

ВАСИЛЬЕВ Д.В.

**БАЗОВАЯ ИНФОРМАЦИЯ НЕОБХОДИМАЯ ДЛЯ РАБОТЫ НА
ОПТИЧЕСКОМ МИКРОСКОПЕ.**

Устройство оптического микроскопа

Оптический микроскоп состоит из двух основных частей выполняющих разные функции - механической и оптической. Механическая часть не принимает непосредственного участия в процессе создания изображения, в этом непосредственно участвует оптическая часть.

Механическая часть состоит из:

1. корпуса (штатива);
2. предметного столика;
3. тубуса;
4. револьвера с гнездами для объективов;
5. макро и микрометрических винтов для грубой и тонкой настройки.

Оптическая часть состоит из:

6. объектива;
7. окуляра;
8. осветительной системы.

Механическое устройство микроскопа.

Корпус (штатив) микроскопа является основой для установки оптических и механических частей микроскопа. По конструкции штативы делятся на две основные группы — прямые и инвертированные. В прямых штативах — объективы и окуляры расположены сверху над столиком, конденсор снизу под столиком, а в инвертированных микроскопах — наоборот.

Предметный столик предназначен для крепления или фиксации в определенном положении объекта наблюдения. Столики бывают неподвижные, координатные и вращающиеся (центрируемые и не центрируемые).

Даже самые простые предметные столики позволяют производить перемещение объекта в двух координатных плоскостях, а более сложные обеспечивают перемещение по трём осям и поворот на определённый угол.

В исследовательских микроскопах могут применяться также моторизованные столики, которые позволяют автоматизировать процесс съемки и отслеживать препарат в определенных координатах через определенные промежутки времени.

Тубус предназначен для объединения в единую оптическую систему объективов и окуляров микроскопа. На одной стороне тубуса располагается револьвер с объективами, а на другой окуляр.

Револьвер предназначен для быстрой смены объективов, которые ввинчиваются в его гнезда. На револьвер может устанавливаться обычно 3, 4 или 5 объективов. Смена объектива осуществляется простым поворотом головки револьвера. Объективы микроскопа характеризуются номинальными увеличениями, поэтому, как правило, комплект объективов выбирается из следующего ряда увеличений: 5; 10; 20; 40 раз и также иммерсионные системы с увеличением в 50; 60; 90; 100; 120 раз.

Макро и микрометрические винты для грубой и тонкой настройки.

Макро винт предназначен для грубой фокусировки и осуществляет плавное перемещение тубуса или предметного столика на достаточно большое расстояние, зависящее от конструкции микроскопа. Микро винт предназначен для точной установки объектива на резкость изображения. Величина точного перемещения обычно не превышает 2 мм с ценой деления шкалы барабана 2 мкм.

3.2. Основные понятия оптики, используемые в микроскопии.

Для того чтобы говорить об оптической системе рассмотрим важные для микроскопов понятия оптики.

Основная задача микроскопа это увеличение. **Увеличение** это отношение углового размера наблюдаемого объекта, к угловому размеру объекта, помещенного на расстояние наилучшего зрения

Увеличение микроскопа ориентировочно можно определить, умножая увеличение объектива на увеличение окуляра.

Различают полезное и бесполезное увеличение. Если при увеличении предмета можно видеть новые детали его строения, то это полезное увеличение [16]. Если новые детали строения при увеличении объекта не обнаруживаются, то это бесполезное увеличение. Если взять лист растения и разглядывать его в микроскоп, то по мере увеличения мы сможем сначала рассмотреть клетки растения, потом крупные органеллы, при еще большем увеличении потом и мелкие. Но если лист просто сфотографировать обычным фотоаппаратом и рассматривать на мониторе компьютера с разным увеличением, то, как бы мы, ни увеличивали изображение листа, а увидеть даже его клеточное строение не сможем.



Полезное увеличение

Бесполезное увеличение

Полезное увеличение зависит от разрешающей способности микроскопа т.е. способности давать раздельное изображение двух близких друг другу линий. Человек с хорошим зрением способен различить порядка 5-10 линий на 1 мм. Т.е. разрешающая способность глаза может составлять порядка 100 мкм. Хороший микроскоп имеет разрешение уже около 0,2 мкм и на отрезке длиной в 1 мм можно различить уже 5000 линий. Каждый микроскоп имеет свой предел разрешения т.е. минимальное расстояние, на котором две линии еще видны раздельно. Предел разрешения зависит от длины волны света, которым освещается объект, и числовой апертуры объектива. **Числовая апертура**, в свою очередь, зависит от угловой апертуры объектива и показателя преломления среды, находящейся между фронтальной линзой

объектива и препаратом. **Угловая апертура**—это максимальный угол, под которым могут попадать в объектив лучи, прошедшие через объект. Чем больше апертура и чем ближе показатель преломления среды, находящейся между объективом и препаратом, к показателю преломления стекла, тем выше разрешающая способность объектива.

Зная вышеперечисленные понятия и их величины мы можем рассчитать разрешающую способность микроскопа по формуле Эрнста Аббе установившего, что разрешение определяется выражением:

$$R = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha},$$

где R – минимальное расстояние между двумя разрешаемыми точками объекта; λ – длина волны света; n - показатель преломления среды между образцом и объективом; α – угловая апертура.

Многие объективы дают изображение, в котором центральная часть и периферия не могут быть сфокусированы одновременно. Степень такого несовпадения определяется **глубиной резкости**.

Глубиной резкости изображаемого пространства (ГРИП) является такой диапазон расстояний на изображении, в котором предметы воспринимаются как резкие. Резкость изображения не меняется внезапно, она убывает постепенно. По сути, всё, что находится ближе или дальше дистанции фокусировки, постепенно теряет резкость — даже если это незаметно для глаза. Поскольку не существует чётко заданной границы, для определения предельного размытия точки, после которого она воспринимается как нерезкая, используется более точный термин под названием «кружок нерезкости». Когда кружок нерезкости становится осязаемым нашими глазами, эта область считается вышедшей за пределы глубины резкости и не является «приемлемо чёткой».

Чтобы решить данную проблему, фирмы-изготовители выпускают специальные объективы с минимальной кривизной поля зрения, которые отмечены приставкой «План» (Plan), например Планахромат и Планапохромат, где исправлена кривизна изображения по полю, что обеспечивает резкое изображение объекта по всему полю наблюдения.

Контраст – различимость предмета наблюдения от окружающего его фона. Детали изображения должны различаться яркостью или цветностью, чтобы человеческий глаз смог отличить их друг от друга. В микроскопии проходящего света контраст образца, как правило, обеспечивается разным уровнем поглощения света частями препарата.

Оптическое устройство микроскопа.

Объективы - оптические системы для построения микроскопического изображения в плоскости изображения с соответствующим увеличением, разрешением, точностью воспроизведения по форме и цвету объекта исследования. Объективы являются одними из ключевых частей микроскопа и располагаются в нижней части тубуса в гнездах револьвера.

Различают объективы нескольких категорий:

- **Ахроматические (ахроматы)** являются наиболее распространенными. Они сводят синие и красные лучи в один фокус, несколько отличающийся от фокуса для зеленого света. Даваемое ими изображение может иметь слабо заметные цветные кольца, окрашенные в зависимости от фокусировки в зеленый или пурпурный цвет. Ахроматы исправлены в отношении сферической аберрации только для зеленых лучей.
- **Полуахроматические или флюоритовые объективы** (названные так потому, что в них стоят линзы из минерала флюорита). В них лучше исправлена хроматическая аберрация, чем в ахроматических объективах. Благодаря этому они выпускаются с относительно большей (при данном увеличении) апертурой и дают более качественное и

контрастное изображение. Простота конструкции и большая светосила делают флюоритовые объективы удобными для флуоресцентной микроскопии. Они также могут быть с успехом использованы для фотомикрографии.

- **Апохроматические** – в отличие от ахроматических объективов почти не искажают природный цвет объекта. Апохроматы представляют собой наиболее скорректированные объективы, у которых практически полностью исправлена хроматическая аберрация, а сферическая аберрация исправлена не для одного, а для двух цветов. Такие объективы сложны в изготовлении, поэтому в микроскопах многих фирм добиваются коррекции вторичной хроматической аберрации с помощью специальных «компенсационных» окуляров.
- **Планахроматические** объективы практически полностью уничтожают сферическую аберрацию и имеют минимальную кривизну поля зрения. Такие объективы отмечены приставкой «План» (Plan), например Планахромат или Планапохромат.
- **Планапохроматические** объективы позволяют получать резкое и не искажённое изображение по всему полю. Кроме этого некоторые модификации объективов плоского поля корректируют хроматические аберрации.
- **Также различают сухие и иммерсионные объективы.** При применении сухих объективов между покрывающим объект покровным стеклом и фронтальной линзой объектива находится воздух. При переходе из стекла в воздух в силу различий в коэффициентах преломления часть лучей отклоняется в сторону, что ухудшает освещённость объекта.

Иммерсионные объективы необходимо использовать в тех случаях, когда нужна высокая четкость изображения. Иммерсия (от лат. *immersio* — погружение) — жидкость, заполняющая пространство между объектом наблюдения и специальным иммерсионным объективом (конденсором и

предметным стеклом). При употреблении иммерсионных систем между покровным стеклом и фронтальной линзой объектива помещается иммерсионная жидкость, различная для разных систем. Благодаря этому лучи не отклоняются от первоначального направления и полностью попадают в объектив. Это способствует: увеличению видимости за счет увеличения разности показателя преломления среды и объекта; увеличению глубины просматриваемого слоя, который зависит от показателя преломления среды. Также иммерсионная жидкость может уменьшать количество рассеянного света за счет исчезновения бликов от объекта устраняя тем самым потери света при его попадании в объектив.

В качестве иммерсионной жидкости для объективов водной иммерсии используют дистиллированную воду, а для объективов масляной иммерсии—кедровое масло или специальное синтетическое иммерсионное масло. Использование синтетического иммерсионного масла предпочтительнее, поскольку его параметры более точно нормируются, и оно в отличие от кедрового, не засыхает на поверхности фронтальной линзы объектива. Для объективов, работающих в ультрафиолетовой области спектра, в качестве иммерсионной жидкости используют глицерин. Чаще всего иммерсионные объективы рассчитаны на работу со специально изготовленным маслом, водой или глицерином, но имеются и объективы способные работать с любой иммерсионной средой. Поскольку иммерсионные масла несколько различаются, то при их применении следует руководствоваться рекомендациями фирмы-изготовителя оптики. Особенно важно избегать смешения различных масел. Если на объективе остались следы масла, то при использовании другого масла качество изображения может ухудшиться, поэтому объективы необходимо чистить.

Также для достижения лучшей яркости и четкости изображения на линзы объективов может быть нанесено специальное просветляющее покрытие, уменьшающее количество отраженного света, и, как следствие, повышающее коэффициент светопропускной способности оптической

системы, что, в свою очередь, приводит к формированию более яркого и контрастного изображения. Такую оптику часто называют просветленной.

Устройство объектива.

Объектив имеет сложную оптико-механическую конструкцию, которая включает несколько одиночных линз и компонентов, склеенных из 2-х или 3-х линз. Количество линз обусловлено кругом решаемых объективом задач. Чем выше качество изображения, даваемое объективом, тем сложнее его оптическая схема.

Во фронтальной части объектива располагаемой напротив изучаемого объекта находится фронтальная линза, обращенная к препарату. Она является основной линзой для построения изображения соответствующего качества. Фронтальная линза определяет рабочее расстояние и числовую апертуру объектива. Последующая часть объектива в сочетании с фронтальной обеспечивает требуемое увеличение, фокусное расстояние и качество изображения.

Степень увеличения изображения изучаемого предмета является одним из основных параметров оптических объективов. По степени увеличения объективы подразделяются на:

- малого увеличения – до 10х;
- среднего увеличения – от 10х до 50х;
- большого увеличения – от 50х до 100х;
- объективы со сверхбольшим увеличением - свыше 100 х.

Объектив, помимо увеличения, обеспечивает еще разрешающую способность микроскопа, т. е. способность давать отдельные и отчетливые изображения элементов (точек) объекта, весьма близко расположенных друг к другу. Эта способность характеризуется числовой апертурой объектива. Числовая апертура показывает разрешающую способность оптической системы микроскопа и определяется величиной минимального расстояния, при котором объектив может различить две соседние точки.

По величине апертуры объективы можно разделить на:

- объективы с малой апертурой – до 0,25;
- со средней апертурой – от 0,25 до 0,65;
- с большой апертурой – больше 0,65.

Чем больше NA (апертура) объектива, тем более мелкие детали он может разрешать. Увеличение и апертура не связаны строго между собой. Так, могут быть, например объективы с одинаковым увеличением в 40 крат, но разной апертурой - 0,65 и 1,3. Оба дают изображения, сходные по размерам, однако второй позволяет различить более мелкие детали.

При работе с микроскопом также большое значение имеет рабочее расстояние объектива, т. е. расстояние от нижней (фронтальной) линзы объектива до покровного стекла (толщина которого составляет 0,16-0,18 мм). Чем толще покровное стекло, тем меньше рабочее расстояние. Чем больше увеличение объектива, тем меньше рабочее расстояние. Оно колеблется от нескольких миллиметров для слабых увеличений до долей миллиметра для сильных. Поэтому фронтальные линзы у объективов с сильным увеличением могут быть снабжены пружинящим телескопическим механизмом предотвращающий раздавливание покровного стекла и повреждение линзы.

Некоторые объективы рассчитаны на работу с непокрытым препаратом, другие, наоборот, могут быть использованы при работе с культуральными флаконами и рассчитаны на толщину их стенок до 2 мм.

Небольшие отклонения в толщине покровного стекла, как правило, несущественны для объективов с апертурой менее 0,65, но имеют значение для сухих объективов с большой апертурой (0,75—0,95).

Маркировка объективов.

Данные о каждом объективе маркируются на его корпусе.

Увеличение указывается цифрами часто со знаком «х» обозначающим значение крат увеличения - 10х, 40х, 100х. По международной системе маркировки дублируется цветовыми кольцами: черное (1х, 1,5х); коричневое

(2x); красное (5x); жёлтое (10x) , зелёное (20x, 25x, 30x); синее (40x, 50x); белое (100x, 150x).

Числовая апертура записывается обычно вместе со значениями увеличения в виде цифр - 0,20; 0,65. Такая запись может выглядеть следующим образом - 40/0,65 или 40x/0,65.

Коррекция на бесконечную дину тубуса обозначается знаком бесконечности - ∞ .

Работа с покровным стеклом или без него - 0 – без стекла, – - не имеет значения

Тип оптической коррекции маркируется следующим образом:

- **АРО (АПО)** - апохроматические объективы;
- **S-Plan, Semi-Plan** - полупланахроматические объективы;
- **PL, Plan (ПЛАН)** - планахроматические объективы;
- **Plan-Apo (ПЛАН-АПО)** - планапохроматические объективы;
- **Achrostigmat, CP-achromat, Achroplan (CX)** — стигмахроматические объективы;
- **MICROFLUAR, NEOFLUAR, NPL, FLUOTAR (СФ или М-ФЛЮАР)** - микрофлюар (полуплан-полуапохромат) объективы.

Может быть **дополнительная буквенная маркировка**, если объектив используется при различных методах исследования и контрастирования:

- **Pp2 (Ф)** - фазовый;
- **Pol (П)** - поляризационный;
- **L (Л)** - люминесцентный;
- **PhL (ФЛ)** - фазово-люминесцентный
- **Epi, HD (ЭПИ)** — эпиобъектив для работы в отраженном свете по методу темного поля;
- **DIC (ДИК)** - дифференциально-интерференционный контраст.

Окуляры помещаются в верхней части тубуса. Они состоят из двух линз, формирующих изображение как одна выпуклая собирающая линза. Окуляры дают увеличенное изображение, и не способствуют повышению разрешающей способности микроскопа. Наиболее употребительными являются окуляры с увеличениями в 7, 10, 15 и 20 раз.

В общем виде окуляры состоят из двух групп линз: глазной — ближайшей к глазу наблюдателя — и полевой — ближайшей к плоскости, в которой объектив строит изображение рассматриваемого объекта.

Различают окуляры:

1. компенсационного (К — компенсируют хроматическую разность увеличения объективов свыше 0,8%) и безкомпенсационного действия;
2. обычные и плоского поля;
3. широкоугольные (с окулярным числом — произведение увеличения окуляра на его линейное поле — более 180);
4. сверхширокоугольные (с окулярным числом более 225);
5. с вынесенным зрачком для работы в очках и без;
6. для наблюдения, проекционные, фотоокуляры, гамалы;
7. с внутренней наводкой (с помощью подвижного элемента внутри окуляра происходит настройка на резкое изображение сетки или плоскость изображения микроскопа;
8. а также плавное, панкратическое изменение увеличения окуляра) и без нее.

Маркировка окуляров.

Увеличение на окулярах обозначается также как и на объективах - 10x, 15x, 20x. Рядом через косую черту может быть обозначен размер поля зрения данного окуляра 18, 20, 22 (в мм). Такая запись может выглядеть следующим образом - 10x/18.

работа в очках (дополнительный символ в виде очков, например - );

фокусировочный (передвижной) элемент внутри окуляра для наводки на резкость изображения сетки окуляра (f_{oc} .)

тип **коррекции** (P1) или **компенсация хроматической разности** увеличения (K)

Объектив и окуляр участвуют в формировании увеличенного изображения рассматриваемого объекта. Увеличение, даваемое объективом, определяет степень детализации изображения (благодаря разрешающей способности объектива). От увеличения окуляра зависит лишь величина изображения. Т.Е. Полезное увеличение дает только объектив, а окуляр может только увеличить размер передаваемого объективом изображения без улучшения детализации видимого объекта.

Осветительная система

Несмотря на то, что осветительная система не участвует в формировании изображения, она является одним из важнейших факторов, определяющих качество изображения в микроскопе, путем создания наилучшего освещения препарата. Она генерирует световой поток, который подается на объект таким образом, чтобы последующие части микроскопа максимально точно выполняли свои функции для построения изображения.

В зависимости от модели микроскопа различают следующие системы освещения:

- Осветитель с зеркалом применяется, как правило, для полевых и детских микроскопов.
- «Критическое» или упрощенное освещение. Применяется в бюджетных микроскопах, которые используются в биологии и медицине. Принцип критического освещения состоит в том, что равномерно яркий источник света располагается непосредственно за полевой диафрагмой и с помощью конденсора свет проецируется на плоскости предмета.

Размер полевой диафрагмы подбирается так, чтобы ее изображение, точно было ограничено полем зрения окуляра (при малом увеличении объектива. В связи с тем, что критическое освещение не дает прямого хода лучей через весь оптический путь, разрешение при критическом освещении ниже, чем при освещении по методу Кёллера.

- Освещение по Кёллеру. Используется в микроскопах лабораторного класса и выше. Принцип освещения по Кёллеру состоит в установке прямого хода луча по всей оптической оси микроскопа. Это дает:
 - однородность освещенности в плоскости препарата (отсутствие затемнений по краям);
 - удаление артефактов — пользователь видит поверхность объекта без пыли от осветителя и покровного стекла;
 - за счет соответствия апертур осветителя и объектива достигается максимальное разрешение изображения исследуемого объекта;
 - освещение по Келеру так же необходимо для работы с такими методами контрастирования как фазовый контраст, темное поле, поляризация, флуоресценция и т. д.
 - Без настройки освещения по Кёллеру указанные методы не будут работать в принципе, так как предполагают полностью прямой ход лучей по всему оптическому пути.

Осветительная система прямого микроскопа проходящего света расположена под объектом в прямых микроскопах (например, лабораторные, поляризационные и др.) и над объектом в инвертированных.

Она включает в себя:

1. источник света (галогеновая лампа или светодиод и электрический блок питания);
2. оптико-механическую систему:
 - 2.1. коллектор;
 - 2.2. конденсор;
 - 2.3. полевая и апертурная регулируемые/ирисовые диафрагмы.

Источником света могут быть как обычные галогеновые лампы так и ксеноновые, ртутные лампы для флуоресцентной (люминесцентной микроскопии). Также все большую популярность набирают светодиодные осветители имеющие большой срок службы и меньшее энергопотребление. Для питания источника освещения используются различные блоки питания, блоки розжига и другие устройства, преобразующие ток из электрической сети в подходящий для питания того или иного источника освещения.

Коллектор располагается в непосредственной близости к источнику света и формирует увеличенное изображение светящегося тела в плоскости апертурной диафрагмы конденсора (или — в случае отраженного света — в плоскости, сопряженной с выходным зрачком объектива).

В исследовательских моделях микроскопа осветитель (лампа, коллектор и полевая диафрагма), как правило, размещается на штативе микроскопа. В более простых моделях, осветитель не связан со штативом микроскопа.

Диафрагма служит для регулирования количества лучей, попадающих в объектив. Диафрагма вместе с расположенным под ней кольцом для матового стекла, укреплена в общей с конденсором оправе, движущейся вверх и вниз. Диафрагма предназначена для ограничения количества света только в той части препарата, которая изучается в данный момент времени. Особенно это полезно при работе с большими увеличениями, когда необходимо подсветить только небольшую площадь образца.

Открытая полевая диафрагма увеличивает ширину луча света. Данная настройка применяется при работе с малыми увеличениями (большее поле зрения). С ростом увеличения диафрагма сужается.

Конденсор представляет собой оптическую систему из двух (иногда трех) линз. Располагается между объектом (предметным столиком) и осветителем (источником света). Конденсор увеличивает количество света поступающего в микроскоп для освещения объекта широко расходящимся пучком лучей. Для получения правильного освещения конденсор устанавливают так, чтобы отверстие диафрагмы было отчетливо видно в плоскости препарата. Для

этого можно использовать не очень плотный лист бумаги положенный на предметный столик. Настройка производится по световому пятну, видимому на листе бумаги. При настройке освещения (юстировке микроскопа) конденсор перемещается вдоль и перпендикулярно оптической оси. Обычно конденсор должен быть расположен близко к объективу.

В конденсоре находится апертурная ирисовая диафрагма, влияющая на контрастность изображения и разрешение.

ПРАВИЛА РАБОТЫ С МИКРОСКОПОМ

Вначале микроскоп необходимо подготовить к работе.

Для этого перед началом работы провести осмотр микроскопа и удаление пыли с поверхности предметного столика, объективов и окуляров мягкой салфеткой ли салфеткой специально предназначенной для ухода за оптикой;

При необходимости провести перед началом работы настройку системы освещения. На разных моделях микроскопа она может проводиться по-разному, в зависимости от их конструкции. Рассмотрим несколько способов настройки микроскопов с системой освещения по Кёлеру.

Если это школьный микроскоп, или какой другой микроскоп имеющий в системе освещения поворотное зеркало, то ему может подойти следующая схема настройки:

- Включите лампу осветителя и направте ее свет на плоскую сторону зеркала микроскопа;
- Закройте зеркало микроскопа листком белой бумаги и сфокусируйте на нем изображение нити лампы накаливания или четко очерченное пятно светодиодной лампы. Для этого передвигайте сам осветитель или его лампу;
- Уберите лист бумаги с зеркала;
- Закройте апертурную диафрагму конденсора. Перемещая зеркало и слегка передвигая патрон лампы, фокусируйте изображение нити

лампы накаливания или четко очерченное пятно светодиодной лампы на апертурной диафрагме. Расстояние осветителя от микроскопа должно быть таким, чтобы изображение нити лампы было равно диаметру апертурной диафрагмы конденсора (наблюдать апертурную диафрагму можно с помощью плоского зеркала, помещенного с правой стороны основания микроскопа).

- Откройте апертурную диафрагму конденсора, уменьшите отверстие полевой диафрагмы осветителя и значительно уменьшите накал лампы;
- Поместите на предметный столик микроскопа готовый препарат;
- При малом увеличении (10x), глядя в окуляр, получите резкое изображение препарата;
- Слегка поворачивая зеркало, переведите изображение полевой диафрагмы, которое имеет вид светлого пятна, в центр поля зрения окуляров. Опуская и поднимая конденсор, добейтесь получения резкого изображения краев полевой диафрагмы в плоскости препарата (вокруг них может быть видна цветная каемка);
- Раскройте полевую диафрагму осветителя до краев поля зрения, увеличивая накал нити лампы и слегка (на 1/3) уменьшая раскрытие апертурной диафрагмы конденсора;
- При смене объектива целесообразно проверять настройку света.

Для современных лабораторных микроскопов подойдет такая схема:

- Сфокусируйте изображение на объективе малого увеличения (10x);
- Закройте полевую диафрагму;
- Поднимите конденсор с помощью ручки на его рабочую высоту. При этом вы должны увидеть края полевой диафрагмы;
- Отцентрируйте полевую диафрагму с помощью винтов центровки;
- Откройте полевую диафрагму;
- С помощью шкалы апертур на конденсоре выставьте апертуру немного меньшую, чем апертура объектива.

После окончания настройки света по Келеру нельзя изменять положение конденсора, раскрытие полевой и апертурной диафрагмы. Освещенность препарата можно регулировать только нейтральными светофильтрами или изменением накала лампы с помощью реостата. Излишнее открытие апертурной диафрагмы конденсора может привести к значительному снижению контраста изображения, а недостаточное - к значительному ухудшению качества изображения (появлению диффракционных колец).

После установки освещения надо установить объект, т. е. правильно расположить его под микроскопом и получить его наилучшее изображение. Для этого надо положить препарат так, чтобы рассматриваемый объект оказался в пучке света идущего через диафрагму.

После этого приближаем объект к окуляру при помощи макровинта на расстояние в несколько миллиметров. Дальнейшая настройка идет с помощью микровинта. Для этого смотря в окуляры осторожно приближаем исследуемый объект к объективу до появления его четкого, резкого изображения. После этого приступаем к микроскопическому наблюдению. Исследование объекта начинается всегда с общего знакомства с ним при малом увеличении; в дальнейшем для рассмотрения интересующих исследователя деталей он переводит микроскоп на большие увеличения.

Для изучения объекта при большом увеличении, сначала нужно поставить выбранный участок в центр поля зрения микроскопа при малом увеличении. Затем поменять объектив, поворачивая револьвер, так чтобы он занял рабочее положение. При помощи микровинта настраиваем изображение объекта.

По окончании работы с большим увеличением, установить малое увеличение, поднять объектив или опустить предметный столик, снять с рабочего столика препарат, протереть чистой салфеткой все части микроскопа и накрыть его чехлом.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УХОДУ ЗА МИКРООПТИКОЙ

Особое внимание необходимо обращать на чистоту поверхностей оптических деталей. Нельзя дотрагиваться пальцами до линз объективов, конденсоров и окуляров, так как отпечатки пальцев очень трудно удалить с оптических поверхностей. Объективы должны быть либо ввернуты в револьвер, либо уложены в футляры.

На последнюю линзовую поверхность объектива (со стороны резьбы) иногда попадают пыль и ворсинки. Удалять их следует с помощью резиновой груши, струей воздуха обдувая поверхность. Удалить загрязнение с этой поверхности чрезвычайно сложно, поэтому в тубусе микроскопа надо всегда оставлять окуляр либо надевать на тубус специальный колпачок. Кроме того, если на внутренних поверхностях линз объектива появится пыль или налет, то ни в коем случае не следует разбирать объектив для чистки. Это одна из самых дорогих и сложных частей микроскопа, ремонт которой можно делать лишь в специальных мастерских, располагающих приспособлениями для сборки и юстировки объективов.

С других наружных оптических поверхностей пыль также удаляется с помощью резиновой груши или очень мягкой чистой кисточки. Если это не помогает, то поверхность надо осторожно протереть мягкой салфеткой или салфеткой предназначенной для ухода за оптикой. Можно использовать и тампон, слегка смоченным специальной смесью спиртов для чистки оптики, состоящей из эфира и изопропилового спирта или этанола.

После работы с иммерсией остатки иммерсии на фронтальных линзах объектива и конденсора нужно удалить фильтровальной бумагой или ватным тампоном, а поверхность осторожно протереть маленьким тампоном, слегка смоченным смесью спиртов. Оставшиеся на поверхности после чистки отдельные волокна от тряпочки или тампона удаляются с помощью резиновой груши. Для того, чтобы проверить хорошо ли вычищена поверхность, ее нужно осмотреть через лупу. Особой осторожности требуют поверхности с просветляющим покрытием.

Следует обращать внимание на чистоту поверхностей коллекторной линзы и светофильтров, так как эти поверхности изображаются вблизи плоскости препарата и их грязь неизбежно видна в поле зрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чуриловский В.Н. Теория оптических приборов. М.-Л.: Машиностроение, 1966, 564 с.
2. Виноградова, В.В. Захаров. Основы микроскопии. Часть 1. Учебное пособие. – СПб: Университет ИТМО, 2018. — 133 с.
3. Скворцов Г.Е., Панов В.А., Поляков Н.И., Федин Л.А. Микроскопы. Л.: Машиностроение, 1969. - 511 с.
4. Виноградова Г.Н., Громова Ю.А. и др. Техника физического эксперимента в системах с пониженной размерностью. Часть 3. Лабораторный практикум. - СПб: НИУ ИТМО, 2011. 41 с. // <http://window.edu.ru/resource/404/76404/files/itmo851.pdf>.
5. Хьбел Д. Глаз, мозг, зрение. Пер. с англ.- М.: Мир, 1990. - 239 с.
6. Валюс Н.А. Стереоскопия. - М.: АН СССР, 1962. - 378 с.
7. Травникова Н.П. Эффективность визуального поиска. — М.: Машиностроение, 1985. - 128 с.
8. Бегунов Б.Н. Геометрическая оптика. М.: Московский университет, 1966. – 210 с.
9. Родионов С.А. Основы оптики. Электронный учебник http://aco.ifmo.ru/el_books/basics_optics/help.html - доступ свободный.
10. Микроскоп [Электронный ресурс] / Интернет-сайт энциклопедии Wikipedia — Электрон. дан. — 2011. — Режим доступа: [http://ru.wikipedia.org/wiki/ Микроскоп](http://ru.wikipedia.org/wiki/Микроскоп), свободный. — Загл. с экрана.
11. Скворцов Г.Е., Панов В.А., Поляков Н.И., Федин Л.А. Микроскопы. Л.: Машиностроение, 1969. - 511 с.
12. Иванова Т.А., Кирилловский В.К. Проектирование и контроль оптики микроскопов. Л.: Машиностроение, 1984, - 231 с.