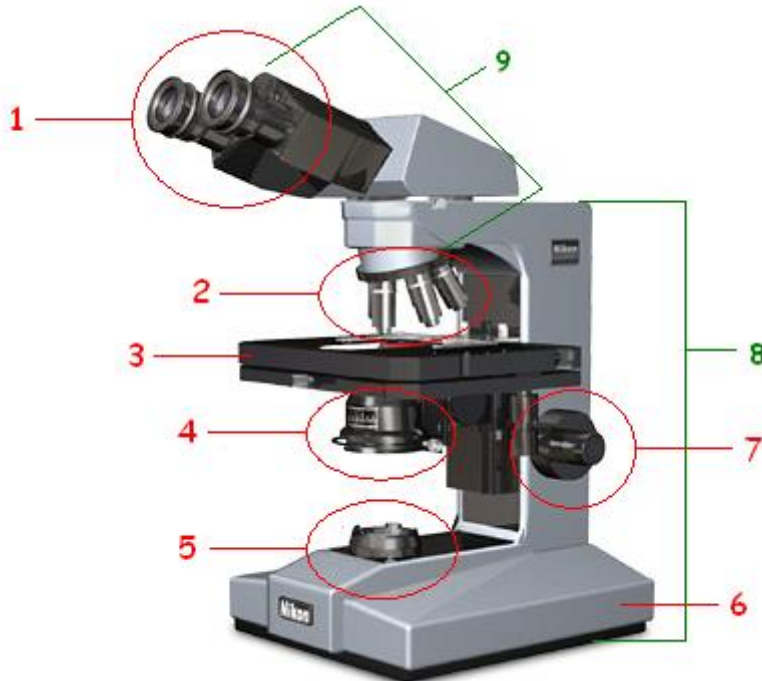


## I. Mikroskop optyczny – podstawowe informacje.

### 1. Budowa i rozchodzenie się światła wewnątrz mikroskopu.



Rysunek 1 Budowa mikroskopu [1]

1 – Okular

2 – Rewolwer – obrotowa tarcza zawierająca zestaw obiektywów o różnym rodzaju powiększenia i aperturze numerycznej

3 – Stolik

4 – Kondensator – koncentruje wiązkę promieni świetlnych o dużej intensywności formując z nich stożek wystarczający do oświetlenia pola przedmiotowego

5 – Przesłona / źródło światła – przesłony głównie mają za zadanie zmniejszenie ilości padającego światła, w zależności od miejsca umieszczenia mogą, np. zwiększać głębie ostrości lub zmniejszać wady optyczne

6 – Podstawa

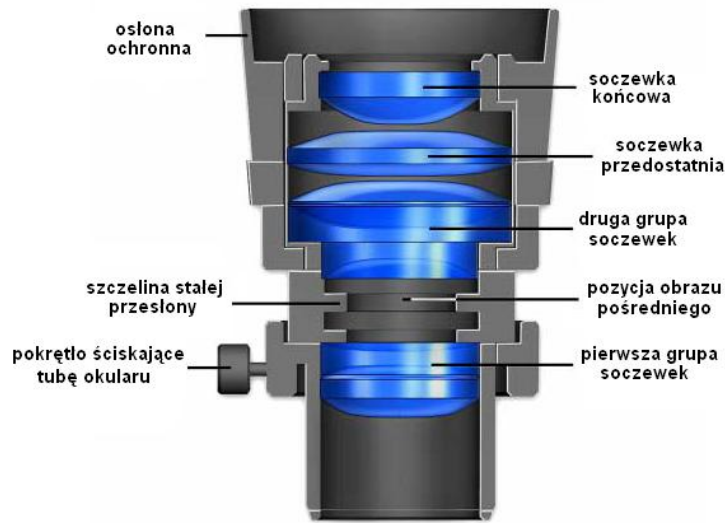
7 – Śruba regulacyjna – umożliwia ułożenie próbki znajdującej się na stoliku na odpowiednią odległość tzw. odległość roboczą od obiektywu

8 – Statyw

9 - Tubus – jest to przestrzeń pomiędzy obiektywem a okulem, w której formuje się obraz

Poniżej zostały zamieszczone rysunki przedstawiające przekrój poprzeczny okularu oraz rysunek wraz ze specyfikacją typowego obiektywu.

## Przekrój poprzeczny okularu



Rysunek 2 Przekrój poprzeczny okularu [2]

## Specyfikacja obiektywu



Rysunek 3 Typowy obiektyw wraz z opisem [2]

Informacja o typie obiektywu wskazuje na sposób budowy obiektywu oraz jego zastosowanie. Wśród obiektywów wyróżniamy następujące typy [5].

a) Obiektywy achromatyczne.

Obiektywy te są skorygowane achromatycznie dla promieni zielonych i czerwonych oraz sferycznie dla pośredniego promieniowania zielonożółtego. Głównym elementem składowym tych obiektywów jest dublet achromatyczny złożony z dwóch soczewek dodatniej ze szkła kronowego i ujemnej ze szkła flintowego połączone klejem optycznym.

b) Fluoraty.

Obiektywy neoachromatyczne mają skorygowaną częściowo astygmatyczną krzywiznę pola. Zamiast szkła kronowego zastosowany został fluoryt (bardziej czystszy niż w przypadku achromatów), co pozwala na poprawę jakości obrazu.

c) Obiektywy planchromatyczne.

Zostały zbudowane podobnie jak achromaty, ale wykazują całkowicie skorygowaną krzywiznę pola.

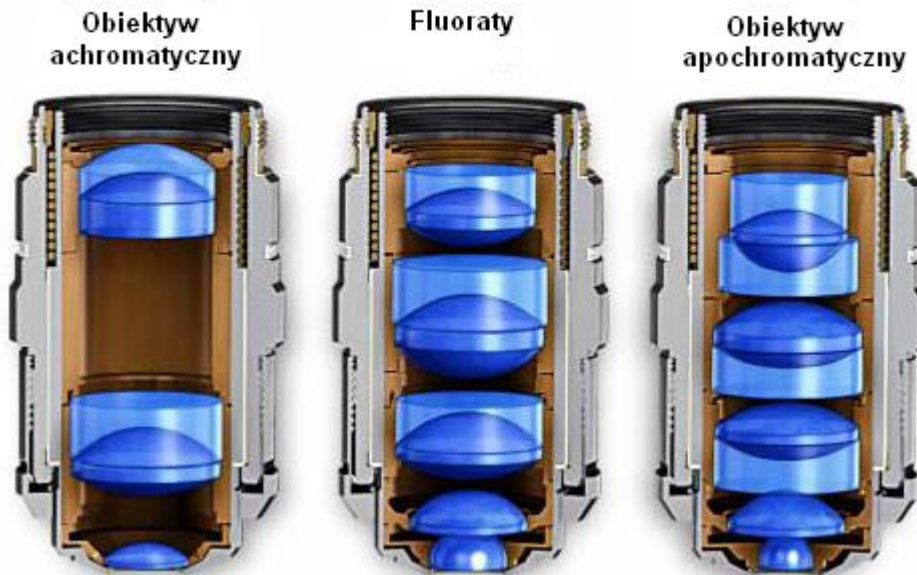
d) Obiektywy apochromatyczne.

Obiektywy skorygowane chromatycznie dla 3 długości fali (fiolet, zieleń, czerwień) oraz sferycznie dla zieleni i fioletu. W układach obiektywów apochromatycznych występują soczewki ze specjalnych gatunków szkła optycznego lub z fluorytu.

e) Obiektywy planpochromatyczne.

Są to obiektywy skorygowane chromatycznie i sferycznie, wykazujące całkowicie skorygowaną krzywiznę pola. Posiadają najwyższy stopień korekcji aberracji.

### Budowa obiektywów różnych typów

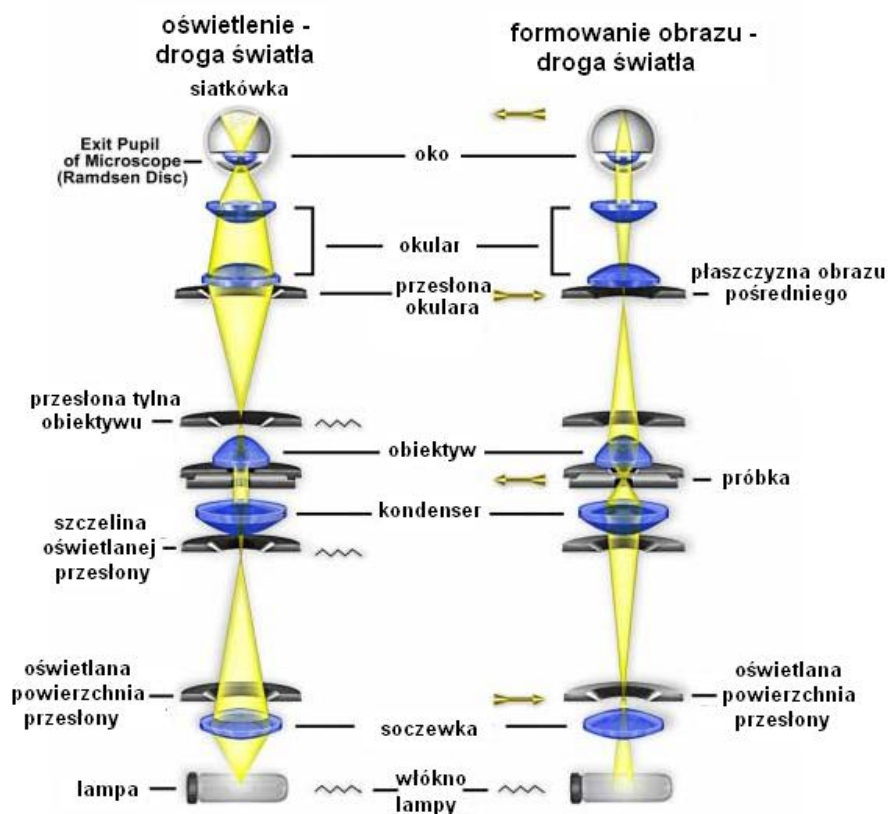


Rysunek 4 Przekrój poprzeczny obiektywów trzech typów [2]

Specyfikacja koloru kodów	Powiększenie
Czarny	1x, 1.25x
Brązowy	2x, 2.5x
Czerwony	4x, 5x
Żółty	10x
Zielony	16x, 20x
Turkusowy	25x, 32x
Jasny niebieski	40x, 50x
Ciemny niebieski	60x, 63x
Creemowy	100x

Rysunek 5 Tabela zawierająca kolor obręczy obiektywu i odpowiadające im powiększenie

### Droga światła w oświetleniu według Köhlera



Rysunek 6 Rozchodzenie się światła wewnątrz mikroskopu [2]

Lewa połowa powyższego rysunku przedstawia drogę rozchodzenia się wiązki światła wewnątrz mikroskopu bez badanej próbki. Natomiast prawa połowa rysunku przedstawia drogę wiązki światła i formowanie się obrazu badanej próbki. Światło wychodzące z lampy pada na soczewkę zbiorczą trafiając w następnej kolejności na powierzchnię przesłony. Szczelina przesłony przed kondensorem determinuje wielkość oraz kształt stożka świetlnego padającego na powierzchnię próbki. Światło przechodzące przez badaną próbkę w następnej kolejności jest ogniskowane na tylnej przesłonie

obiektywu. Po przejściu przez osłonę wiązka jest powiększana przez okular i finalnie pada na siatkówkę w oku.

## 2. Podstawowe parametry charakteryzujące mikroskopy optyczne.

### a) Powiększenie obiektywu i okularu.

Powiększenie obiektywu wyrażone jest równaniem (2.1), natomiast powiększenie okularu (2.2)

$$P_{ob} = \frac{t}{f_{ob}} \quad (2.1)$$

$$P_{ok} = \frac{250}{f_{ok}} \quad (2.2)$$

gdzie

$t$  – długość optyczna tubusu mikroskopu (odległość między ogniskiem obrazowym obiektywu a ogniskiem przedmiotowym okularu)

$f_{ob}$  – ogniskowa obiektywu

$f_{ok}$  – ogniskowa okularu

250 [mm] – jest to stały parametr charakteryzujący odległość najlepszego widzenia

### b) Powiększenie całkowite mikroskopu.

Powiększenie całkowite mikroskopu (2.3) obliczane jest jako iloczyn powiększenie obiektywu i powiększenie okularu oraz ewentualnie przez powiększenie pośredniego układu optycznego.

$$P_c = P_{ob} \cdot P_{ok} \quad (2.3)$$

### c) Apertura numeryczna obiektywu.

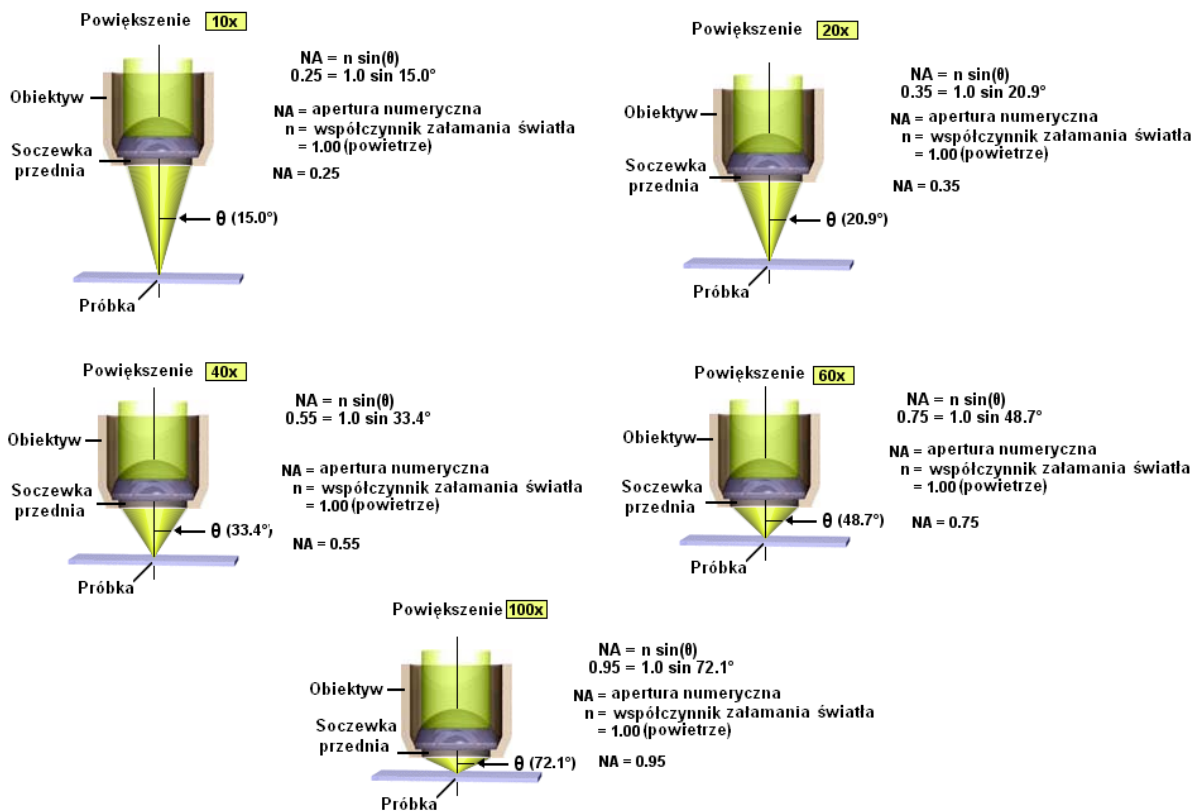
Apertura numeryczna obiektywu (2.4) charakteryzuje możliwość efektywnego wykorzystania obiektywu dla uzyskania obrazu o możliwie największej ilości szczegółów.

$$NA = n \cdot \sin(\alpha) \quad (2.4)$$

gdzie

$n$  – współczynnik załamania ośrodka pomiędzy obiektywem a badaną próbką

$\alpha$  – połowa wartości kątowej apertury numerycznej obiektywu



Rysunek 7 Wartości NA w zależności od odległości próbki od obiektywu [3]

Powiększenie	Apertura Numeryczna
4x	0.10
10x	0.25
20x	0.40
40x	0.65
60x	0.85
100x	0.95

Rysunek 8 Tabela zestawiająca typowe powiększenia obiektywów i odpowiadające im wartości apertury numerycznej

d) Zdolność rozdzielcza obiektywu.

Zdolność rozdzielcza obiektywu (2.5) jest definiowana jako najmniejsza odległość pomiędzy dwoma punktami próbki, które mogą być wciąż rozpoznawalne przez obserwatora jako osobne elementy.

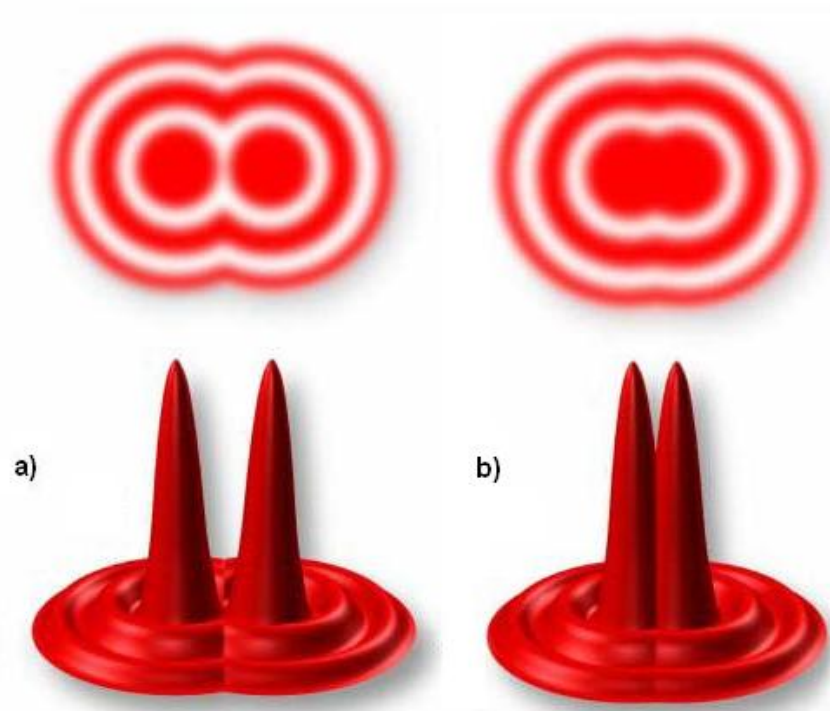
$$d = \frac{\lambda}{2NA} \quad (2.5)$$

$\lambda$  – długość fali światła użytego do obrazowania

Zdolność rozdzielczą mikroskopu można zwiększyć zmniejszając długość fali świetlnej  $\lambda$  lub zwiększając aperturę numeryczną obiektywu NA. Długość fali świetlnej można zmieniać w dość oczywisty sposób natomiast zmiana apertury numerycznej odbywa się przez zmianę



współczynnika załamania światła w danym ośrodku, np. przez umieszczenie między próbką a soczewką obiektywu cieczy immersyjnej.



Rysunek 9 Zdolność rozdzielcza obiektywu [2]

a)- ograniczona możliwość odróżnienia dwóch punktów

b)- brak możliwości odróżnienia dwóch punktów

e) Głębina ostrości.

Głębina ostrości (2.6) jest to przedział odległości wzdłuż osi optycznej obiektywu, w którym obserwowana próbka nie traci ostrości.

$$g = \frac{71,5}{P_c \cdot NA} \cdot \left(1 + \frac{1}{P_c}\right) \quad (2.6)$$

$P_c$  – całkowite powiększenie

$NA$  – apertura numeryczna obiektywu

f) Powiększenie użyteczne.

Powiększenie użyteczne mikroskopu (2.7) jest to powiększenie wynikające z najkorzystniejszego doboru okularu i obiektywu. Pojęcie to jest ściśle związane z tzw. powiększeniem pustym.

Powiększenie puste jest to powiększenie, dla którego nie ujawnia się nowych szczegółów wraz ze zwiększeniem powiększenia okularu. Natomiast zbyt małe powiększenie obiektywu nie ujawnia nowych szczegółów badanego obiektu.

$$P_{uz} = \frac{l_0}{d} = \frac{(500+1000) \cdot NA}{\lambda} \quad (2.7)$$

$l_0$  – zdolność rozdzielcza oka

d – zdolność rozdzielcza obiektywu

NA – apertura numeryczna obiektywu

$\lambda$  – długość fali świetlnej

**Zakres powiększenia użytecznego (500-1000 x NA obiektywu)**

Obiektyw (NA)	Okular				
	10x	12.5x	15x	20x	25x
2.5x (0.08)	---	---	---	x	x
4x (0.12)	---	---	x	x	x
10x (0.35)	---	x	x	x	x
20x (0.55)	x	x	x	x	x
40x (0.70)	x	x	x	x	---
60x (0.95)	x	x	x	---	---
100x (1.42)	x	x	---	---	---

x - odpowiedni dobór

Rysunek 10 Tabela zawierająca przykładowe dobre połączenia obiektywu i okularu [3]

W powyższej tabeli należy zwrócić uwagę na duże wartości apertury numerycznej obiektywu 60x i 100x. Wynika to z faktu, że obiektywy te zostały zaprojektowane do zastosowania wraz z użyciem cieczy immersyjnych.

g) Odległość robocza.

Odległość robocza jest to odległość od czoła soczewki obiektywu do powierzchni obserwowanej próbki.



Rysunek 11 Rysunek przedstawiający odległość roboczą [4]



## Odległość robocza dla różnych obiektywów

Producent	Typ	Powiększenie	Apertura numeryczna	Odległość robocza
Nikon	PlanApo	10x	0.45	4.0 mm
Nikon	PlanFluor	20x	0.75	0.35 mm
Nikon	PlanFluor (oil)	40x	1.30	0.20 mm
Nikon	PlanApo (oil)	60x	1.40	0.21 mm
Nikon	PlanApo (oil)	100x	1.40	0.13 mm

Rysunek 12 Tabela zawierająca wartości odległości roboczej [4]

Dla trzech ostatnich obiektywów w tabeli jest dopisane w nawiasie oil oznacza to, że pomiędzy przednią soczewką obiektywu a badaną próbkę stosuje się ciecz immersyjną. Działanie to ogranicza odległość roboczą.

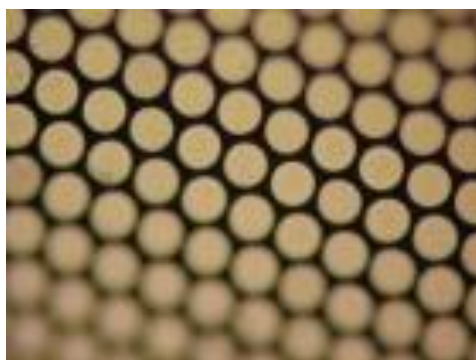
## II. Obrazowód i oświetlacz – podstawowe informacje.

### 1. Obrazowody.

Obrazowód jest to przyrząd optyczny służący do przesyłania obrazu. Zbudowane są z dużej ilości włókien światłowodowych precyzyjnie dopasowanych w taki sposób, aby możliwe było wierne przesyłanie obrazu. Włókna światłowodowe o jednakowych parametrach fizykochemicznych rozmieszczone są wewnątrz obrazowodu równomiernie i w jednakowej odległości, co pozwala uzyskać doskonałe właściwości transmisyjne. Jeżeli włókna umieszczone byłyby w dowolnej konfiguracji wpłynęłoby to bardzo niekorzystnie na strukturę przesyłanego obrazu. Odpowiednia duża ilość włókien na jednostkę powierzchni przekroju poprzecznego obrazowodu daje możliwość przesyłania dużej ilości szczegółów. Materiały z jakich wykonane są włókna światłowodowe charakteryzują się dużą przezroczystością w zakresie światła widzialnego, dzięki czemu przesyłane kolory nie są w żaden sposób niezakłócone. Powierzchnie transmitujące obrazowodu są precyzyjnie oszlifowane i wypolerowane co w istotny sposób wpływa na jakość uzyskanego obrazu.



Rysunek 13 Powierzchnia czołowa obrazowodu [6]



Rysunek 14 Zbliżenie na powierzchnię transmisyjną obrazowodu [7]

Obrazowody wytwarzane są poprzez specjalną obróbkę mechaniczno-cieplną pęków włókien światłowodowych. Pęki te w pierwszym etapie procesu są przycinane na odpowiednią długość, a ich końce są wyrównywane i polerowane. Pojedyncze włókno składa się z rdzenia kwarcowego o niskim współczynniku odbicia i dwóch powłok ochronnych. Powłoka okalająca bezpośrednio rdzeń jest kwasoodporna i ma właściwości typowo zabezpieczające. Natomiast kolejna powłoka jest podatna na działanie kwasu i służy jako element spajający całą konstrukcję. Pęki światłowodowe składające się na przyszły obrazowód w kolejnym etapie procesu produkcji są poddane kąpeli w odpowiednim kwasie. Dzięki temu powłoki włókien nieodporne na dany kwas zespajają się ze sobą. Etap ten powoduje, że obrazowód staje się spójny i elastyczny. W kolejnych etapach produkcji zespolone włókna są zabezpieczane, a powierzchnie transmisyjne obrazowodu są szlifowane i polerowane. Poniżej zamieszczona została tabela przedstawiająca typowe parametry fizyczne obrazowodów.

	IG1	IG2	IG3	IG4	IG5	IG6	IG7
Ilość pixeli	3000	6000	10000	10000	30000	30000	50000
Apertura numeryczna	0,35					0,3	
Średnica włókna (mm)	0,2	0,35	0,37	0,5	0,8	1,5	2,0
Średnica obszaru transmisji obrazu (mm)	0,18	0,315	0,333	0,45	0,72	1,35	1,8
Odległość pomiędzy sąsiednimi rdzeniami (μm)	~4					8 - 9	
Średnica pierwszej wewnętrznej warstwy ochronnej	0,25	0,42	0,45	0,59	0,96	1,9	2,4
Średnica zewnętrznej warstwy ochronnej (μm)	Brak					2,5	3,0
Materiał rdzenia	Kwarc domieszkowany GeO <sub>2</sub>						
Materiał płaszczu	Kwarc domieszkowany fluorem					Czysty kwarc	
Ilość ciemnych punktów w obrazie	<0,1%					<0,05%	
Dopuszczalny promień zgięcia (mm)	10	15	20	25	40	75	100

Rysunek 15 Tabela parametrów obrazowodu produkowanych przez firmę Optec s.c. [8]

Dzięki bardzo dobrym właściwościom transmisyjnym, dużej rozdzielczości, niewielkim wymiarom fizycznym oraz dużej elastyczności obrazowody znalazły szeroki wachlarz zastosowań. W przemyśle wykorzystuje się je przykładowo do sprawdzania wewnętrznych powierzchni rurociągów, rur i zbiorników, w sprawdzaniu stanu technicznego instalacji klimatycznych, baków samochodowych, silników samolotowych. Obrazowody również znalazły zastosowanie w bardzo ważnej dziedzinie życia, jaką jest medycyna. Nowoczesne endoskopy medyczne, których głównym elementem konstrukcyjnym jest obrazowód umożliwiają przeprowadzanie nieinwazyjnego badania, jak również pobierania wycinków oraz przeprowadzania drobnych zabiegów w miejscach ciała człowieka o bardzo ograniczonym dostępie.



Rysunek 16 Zdjęcie przedstawiające obrazowód [9]

## 2. Oświetlacze.

Oświetlacze są pękami światłowodowymi służącymi do przenoszenia mocy optycznej ze źródła światła. W odróżnieniu od obrazowodów ułożenie włókien oświetlacza może być nieuporządkowane. Oświetlacze wykorzystywane są jako oświetlenie mikroskopowe, oświetlenie wzierników, precyzyjne oświetlenie miejsc trudno dostępnych.

## III. Literatura.

[1] <http://www.microscopyu.com/museum/labophot.html>

[2] Optical microscopy, Michale W. Davidson, Mortimer Abramowitz

[3] <http://www.microscopyu.com/articles/formulas/formulasna.html>

[4] <http://www.microscopyu.com/articles/formulas/formulasworkingparfocal.html>

[5] <http://www.kmimp.agh.edu.pl/pliki/cz6.pdf>

[6] <http://wwwnt.if.pwr.wroc.pl/kwazar/jaktopracuje/135501/index.html>

[7] [http://alkahest.umcs.lublin.pl/index.php?option=com\\_content&view=article&id=53:obrazowod&catid=35:projects&Itemid=54](http://alkahest.umcs.lublin.pl/index.php?option=com_content&view=article&id=53:obrazowod&catid=35:projects&Itemid=54)

[8] <http://www.optec.pl/>

[9] <http://www.schott.com/poland/polish/products/fiberoptics/imaging.html>