bilden av objektet skarpt på samma gång. Om mönstret på retikeln t.ex. utgörs av en millimeterskala kan man direkt se hur stor mellanbilden är. Sedan kan man enkelt räkna ut det ursprungliga objektets storlek bara man känner till objektivets förstoring.

Låt oss nu bestämma förstoringen i mikroskopet. Antag att höjden av objektet är h , höjden av mellanbilden h' , höjden av slutbilden h'' , fokallängden för objektivet f'_1 , fokallängden för okularet f'_2 och avståndet mellan objektiv och okular d . Objektivets laterala förstoring $m_{obj} = h'/h$ kan beräknas genom att betrakta strålen från objektet som går igenom objektivets bakre fokalpunkt F'_1 . Likformiga trianglar ger,

$$m_{obj} = \frac{h'}{h} = -\frac{d - f'_1 - f'_2}{f'_1} = -\frac{g}{f'_1} \quad (1)$$

I formeln ovan har vi utnyttjat att mellanbilden ligger mycket nära okularets främre fokalpunkt F_2 . Avståndet $d - f'_1 - f'_2$ kallas optisk tublängd (g) och brukar normalt sättas mellan 160 och 170 mm. Riktigt bra kommersiella objektiv kan komma ner till en fokallängd på cirka 3 mm och därmed en förstoring på runt 60 ggr.

Den laterala förstoringen i okularet beror på var bilden hamnar, eftersom slutbildens höjd växer när bildavståndet från okularet ökar. Bildavståndet kan ställas in genom små ändringar av okularets läge. När okularet t.ex. flyttas så att mellanbilden ligger i F_2 blir både bildavståndet och h'' oändligt stora och den laterala förstoringen m blir meningslös. Istället för den laterala förstoringen brukar man använda vinkelförstoringen M . Vinkelförstoring innebär att vi jämför synvinkeln som mellanbilden upptar när den betraktas på bekvämt synavstånd utan okular (w_{utan}) med synvinkeln som den virtuella slutbilden upptar när okularet är på plats (w_{med}). Normalt synavstånd brukar sättas till $q = 0,25$ m. Om vi tittar på mellanbilden på detta avstånd upptar den ungefär vinkeln $w_{utan} = h'/q$. Ur fig. 1 ser man att synvinkeln med okular, det vill säga vinkeln mellan optiska axeln och strålen som går genom okularets mitt, blir $w_{med} = h'/f'_2$ (antaget att mellanbilden ligger mycket nära F_2). Vinkelförstoringen är nu kvoten mellan dessa båda synvinklar (som för lupp),

$$M_{ok} = \frac{w_{med}}{w_{utan}} = \frac{q}{f'_2} \quad (2)$$

Typiska värden på okularets förstoring ligger på runt 5 till 10 ggr. Den totala förstoringen M i mikroskopet är produkten av objektivets och okularets förstoring,

$$M = m_{obj} \times M_{ok} = -\frac{d - f'_1 - f'_2}{f'_1} \times \frac{q}{f'_2} \quad (3)$$

FÖRBEREDELSEUPPGIFT 1: Vilken fokallängd har ett okular som förstorar 10 ggr?

I ett mikroskop är det lätt att bilden blir väldigt mörk ifall man inte belyser objektet ordentligt. Mikroskop brukar därför även ha ett belysningssystem som i fig. 2: en kollektorlins för att samla ihop ljus från en ljuskälla och en kondensorlins för att fokusera ljuset på objektet och därmed belysa det. Både kollektorn och kondensorn kan vara sammansatta linssystem. För att bygga rätt belysningssystem är det viktigt att veta att mikroskopets objektiv bara kan släppa igenom infallande strålar med en viss maximal infallsvinkel u mot optiska axeln. Normalt brukar man ange $\sin u$ d.v.s. objektivets *numeriska apertur* (N.A.). Kondensorlinsen bör därför väljas så att infallsvinkeln w' på randstrålarna inte överskrider u , annars går en del av ljuset i belysningen förlorat. Uppsamlingsvinkeln w för kollektorn ska vara så stor som möjligt för att inget ljus från källan ska gå förlorat. Kollektor och kondensor avbildar tillsammans ljuskällan på objektivet (se fig. 2). I konstruktionen av belysningssystemet måste man också ta hänsyn till storleken hos bilden av ljuskällan. Bilden bör inte vara större än objektivets *inträdespupill*, d. v. s. den maximala bredd på ett strålknippe som kan komma igenom objektivet.

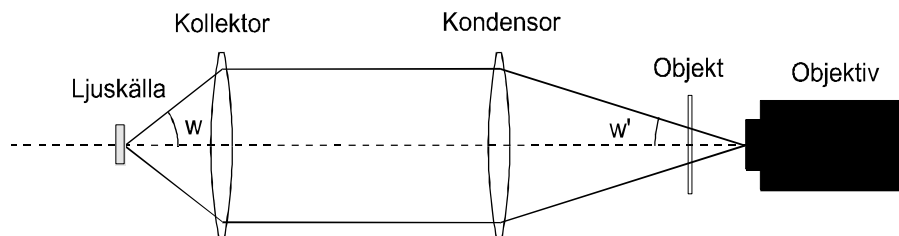


Fig. 2. Uppställning för belysning av objektet i ett mikroskop.

FÖRBEREDELSEUPPGIFT 2: Ett objektiv har den numeriska aperturen 0.25. Vilken infallsvinkel får infallande strålar maximalt ha för att kunna fångas upp av objektivet?

INSTRUKTIONER

1. Du skall nu själv få bygga ihop ett mikroskop steg för steg. Komponenterna skall ställas upp längs med den optiska skena som finns på labbplatsen, och du måste alltså titta längs med skenan för att se den förstorade bilden. Till ditt förfogande har du en lysdiod, ett antal linser, ett mikroskopobjektiv och ett par hållare. Bygg först ett belysningssystem på ena änden av skenan så att objektet kan belysas i sin hållare. Ta hänsyn till objektivets numeriska apertur och tänk på att lämna utrymme så att resten av mikroskopet får plats.
2. Försök nu att sätta det vanliga mikroskopobjektivet på plats. På din labplats finns en retikel med graderad millimeterskala. Använd denna som objekt och gör en avbildning med hjälp av objektivet. Var ligger objektivets bild, d.v.s. den reella mellanbilden? Mät upp förstoringen på mellanbilden.
3. Du kan använda en positiv lins som okular. Välj en lins så att okularet förstorar cirka 10 ggr. Använd okularet för att betrakta objektet (retikeln) genom mikroskopet. Finns det synliga avbildningsfel (aberrationer)? Beräkna totalförstoringen i mikroskopet.
4. Ta ur retikeln ur objektishållaren och sätt den istället i en hållare i mellanbildalet (man ska kunna se den skarpt när man tittar genom okularet). Betrakta sedan ett antal vanliga objekt genom mikroskopet och beräkna deras riktiga storlek.
5. Ett mikroskop kan även byggas om för att avbilda helt genomskinliga objekt, s.k. fasobjekt. Be labhandledaren om hjälp att bygga om din uppställning för att titta på fasobjekt. På nästa sida finns en beskrivning av denna faskontrastmetod.

Fasobjekt och faskontrast

Med ett vanligt objekt menar vi ett objekt som vi lätt kan se eftersom intensiteten varierar över dess yta – när det gäller mikroskop, t.ex. ett hårstrå eller en bit rödlök. Det finns även objekt som är delvis genomskinliga och som går att se med mikroskopet – smuts på objektglaset, eller vingen på en mygga. Vingen är kanske genomskinlig, men intensiteten varierar tillräckligt för att vi ska kunna se den.

Men inom många tillämpningar förekommer s.k. fasobjekt. Ett fasobjekt är ett föremål som är (nästan) helt genomskinligt vid genomlysning. Många celler är t.ex. genomskinliga, om man inte färgat dem. Objektet har så lite absorption att kontrasten blir mycket dålig. Man kan inte skilja på objekt och bakgrund. Genom att använda speciella faskontrastmetoder kan man ändå få dessa objekt att framträda.

Faskontrast gör oftast kanterna väldigt tydliga. T.ex. är en liten vattendroppe genomskinlig, men man kan tydligt se dess kanter med faskontrast. Kanter sprider ljus – ljus som träffar en kant ändrar riktning. (På nästa kurs går vi igenom orsaken till detta – diffraktion – men för tillfället nöjer vi oss med att kalla det spridning.) Det är just denna riktningsändring som de olika faskontrastmetoderna utnyttjar.

Ni ska använda Schlierenmetoden, som visas i Fig. 3. Där har vi satt in två plattor (t.ex. aluminiumplattor, eller visitkort) som båda blockerar hälften av ljuset. Om du studerar figuren, ser du att hälften av ljuset blockeras av den första plattan (aperturen). Det skapas också en bild av plattan. Bilden ligger mellan objektivet och mikroskopets mellanbild. I bilden av plattan placerar man sedan ytterligare en platta (den komplementära aperturen) så att den blockerar resten av ljuset. Nu kommer inget ljus genom mikroskopet. Kontrollera t.ex. att stråle 1 eller 2 inte tar sig igenom!

Men ljus som ändrat riktning i objektet, såsom stråle 3, kan ändå ta sig igenom. Det betyder att kanterna, som får strålarna att ändra riktning, ändå kommer att synas i mikroskopet. Vi får alltså en mörk bild, förutom kanterna som kommer att se ljusa ut. Då har vi gjort det genomskinliga objektet synligt.

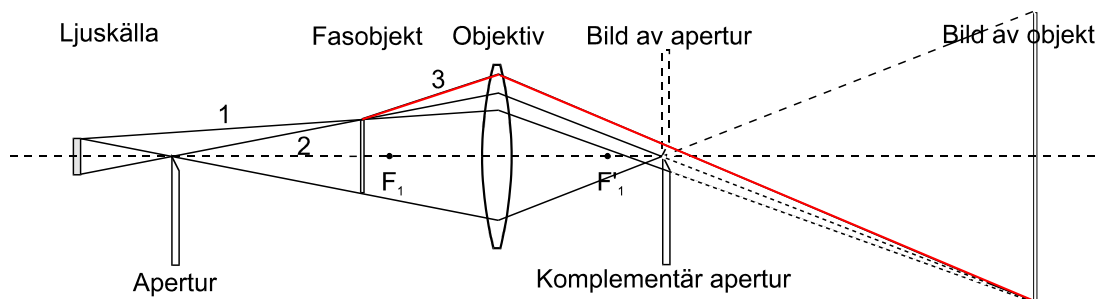


Fig 3. Schlierenmetoden

Tips:

- 1) Ta bort belysningssystemet innan du börjar.
- 2) Placera aperturen så att hela objektet blir belyst (alltså inte för nära objektet).
- 3) Objektivet har så kort fokallängd, att bilden av aperturen hamnar för nära eller t.o.m. inuti objektivet. Då kan du behöva byta ut mikroskopobjektivet mot en lins med längre fokallängd – labhandledaren tipsar om vilken.