

Московский Физико-Технический Институт
(национальный исследовательский университет)

Лабораторная работа №4.3.3
Исследование разрешающей способности микроскопа методом
Аббе

Баканова К.В., Б01-003
апрель 2022 г.

Цель работы: определение дифракционного предела разрешения объектива микроскопа.

В работе используются: лазер; кассета с набором сеток разного периода; щель с микрометрическим винтом; оптический стол с набором рейтеров и крепёжных винтов; экран; линейка.

Теория

Для иммерсионного микроскопа разрешающая способность объектива при *некогерентном* освещении

$$\ell_{\min} \approx \frac{0.61\lambda}{n \sin u}, \quad (1)$$

где u – апертурный угол объектива микроскопа (угол между оптической осью и лучом, направленным из центра объекта в край линзы).

Метод Аббе для оценки разрешающей способности состоит в разделении хода лучей на две части: сначала рассматривается картина в задней фокальной плоскости F объектива – она называется *первичным изображением* или *фурье-образом*. Это первичное изображение рассматривается как источник волн (принцип Гюйгенса-Френеля), создающий изображение в плоскости P_2 , сопряжённой плоскости предмета – *вторичное изображение*.

Первичное изображение есть картина дифракции Фраунгофера (на дифракционной решётке), если её период d , то для направления максимальной интенсивности φ_m

Разрешающей способностью оптического прибора называют минимальное расстояние l_{\min} между двумя точками в пространстве предметов, которое прибор может разрешить. Если наблюдения с помощью микроскопа ведутся при внешнем освещении, то, как правило, различные точки предмета рассеивают когерентные волны. Теория разрешающей способности для случая освещаемых объектов была разработана Аббе.

Рассмотрим когерентно освещенный объект, наблюдаемый в объектив микроскопа. Минимальное разрешаемое объективом расстояние определяется условием

$$l_{\min} \approx \frac{\lambda}{\sin A} \approx \frac{\lambda}{D/2f}, \quad (2)$$

где A – апертурный угол микроскопа, D – диаметр диафрагмы. При этом диафрагма, расположенная симметрично, пропускает нулевой и ± 1 дифракционные максимумы.

В нашей работе применяется двумерная решётка – сетка. В таком случае главные максимумы возникают тогда, когда одновременно выполняются условия:

$$\begin{cases} d \sin \theta_x = m_x \lambda, \\ d \sin \theta_y = m_y \lambda, \end{cases} \quad (3)$$

где m_x и m_y – целые числа, характеризующие порядки дифракционных максимумов, θ_x и θ_y – направления на главные дифракционные максимумы в горизонтальное и вертикальной плоскостях соответственно.

Максимумы, удовлетворяющие условию $\theta_x, \theta_y < A$, создают в задней фокальной плоскости F объектива картину дифракции Фраунгофера – первичное изображение:

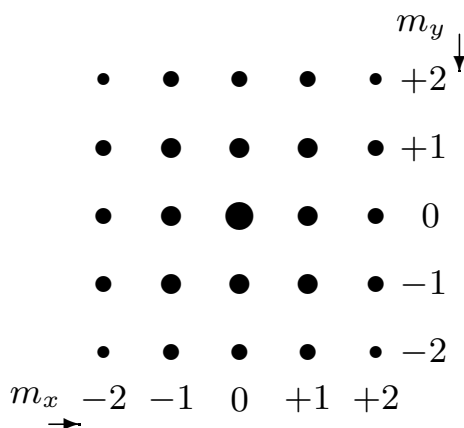


Рис. 1: Дифракция Фраунгофера на двумерной решётке (сетке). Максимумы изображены кружками, размеры которых характеризуют интенсивности.

Если теперь поместить в фокальной плоскости щель так, чтобы через неё проходили дифракционные максимумы с $m_x = 0$ и $m_y = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$ (с $m_y = 0$ и $m_x = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$), то в плоскости P_2 получится изображение решётки с горизонтальными (вертикальными) штрихами. Таким образом можно продемонстрировать явление *пространственной фильтрации* – выделение различных структур в изображении.

Экспериментальная установка

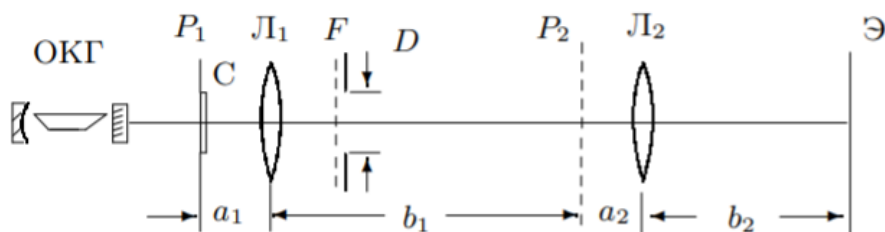


Рис. 2: Схема установки.

Схема установки приведена на Рис. 1. Предметом P_1 служат сетки в кассете C . Линза L_1 длиннофокусная, а L_2 короткофокусная. В F устанавливаются диафрагмы D , с помощью сеток с разными d и щелевой диафрагмы можно проверить соотношение (3). Период сеток может быть измерен либо по расстоянию между дифракционными максимумами на экране, либо по увеличенному с помощью микроскопа изображению сетки на экране. Пространственную фильтрацию (получение наклонного изображения решётки) можно получить с помощью подбора угла наклона и ширины вспомогательной щели.

Ход работы

1. Определение периода решёток по их пространственному спектру

Соберём установку согласно Рис 1, за исключением линз. Длина волны излучения лазера $\lambda = 532$ нм.

Расстояние от сетки до экрана $H = 141 \pm 2$ см.

Измерим линейкой на экране расстояние Δx между $n + 1$ максимумами и рассчитаем по формуле (2) с учётом $\varphi = \frac{\Delta x}{H}$ период решётки $d = \frac{n\lambda}{\Delta x} H$, на основании данных построим таблицу:

Реш.	Δx см	$\sigma_{\Delta x}$, см	n	d , мкм	σ_d , мкм
1	22.7	0.1	6	20	3
4	22.6	0.1	9	30	3
3	25.1	0.1	20	60	3
4	22.5	0.1	35	117	3
5	22.7	0.1	48	159	4

Таблица 1: Метод 1 по нахождению периодов решёток.

Погрешность d считаем по формуле:

$$\sigma_d = \sqrt{\left(\frac{\partial d}{\partial \Delta x}\right)^2 \sigma_{\Delta x}^2 + \left(\frac{\partial d}{\partial n}\right)^2 \sigma_n^2 + \left(\frac{\partial d}{\partial H}\right)^2 \sigma_H^2} = \lambda \sqrt{\frac{n^2 H^2 \sigma_{\Delta x}^2}{\Delta x^4} + \frac{\Delta x^2 \sigma_n^2 \sigma_H^2}{n^2} + \frac{H^2 \sigma_n^2}{\Delta x^2}}.$$

2. Определение периода решёток по изображению, увеличенному с помощью микроскопа

Соберём модель микроскопа, добавив линзы согласно Рис. 1. Фокусные расстояния линз $F_1 = 110$ мм, $F_2 = 25$ мм. Измеряем необходимые расстояния:

$$\begin{aligned} a_1 &= 120 \pm 10 \text{ мм}, \\ a_2 + b_1 &= 455 \pm 10 \text{ см}, \\ b_2 &= 815 \pm 10 \text{ см}, \end{aligned}$$

Из формулы тонкой линзы $a_2 = \frac{b_2 F_2}{b_2 - F_2} = 25.79$ мм, откуда $a_2 \approx F_2$, поэтому в дальнейшем будем использовать это значение, следовательно $b_1 = 420 \pm 10$ мм.

Увеличение микроскопа $\Gamma = \frac{b_1 b_2}{a_1 a_2} = 114 \pm 10$. Погрешность находится по формуле

$$\sigma_\Gamma = \sqrt{\left(\frac{\partial \Gamma}{\partial a_1}\right)^2 \sigma_{a_1}^2 + \left(\frac{\partial \Gamma}{\partial b_1}\right)^2 \sigma_{b_1}^2 + \left(\frac{\partial \Gamma}{\partial b_2}\right)^2 \sigma_{b_2}^2}.$$

Повторим измерения периодов изображений в новой конфигурации, погрешности считаются аналогично, полученные данные занесем в таблицу:

Реш.	Δx , см	$\sigma_{\Delta x}$, см	n	d , мкм	σ_d , мкм
1	3.7	0.1	16	20	2
2	15.7	0.1	49	28	3
3	25.3	0.1	38	58	5
4	24.1	0.1	18	117	12
5	23.6	0.1	13	159	19

Таблица 2: Метод 2 по нахождению периодов решёток..

Здесь d определялось по формуле $d = \frac{\Delta x}{\Gamma n}$ погрешность d :

$$\sigma_d = \sqrt{\left(\frac{\partial d}{\partial \Delta x}\right)^2 \sigma_{\Delta x}^2 + \left(\frac{\partial d}{\partial n}\right)^2 \sigma_n^2 + \left(\frac{\partial d}{\partial \Gamma}\right)^2 \sigma_{\Gamma}^2}.$$

Обратим внимание, что значения периодов решётки совпадают в пределах погрешности.

3. Определение периода решёток по оценке разрешающей способности микроскопа

Поместим в фокальной плоскости линзы L_1 целевую диафрагму с микрометрическим винтом и определим минимальную толщину D при которой на экране видна двумерная решётка. В этом случае период будет вычисляться по формуле (3) в предельном случае

$$d = \frac{2\lambda F_1}{D},$$

погрешность вычисляется по формуле

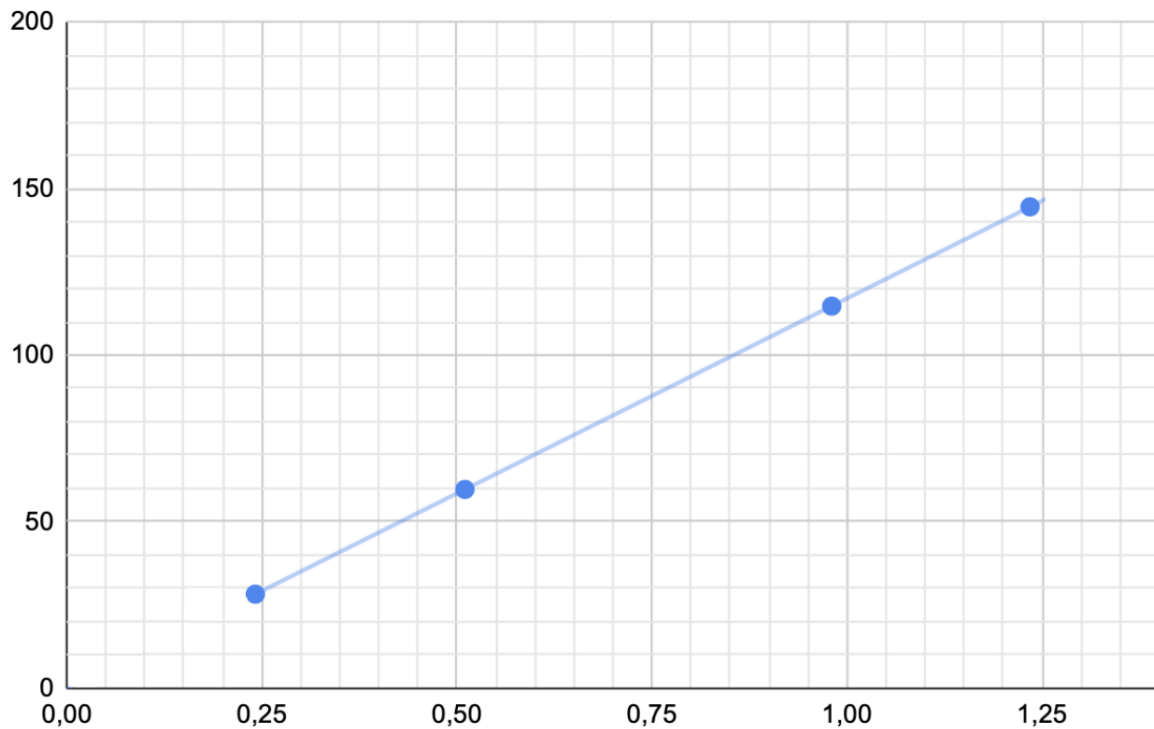
$$\sigma_d = d \frac{\sigma_D}{D}.$$

Результаты приведены в Таблице 3.

D , мм	σ_D , мм	d , мкм	σ_d , мкм
4.14	0.02	28.27	3
1.960	0.010	59.7	3
1.020	0.010	114.7	3
0.810	0.010	144.5	4

Таблица 3: Метод 3 по нахождению периодов решёток.

Через щель проходили только нулевой (по центру) и два первых максимумы, за исключением второй щели, где нулевой максимум был помещён к краю щели. Для первой

Рис. 3: Зависимость $d = f(1/D)$.

решётки период таким методом измерить не получилось, так как ширины щели не хватает.

Для проверки теории Аббе построим график $d = f(\frac{1}{D})$ со значениями d из части 1, погрешность $\frac{1}{D}$ рассчитывается по формуле

$$\sigma_{1/D} = \frac{\sigma_D}{D^2}.$$

Угловой коэффициент прямой из МНК $k = (124 \pm 8) \cdot 10^{-9} \text{ м}^2$, в пределах погрешности он совпадает с теоретическим $2\lambda F_1 = 117 \cdot 10^{-9} \text{ м}^2$. Таким образом, теория Аббе подтвердилась.

Реш.	$1/D, \text{мм}^{-1}$	$\sigma_{1/D}, \text{мм}^{-1}$	$d, \text{мкм}$	$\sigma_d, \text{мкм}$
2	0.2415	0.0012	30	3
3	0.5100	0.0030	60	3
4	0.9800	0.0100	117	3
5	1.2350	0.0150	159	4

Таблица 4: Значения для графика $d = f(1/D)$.

4. Пространственная фильтрация и мультиплицирование

Для наблюдения фильтрации на сетке 2 откроем щель так, чтобы она пропускала только максимум нулевого порядка и, поворачивая щель, наблюдаем за изменением картины.

Для наблюдения мультиплицирования поменяем места сетку и щель, пронаблюдаем мультипликацию.

Вывод

В ходе данной лабораторной работы мы определили периоды дифракционных решёток различными способами. Полученные результаты отличаются друг от друга существенно (наименьший от наибольшего в два раза), хотя имеют одинаковый порядок величины. Это может быть связано с приближенным характером используемой теории, неточностью определения величин a_2 и b_1 , неисправностью источника света, который в ходе выполнения лабораторной работы периодически выключался.

Стоит отметить, что у всех величин, полученных прямым измерением, мы пренебрегли случайной погрешностью, так как она мала по сравнению с систематической, которая явным образом повлияла на разброс результатов.

Не смотря на расхождения, нам удалось убедиться в справедливости формулы, то есть проверка теории Аббе оказалась положительной. Действительно, периоды решёток, определенные в первом и третьем способах, отличаются от их среднего значения на 20 %, что может навести на мысль о том, что во втором способе, скорее всего, имеется грубая ошибка и эксперимент требует повторного проведения.

Выход из строя источника света не позволил пронаблюдать за явлениями фильтрации и мультиплицирования.