

LUCRAREA NR. 6

STUDIUL MICROSCOPULUI



Tema lucrării:

- 1) Etalonarea micrometrului ocular.
- 2) Măsurarea dimensiunilor unui obiect mic.
- 3) Determinarea aperturii numerice.
- 4) Determinarea grosimentului microscopului prin metoda lui Hooke.

Aparate:

Microscop Zeiss, obiective (6, 20), oculare (7X, 25X), micrometru obiectiv, micrometru ocular, scală gradată, lampă de microscopie, cameră clară, cilindrii metalici.

Conșiderații teoretice:

Microscopul este un instrument optic care dă o imagine mult mărită a unui obiect, permițând astfel distingerea detaliilor care nu sunt vizibile cu ochiul liber. Din punct de vedere optic, microscopul este o asociație de două sisteme centrate, obiectivul un sistem convergent cu distanță focală mică (câțiva milimetri) și ocularul de asemenea un sistem convergent cu distanța focală mare (câțiva centimetri) (Fig. 6.1).

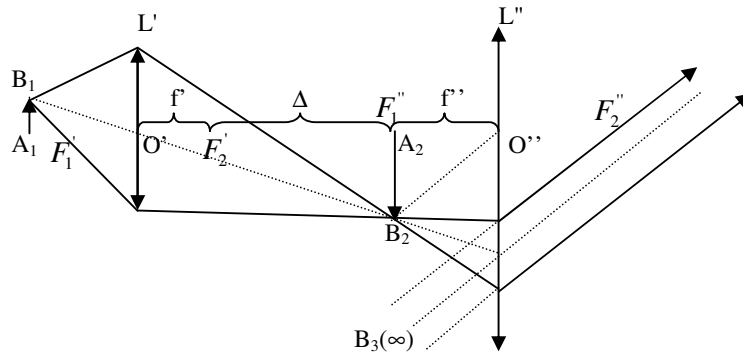


Fig. 6.1 Schema optică a microscopului

Se consideră pentru simplitate atât obiectivul L' cât și ocularul L'' ca fiind lentile subțiri. Obiectivul dă o imagine A_2B_2 reală, mărită și răsturnată a unui mic obiect A_1B_1 așezat între focarul obiectivului și dublul distanței lui focale (mai aproape de focar). Ocularul este așezat în așa fel încât imaginea dată de obiectiv să se formeze între ocular și focarul ocularului. În felul acesta ocularul funcționează ca o lupă și dă o imagine virtuală mărită și răsturnată A_3B_3 față de obiectul A_1B_1 . Pentru a vedea clar imaginea A_3B_3 , adică pentru a pune la punct microscopul, se deplasează ansamblul format din obiectiv și ocular în raport cu obiectul A_1B_1 , până când imaginea finală se formează între punctul proximum și punctul remotum al ochiului. În cazul unui ochi normal, care vede la infinit fără acomodare, deplasarea microscopului se face în așa fel încât imaginea A_2B_2 dată de obiectiv să se formeze în focarul obiect al ocularului F_1'' .

Apertura numerică

Puterea de separare a unui microscop este dată de relația:

$$\epsilon = \frac{1,22\lambda}{2n \sin u} \quad (6.2)$$

Produsul $n \cdot \sin u$ se numește apertură numerică, $2u$ este unghiul sub care se vede din centrul obiectului diametrul pupilei de intrare (care coincide cu suprafața lentilei

frontale a obiectivului), iar n reprezintă indicele de refracție al mediului care se găsește între obiect și lentila frontală a obiectivului (Fig. 6.2).

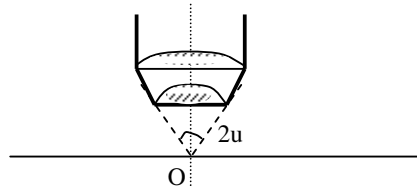


Fig. 6.2 Determinarea aperturii numerice

Grosimentul (sau mărirea unghiulară) a microscopului se poate exprima în funcție de distanțele focale f' și f'' a celor două lentile prin relația:

$$G = \frac{d\Delta}{f' f''} \quad (6.1)$$

unde d este distanța minimă de vedere clară ($d = 25$ cm), iar $\Delta = F_2'F_1''$ și are valoarea 16 cm.

Un microscop este format dintr-un tub de metal fixat pe un suport la extremitățile căruia se pot adapta o serie de obiective și oculare. Ocularul intră cu o ușoară frecare la partea superioară a tubului, iar obiectivul este adus în direcția axei prin înșurubarea directă la extremitatea de jos a tubului. Obiectul se așează pe măsura microscopului care este prevăzută cu o deschidere pentru trecerea luminii. Sub măsura se găsește sistemul de iluminare compus dintr-o oglindă sferică și un condensor. Condensorul iluminează obiectul de studiat și formează în planul obiectului o imagine reală a sursei. Reglarea fluxului luminos care intră în condensator se face cu ajutorul unei diafragme iris. Obiectivul unui microscop este format dintr-un sistem de lentile fixate într-o montură metalică (de ex. obiectivul Amici este format dintr-o lentilă frontală plan-convexă, puternic bombată și din 2-3 acromate).

Ca obiective acromatice se folosesc oculare negative de tip Huygens.

Pentru măsurători de dimensiuni în câmpul imaginii, se folosesc oculare speciale la care lentila ochiului este reglabilă. Ocularul este prevăzut cu un suport, pe care se așează micrometrul ocular.

Micrometrul ocular este un disc de sticlă prevăzut cu o gradație. El se introduce în tubul ocularului, în planul diafragmei de câmp.

Micrometrul obiectiv este o lamă plan paralelă de sticlă prevăzută cu o gradație liniară fină (în cazul nostru 0,01 mm), care se așează în planul obiectului.

Camera clară este un dispozitiv care permite observarea simultană a unei gradații micrometrice văzute prin microscop și a unei gradații milimetrice văzută direct cu ochiul liber.

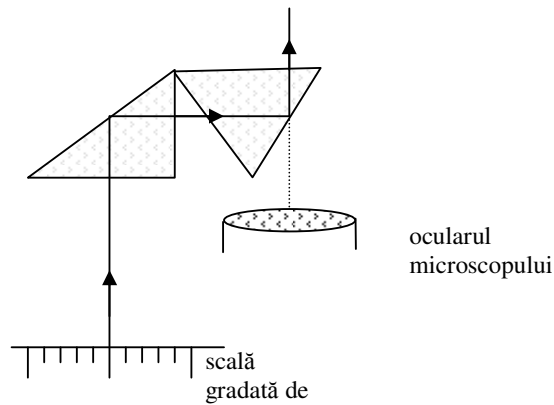


Fig. 6.3 Schema optică a camerei clare

Camera clară este formată din două prisme cu reflexie totală, așezate în așa fel încât să privim obiectul (gradația milimetrică) în direcția de observare prin microscop (fig.6.3).

Mersul lucrării:

1) Etalonarea micrometrului ocular

Se privește prin ocularul 7x (în care se găsește micrometrul ocular) o suprafață luminată și se rotește lentila ochiului, menținând lentila de câmp fixă, până când se vede clar gradația micrometrului ocular. Se introduce apoi ocularul în tubul microscopului.

Se așază micrometrul obiectiv pe măsura microscopului și se reglează microscopul până când se văd clar gradațiile micrometrului obiectiv.

Se rotește ocularul până când diviziunile micrometrului ocular sunt paralele cu cele ale micrometrului obiectiv. Se determină câte diviziuni de pe micrometrul ocular **M** coincid cu un număr întreg de diviziuni de pe micrometrul obiectiv **N**. Valoarea unei diviziuni de pe micrometrul ocular va fi:

$$A = \frac{N}{100 \cdot M} \text{ (mm)} \quad (6.3)$$

În relația de (6.3) factorul "100" a apărut datorită faptului că micrometrul obiectiv este gradat în sutimi de milimetri.

Determinările se fac pentru fiecare obiectiv (**6** și **20**), iar citirile se repetă de cel puțin trei ori pentru fiecare combinație ocular - obiectiv.

Rezultatele experimentale și calculele se trec în tabelul 6.1.

Tabelul 6.1

Nr.obiectiv	N	M	A	\bar{A}	ΔA	$\overline{\Delta A}$
	0,01 mm	div	mm/div	mm/div	mm/div	mm/div

Rezultatele obținute pot fi sintetizate cu ajutorul relației: $A = \bar{A} \pm \overline{\Delta A}$ (mm).

2) Determinarea dimensiunii liniare a unui mic obiect

Micrometrul obiectiv se înlătură de pe măsura microscopului și se așează un obiect a cărui dimensiune liniară vrem să o determinăm (de ex. grosimea unui fir de păr). Acesta se așează între două lame de sticlă plan paralele.

Se reglează microscopul până când imaginea firului de păr este clară. Se rotește ocularul astfel ca diviziunile acestuia să fie perpendiculare pe firul de păr.

Se determină grosimea firului de păr (în diviziuni) cu ajutorul micrometrului ocular. Fie N_1 numărul acestor diviziuni.

Grosimea firului de păr este dată de relația:

$$D = N_1 \cdot \bar{A} \quad (\text{în mm})$$

În relația de mai sus, pentru \bar{A} se folosește valoarea medie determinată la etalonare, corespunzătoare fiecărui obiectiv.

Se fac cel puțin trei determinări pentru fiecare obiectiv (6 și 20). Rezultatele experimentale se trec în tabelul 6.2.

Tabelul 6.2

Nr.obiectiv	\bar{A}	N_1	D	\bar{D}	ΔD	$\overline{\Delta D}$	$\frac{\overline{\Delta D}}{\bar{D}}$
	mm/div	mm/div	mm	mm	mm	mm	%

Rezultatele obținute pot fi sintetizate cu ajutorul relației: $D = \bar{D} \pm \overline{\Delta D}$ (mm).

3) Determinarea aperturii numerice a unui obiectiv

Se așează pe platina microscopului sub obiectiv, o foaie de hârtie milimetrică și deasupra ei un cilindru metalic de înălțime h , care are pe suprafața superioară, niște zgârieturi (fig.6.4).

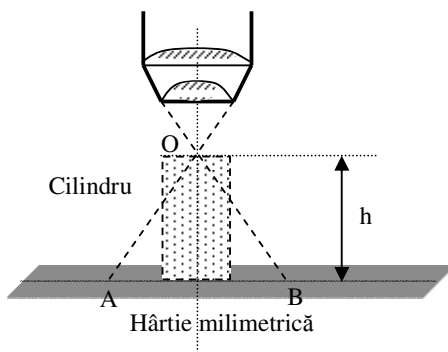


fig. 6.4.

Se iluminează razant fața superioară a cilindrului. Se reglează microscopul astfel încât zgârieturile să se vadă clar.

În felul acesta planul în care se află obiectul este tocmai suprafața superioară a cilindrului.

Se îndepărtează cilindrul și se scoate ocularul, fără a mai deplasa tubul microscopului. Se determină diametrul câmpului vizual **AB** prin numărarea pătrățelelor care se văd prin tubul microscopului.

Tangenta unghiului **u** din expresia aperturii numerice se calculează cu relația:

$$\operatorname{tg} u = \frac{AB}{2} \cdot \frac{1}{h} \quad (6.4)$$

Se fac cel puțin 3 determinări pentru fiecare obiectiv (6 și 20).

Pentru fiecare obiectiv se calculează unghiul de apertură (\bar{u}) și apertura numerică ($n \cdot \sin \bar{u}$). Menționăm că între obiect și obiectivul este aer.

Rezultatele experimentale și calculele se trec în tabelul 6.3

Tabelul 6.3

Nr. obiectiv	AB=d	h	tg u	u	\bar{u}	$n \cdot \sin \bar{u}$
	mm	mm		grade	grade	

4) Determinarea grosimentului microscopului prin metoda lui Hooke.

Pe măsura microscopului se fixează micrometrul obiectiv.

Lumina de la lampa de microscopie se concentrează cu ajutorul oglinzii și a condensorului pe centrul micrometrului obiectiv.

Se reglează imaginea microscopului deplasând tubul până când se văd clar diviziunile micrometrului obiectiv. Reglarea se face mai întâi cu ajutorul șurubului de reglaj grosier și apoi cu ajutorul șurubului micrometric de reglaj fin.

Observație: La obiectivele de mărimi mari se lucrează numai cu șurubul micrometric. Pentru a nu sparge preparatul se coboară cu grijă tubul microscopului până când obiectivul se află în imediata apropiere a preparatului. Apoi se privește prin ocular și se ridică încet tubul microscopului până când imaginea este clară.

În fața microscopului, la distanța minimă de vedere clară, se așează rigla milimetrică în poziție orizontală, astfel încât diviziunile de pe micrometrul obiectiv să fie paralele cu cele ale riglei gradate.

Se așează camera clară pe tubul microscopului în așa fel ca să se vadă prin orificiul ei imaginea micrometrului obiectiv. Se deplasează rigla milimetrică până când ochiul vede simultan imaginea micrometrului obiectiv și cea a riglei milimetrice.

Fluxul de lumină se reglează cu ajutorul diafragmei iris a condensorului până când cele două imagini au aproximativ aceeași iluminare.

Se observă câte diviziuni q de pe rigla milimetrică coincid cu un număr întreg de diviziuni p din imaginea micrometrului obiectiv.

Dacă p sutimi de milimetri sunt acoperiți de q milimetri de pe rigla milimetrică, grosimentul microscopului va fi dat de relația:

$$G = \frac{100q}{p} \quad (6.5)$$

Se fac cel puțin 3 determinări pentru fiecare combinație obiectiv – ocular (20-7; 20-25).

Rezultatele experimentale și calculele se trec în tabelul 6.4.

Tabelul 6.4 $\frac{\overline{\Delta G}}{\overline{G}}$

Nr. obiectiv	Nr. ocular	p	q	G	\overline{G}	ΔG	$\overline{\Delta G}$	$\frac{\overline{\Delta G}}{\overline{G}}$
		0,01mm	mm					%

Rezultatele obținute pot fi sintetizate cu ajutorul relației: $G = \overline{G} \pm \overline{\Delta G}$