ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.3.3

Исследование разрешающей способности микроскопа методом Аббе

выполнила студентка группы Б03-303 Мария Шишкарёва



Долгопрудный, 2025 г.

Цель: изучение дифракционного предела разрешения объектива микроскопа.

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

1 Теоретические сведения

Всякая оптическая система, предназначенная для получения изображений, имеет конечный предел разрешения, т. е. ограниченную возможность раздельного наблюдения близко расположенных предметов. Принципиальной причиной, ограничивающей предел разрешения, является дифракция световых волн. Разрешающей способностью оптического прибора называют минимальное расстояние l_{min} между двумя точками в пространстве предметов, которое прибор может разрешить. При визуальном наблюдении изображения в качестве критерия разрешения применяют так называемый критерий Рэлея.

Для иммерсионного микроскопа (объект находится в иммерсионной среде – жидкости с показателем преломления n) разрешающая способность объектива при некогерентном освещении

$$l_{min} \approx \frac{0.61\lambda}{nsinA},$$

где A — апертурный угол объектива микроскопа (см. рис. 1), т. е. угол между оптической осью и лучом, направленным из центра объекта в край линзы.

Рассмотрим теперь когерентно освещённый объект, наблюдаемый в микроскоп. Схема образования изображения в объективе микроскопа представлена на рис. 1. Для простоты рассмотрим случай, когда предметом является периодическая структура (дифракционная решётка), освещаемая параллельным пучком лучей. При наблюдении в микроскоп предмет располагается вблизи переднего фокуса объектива. При освещении решётки волнами, наклонными к оси, с углом наклона чуть меньшим апертуры А волны нулевого порядка сфокусируются на край диафрагмы. Для получения изображения достаточно, чтобы на противоположные края сфокусировались волны 1-го порядка, т. е. угол между волнами 0 и 1 порядка должен быть равен 2A. Минимальное разрешаемое объективом расстояние определяется условием

$$l_{min} \approx \frac{\lambda}{sinA} \approx \frac{\lambda}{D/2f},$$
 (1)

где D — диаметр диафрагмы. При этом диафрагма, расположенная симметрично, пропускает нулевой и ± 1 дифракционные максимумы.

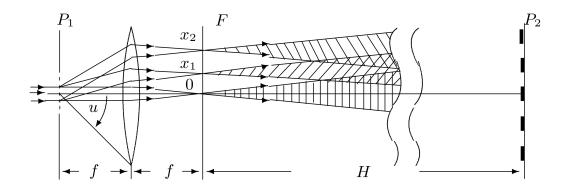


Рис. 1: Образование изображения в объективе микроскопа. P_1 — плоскость предмета, F — задняя фокальная плоскость объектива, P_2 — плоскость, сопряжённая с предметной плоскостью. В плоскости P_2 световые пучки сильно перекрываются

В нашей работе применяется двумерная решётка — сетка. Её можно рассматривать как две скрещенные (перпендикулярные друг к другу) решётки. Узкий пучок монохроматического света, пройдя через решётку с вертикальными штрихами, даёт совокупность максимумов, расположенных вдоль горизонтальной линии. Световой пучок, соответствующий каждому максимуму, проходя через вторую решётку, распадается на новую совокупность световых пучков, дающих максимумы вдоль вертикальной линии. Главные максимумы возникают тогда, когда одновременно выполняются условия:

$$dsin\theta_x = m_x \lambda, \quad dsin\theta_y = m_y \lambda \tag{2}$$

где m_x и m_y — целые числа, характеризующие порядки дифракцион- ных максимумов, θ_x и θ_y — направления на главные дифракционные максимумы в горизонтальной и вертикальной плоскостях соответственно.

2 Экспериментальная установка

Схема модели проекционного микроскопа приведена на рис. 3. Предметом служат сетки, расположенные в кассете. Смена сеток осуществляется поворотом внешнего кольца кассеты.

Излучение лазера (ОКГ) почти перпендикулярно падает на сетку С, уста-

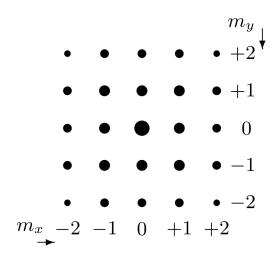


Рис. 2: Дифракция Фраунгофера на двумерной решётке (сетке). Максимумы изображены кружками, размеры которых характеризуют интенсивности

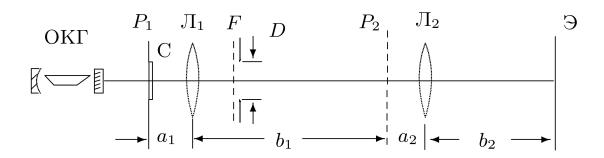


Рис. 3: Схема экспериментальной установки — модель проекционного микроскопа

новленную вблизи фокальной плоскости линзы Π_1 – объектива микроскопа. Обычно и объектив, и окуляр микроскопа – короткофокусные линзы (1–3 см). В нашей модели линза Π_1 выбирается достаточно длиннофокусной ($f \approx 10$ см), т. к. размер первичного изображения в фокальной плоскости F должен быть не слишком малым, чтобы дополнительными диафрагмами можно было влиять на вторичное изображение в плоскости P_2 . Вторичное изображение из плоскости P_2 проецируется на экран Э линзой Π_2 (короткофокусной, чтобы изображение на экране было крупнее). Во избежание микротравм глаза от излучения лазера не следует использовать эту линзу традиционным образом как окуляр микроскопа. Изображение сетки периодически повторяется – репродуцируется — в пространстве между сеткой и первой линзой, поэтому для того, чтобы среди множества репродуцированных изображений сетки можно было выделить её геометрическое изображение, на сетках изображён лисёнок, т. е. непериодический объект, изображение которого не репродуцируется. В фокальной плоскости F могут быть установлены диафрагмы — ще-

левая или ирисовая (отверстие с переменным диаметром) и различного рода маски (препятствия). Как видно из соотношения (1), минимально разрешимый шаг решётки или сетки определяется апертурным углом А объектива. Обычно апертура микроскопа меняется при помощи ирисовой диафрагмы на объективе (на линзе Π_1 такая диафрагма есть), но в наших условиях удобнее располагать щелевую диафрагму в плоскости F. Имея набор сеток с различными периодами d и изменяя апертурный угол объектива с помощью щелевой диафрагмы, можно экспериментально проверить соотношение (1).

3 Ход работы и обработка данных:

3.1 Определение периода решёток по их пространственному спектру

| | сетка № 1 | | | сетк | a № 2 | | сетка № 3 | | | |
|------------------------------|-----------------|------|------------|-------------------|-------|-----|-------------------|------|-----|--|
| L, cm | 142 : | ± 1 | | 142 ± 1 | | | 142 ± 1 | | | |
| Δm_x | 2 | | | 2 | | | 5 | | | |
| Δx , mm | 151 | 150 | 150 | 150 | 149 | 149 | 151 | 151 | 150 | |
| Δm_y | 2 | | | 2 | | | 5 | | | |
| Δy , mm | 152 152 151 | | 150 | 151 | 151 | 151 | 151 | 151 | | |
| d, mkm | 9.99 ± 0.11 | | | 10.09 ± 0.11 | | | 25.00 ± 0.25 | | | |
| | сетка №4 | | | сетка №5 | | | сетка №6 | | | |
| | сетк | a №4 | | сетк | a №5 | | сетк | a №6 | | |
| L, cm | сетка 141 : | | | сетк 144 : | | | сетк 144 : | | | |
| L, cm Δm_x | | | | | | | | | | |
| | 141 : | | 151 | 144 | | 122 | 144 | | 121 | |
| Δm_x | 141 : 5 | ± 1 | 151 | 144 : | ± 1 | 122 | 144 : | ± 1 | 121 | |
| Δm_x Δx , mm | 141 ± 5 150 | ± 1 | 151 151 | 144 : 8 122 | ± 1 | 122 | 144 : 8 122 | ± 1 | 121 | |

Период решётки рассчитан по формуле:

$$d = \Delta m_x \lambda \frac{L}{\Delta x} \tag{3}$$

Длина волны зелёного лазера $\lambda=532$ нм

3.2 Определение периода решёток по изображению, увеличенному микроскопом

Увеличение Г микроскопа считается по формуле

$$\Gamma = \frac{b_1 b_2}{a_1 a_2} = 99.35 \pm 15.57 \tag{4}$$

Такая большая погрешность, вероятно, обусловлена ошибкой в измерениях на 3й и 4й сетке (как видно в таблице ниже, периоды этих сеток в этом пункте сильно отличаются от периодов, определённых пунктом выше)

| № сетки | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
|-----------------------|------|------|------------------------------|-------|-------|-------|-----------------------------------|
| a_1, mm | 141 | 135 | 141 | 135 | 145 | 145 | $\sigma_{a_1}=1~\mathrm{mm}$ |
| a_2 , mm | 25 | | $\sigma_{a_2}=1~\mathrm{mm}$ | | | | |
| b_1+a_2,cm | 98 | 98 | 76 | 109 | 89 | 81 | $\sigma_{b_1 a_2} = 5 \text{ cm}$ |
| b_2 , mm | 345 | 350 | 555 | 235 | 420 | 530 | $\sigma_{b_2}=2~{ m cm}$ |
| Δx , mm | 8 | 8 | 16 | 14 | 24 | 22 | $\sigma=1~\mathrm{mm}$ |
| Δm_x | 10 | 10 | 5 | 10 | 5 | 5 | |
| Δy , mm | 7 | 7 | 16 | 13 | 22 | 23 | $\sigma=1~\mathrm{mm}$ |
| Δm_y | 10 | 10 | 5 | 10 | 5 | 5 | |
| d, mkm | 7.55 | 7.55 | 32.21 | 13.59 | 46.23 | 45.29 | |
| σ_d , mkm | 1.61 | 1.56 | 4.78 | 3.03 | 7.47 | 6.50 | |

d определялось по формуле $\mathrm{d} = \frac{\Delta x}{\Gamma \Delta m_x}$

3.3 Оценка разрешающей способности микроскопа

| № сетки | 4 | 5 | 6 | |
|------------------------|------|------|------|--|
| D, mm | 2.21 | 1.30 | 1.70 | |
| $\sigma_D, \text{ mm}$ | 0.05 | 0.05 | 0.05 | |
| d, mkm | 26 | 45 | 34 | |
| σ_d , mkm | 0.13 | 0.27 | 0.19 | |

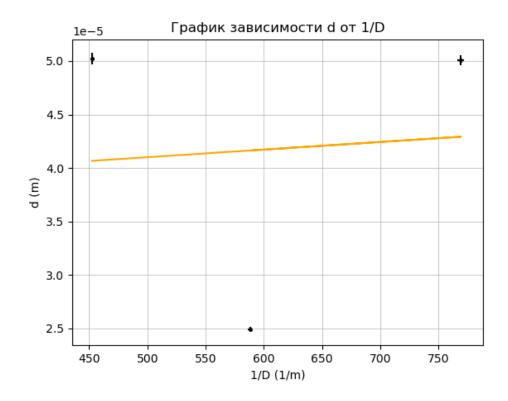


Рис. 4: График $d = d(\frac{1}{D})$

Коэффициент наклона $\mathbf{k}=(71.1\pm19)*10^{-9}~m^2$ в пределах погрешности почти совпадает с теоритическим $2\lambda~F_1=(117\pm5)*10^{-9}~m^2$. Однако, судить, подтверждается ли теория Аббе сложно - не достаточно данных.

3.4 Пространственная фильтрация и мультиплицирование

При щели, расположенной вертикально, полосы на экране располагаются горизонтально (и наоборот)

Если повернуть щель на $+45 \circ$, то полосы повернуться на - $45 \circ$ (и наоборот)

| положение щели | вертикально | | | горизонтально | | | +45 0 | | | - 45 0 | | |
|-----------------|--------------------|--|------|---------------|------|------|--------|------|------|--------|------|--|
| положение полос | горизонтально | | | вертикально | | | - 45 0 | | | +45 0 | | |
| d, mm | 4.13 4.08 4.07 | | 4.18 | 4.07 | 4.06 | 2.94 | 3.00 | 3.14 | 3.00 | 3.2 | 3.00 | |
| <d>, mm</d> | 4.09 | | | 4.10 | | | 3.03 | | | 3.01 | | |
| σ_d , mm | 0.5 | | | | 0.5 | | | 0.5 | | | 0.5 | |

Согласно теории, период наклонных полосок должен быть в $\sqrt{2}$ меньше, чем горизонтальных или вертикальных

$$4.1 \pm 0.5 \approx 4.1 \pm 0.5$$

 $3.0 \pm 0.5 \approx 3.0 \pm 0.5$
 $3.03 * \sqrt{2} \pm 0.5 = 4.3 \pm 0.7 \approx 4.1 \pm 0.5$

Таким образом, теория совпадает с практикой.

Пронаблюдаем эффект мультиплицирования, поменяв щель и сетку местами. Меняя сетки мы видим, что при изменении на сетку, с меньшим периодом, период между полосками на экране увеличивается, и, соответственно, наоборот, при увеличении периода, период изображения увеличивается.

При увеличении щели мы видим ухудшение картинки, при уменьшении наоборот.

4 Выводы:

По измерениям спектров рассчитали периоды решёток, полученные данные частично сошлись в пределах погрешностей с результатами, полученными по измерениям увеличенных с помощью микроскопа изображений сеток. Построив график зависимости $\mathrm{d}=\frac{1}{D}$ убедились в справедливости метода Аббе. Опытным путём убедились в теории мультипликации и пространственной фильтрации. Большие погрешности и частичные не совпадания значений связаны с неточными измерениями.