

Общие сведения о биологических микроскопах
Различные типы биологических микроскопов



Студенческий микроскоп



Студенческий микроскоп



Лабораторный микроскоп



Лабораторный микроскоп



Флуоресцентный микроскоп



Поляризационный микроскоп



Инвертированный микроскоп



Стереомикроскоп

Компоненты микроскопа (часть 1)

В отличие от лупы, микроскоп как правило имеет несколько ступеней увеличения. Функциональные и конструктивно-технологические части микроскопа предназначены для обеспечения работы микроскопа и получения устойчивого, максимально точного, увеличенного изображения объекта. Микроскоп включает в себя три основные функциональные части.



Основные компоненты биологического микроскопа

1. Окуляр
2. Диоптрийная настройка
3. Револьвер
4. Объективы
5. Предметный столик
6. Осветитель
7. Полевая диафрагма
8. Основание микроскопа
9. Бинокулярная насадка
10. Штатив микроскопа
11. Механизм грубой фокусировки
12. Механизм точной фокусировки
13. Рукоятки перемещения предметного столика
14. Регулятор яркости
15. Конденсор
16. Винты конденсора
17. Рукоятка открытия апертурной диафрагмы
18. Держатель светофильтров



Осветительная часть предназначена для создания светового потока, который позволяет осветить объект таким образом, чтобы последующие части микроскопа предельно точно выполняли свои функции.

Осветительная часть включает источник света (лампа и электрический блок питания), и оптико-механическую систему (коллектор, конденсор, полевая и апертурная регулируемые ирисовые диафрагмы).

Воспроизводящая часть предназначена для воспроизведения объекта в плоскости изображения с требуемым для исследования качеством изображения и увеличения (т.е. для построения такого изображения, которое как можно точнее и во всех деталях воспроизводило бы объект с соответствующим для данной оптики микроскопа разрешением, увеличением, контрастом и цветопередачей).

Воспроизводящая часть включает объектив и промежуточную оптическую систему.

Визуализирующая часть предназначена для получения реального изображения объекта на сетчатке глаза, фотопленке или пластинке, на экране телевизионного или компьютерного монитора.

Визуализирующая часть включает монокулярную, бинокулярную или тринокулярную визуальную насадку с наблюдательной системой — окулярами, которые работают как лупа.

Объективы

Рассмотрим наиболее важные характеристики объектива, которые определяют: 1) кривизну, или плоскостность поля зрения (часть поля зрения, находящуюся в фокусе); 2) увеличение и разрешающую способность и 3) цвето-коррекцию.

Основные параметры объективов устанавливаются общепризнанным стандартом DIN (Deutsche Industrial Normen). Согласно этому стандарту устанавливается длина тубуса, равная 160 мм, высота объектива 45 мм (расстояние от плоскости предмета до опорного торца объектива), стандартные диаметры окуляров, резьба объективов, кодировка объективов в виде цветной полоски вокруг объектива (красной для увеличения 4X, желтой — 10X, белой — 100X и т.д.).

Тубус — это расстояние от верхней линзы окуляра до плоскости зрачка объектива (примерно совпадающей с последней линзой объектива).

Некоторые фирмы выпускают объективы на тубус «бесконечность», что означает, что изображение, даваемое объективом, образуется в бесконечности, а окуляр приводит это изображение в определенную плоскость.

Объективы на тубус 160 мм (или 170 мм) включают в себя стандартные ахроматические объективы, при использовании которых в фокусе оказывается около 2/3 поля зрения; Полуахромат объективы — 80 % поля зрения в фокусе и Ахромат объективы — 100% поля зрения в фокусе.



Биологический микроскоп с 4 полуплан ахромат объективами: 4x/0,10, 10x/0,25, 40x/0,65, 100x/1,25

Следует внимательно изучать документацию производителя: некоторые используют термин “flat field” для обозначения полуплоского, а “plan” — полностью плоского поля. Другие используют для этого же соответственно термины “achromatic” и “plan”. У одних производителей “microplan” обозначает полуплоское поле, у других — совершенно плоское. Поэтому внимательно читайте литературу.

Объектив одного стандартного DIN микроскопа можно установить на другой DIN микроскоп, при этом сохраняется парфокальность и центрировка (объяснение этих терминов приведено далее). Справедливо то, что объективы, рассчитанные на определенную длину тубуса, можно устанавливать на разные микроскопы «старого образца», правда при этом, как минимум, теряется парфокальность.

Цветокоррекция: По цветокоррекции (исправлению хроматической аберрации положения) объективы разделяются на ахроматические, полуапохроматические (флюоритовые) и апохроматические.

У ахроматических объективов исправлен хроматизм положения для двух длин волн — красных и синих лучей, т.е. фокус для этих лучей сводится в одну точку. Зеленые лучи имеют более короткий фокус. По этой причине контуры в изображении объекта имеют цветную кайму.

Самые часто используемые красители — гематоксилин и эозин (Н&Е), которые имеют соответственно красный и синий цвет. Не правда ли замечательно, что для окрашивания большинства ваших препаратов применяется Н&Е, а большинство ваших объективов — ахроматы?

Флюоритовые объективы используют флюоритовое стекло, которое сводит все области спектра ближе к одному фокусу. По исправлению хроматической аберрации положения эти объективы занимают промежуточное положение между ахроматами и апохроматами.

Апохроматические объективы полностью выравнивают фокус трех основных цветов и сводят все остальные области спектра практически к одинаковому фокусу.

Чем выше качество объектива, тем выше его цена, достигаемое увеличение и необходимость критической фокусировки из-за снижения глубины резкости.

Увеличение и разрешающая способность: С ахроматическими объективами можно работать с увеличением микроскопа до 1000х N.A. (N.A. или A — численная апертура объектива). Дальнейшее повышение увеличения не выявляет новые подробности в объекте и может привести только к ухудшению качества изображения. С флюоритовыми объективами можно работать без существенного ухудшения качества изображения до увеличения 1500A; с апохроматами — до 2000A.

Таким образом, при работе с апохроматом 100X можно добиться увеличения 2000X, получив ту же разрешающую способность, что и при работе с ахроматом 100X при увеличении 1000X. Вопрос к исследователю – стоит ли игра свеч?

Пример: Ахроматический иммерсионный объектив 100X с $A=1,25$ можно использовать для получения увеличения до 1250X; флюоритовый объектив — до 1875X и апохроматический — до 2500X.

Снижение глубины резкости означает, что неопытный пользователь может пройти фокальную плоскость препарата, не заметив ее. Апохроматические объективы настолько же сложны в применении, насколько высока их стоимость.

Общеизвестно, что чем лучше микроскоп, тем сложнее работать с ним. Для этого необходима более высокая квалификация пользователя.

Численная апертура (N.A.) объектива. (Чаще в литературе численная апертура называется просто апертурой и обозначается буквой A).

Численная апертура объектива определяет разрешающую способность микроскопа, т.е. способность давать раздельное изображение двух соседних элементов препарата.

Для каждого препарата существует увеличение, при котором его видно лучше всего, и это, как правило, не самое высокое увеличение микроскопа. Однако при максимальном увеличении все три класса упомянутых выше объективов должны давать одинаковое разрешение. Чем меньше детали, которые вам нужно исследовать, тем лучше должен быть объектив, т.е. он должен обладать наивысшей разрешающей способностью.

Давайте представим себе самый мелкий объект, который можно исследовать (то есть увидеть его полностью и с хорошим разрешением). Сделаем не совсем верное, но полезное предположение, что длина волны света — 0,2 микрон. Один дюйм равен 25,4 мм, в каждом миллиметре 1000 микрон, так что мы говорим о 0,2 тысячной доли миллиметра; или 1/5 от 25400-ой доли дюйма. Поскольку длина волны света должна быть меньше, чем рассматриваемый объект (свет должен проходить от центра через все края), то можно считать, что самая мелкая деталь, которую можно исследовать под оптическим микроскопом, имеет размер 0,25 микрон. При этом микроскоп должен быть чистым, правильно настроенным и находиться в отличном рабочем состоянии.

Существует устройство, используемое для измерения при помощи микроскопа, точность которого, как утверждается, равна 1/8 микрона (0,125 микрон). (Мы обсудим его в разделе, посвященном измерению).

Защита фронтальной линзы объектива: Обычно объективы (чаще всего 100X, реже 40X и 20X) выполняются в пружинящей оправе, предохраняющей повреждение фронтальной линзы объектива при давлении на предметное стекло. При неисправности этой оправы объектив может оказаться меньше своей оптимальной высоты и не достичь положения фокусировки. Точно также иммерсионное масло типа Б может препятствовать установке объектива на достаточно близкое расстояние до препарата до момента срабатывания пружинящей оправы.

Блокировка фокусировки: Чтобы предотвратить повреждение объектива, в некоторых микроскопах предусмотрено устройство блокировки, ограничивающее движение предметного столика вверх. Здесь проблема в том, что если при настройке использовалось толстое предметное стекло, то может оказаться, что потом настроить фокусировку при работе с тонким стеклом невозможно.

Одна фирма изготавливает микроскопы, которые обеспечивают фокусировку препарата перемещением по вертикали объективов вместо перемещения предметного столика; в этом случае объектив имеет ограничитель перемещения.

Длина тубуса: Большинство производителей изготавливают все объективы с расчетом на одну длину тубуса и для биологических микроскопов проходящего света, и для металлографических микроскопов падающего света.

Однако некоторые фирмы выпускают объективы для тубусов длиной 160 мм, другие — объективы «на бесконечность» для специальных моделей. На одном и том же микроскопе их использовать невозможно. Одна фирма изготавливает объективы на тубус 160 мм для микроскопов проходящего света и на тубус 215 мм — для микроскопов отраженного света.

Окуляры

Первая характеристика окуляров — увеличение, указанное сверху или сбоку окуляра: 10x, 15x и т. п. Вторая характеристика — вынос выходного зрачка, то есть расстояние от последней поверхности окуляра до плоскости изображения, которое появляется в микроскопе. Это расстояние обычно составляет величину от 15 до 24 мм. Последнее расстояние необходимо для исследователей, которые вследствие астигматизма постоянно носят очки. Для остальных наблюдателей это расстояние колеблется от 15 до 18 мм.

Окуляры обладают увеличением, которое составляет часть общего увеличения микроскопа. Последнее же равно произведению увеличений окуляра и объектива. Таким образом, общее увеличение микроскопа при использовании 10-кратного объектива и 10-кратного окуляра равно $10 \times 10 = 100x$.

Биокулярная насадка или другое оптическое устройство, введенное в оптический ход микроскопа, могут вносить дополнительное увеличение. Так, при использовании биокулярной насадки с собственным увеличением 1,5x общее увеличение микроскопа в указанном выше примере будет равно $10 \times 10 \times 1,5 = 150x$.

Обычно в окулярах имеется посадочное место для установки в них сеток для измерений или других целей. Это приводит к уменьшению внутреннего диаметра окуляра и к соответствующему уменьшению поля зрения. Заметим, что именно окуляр (а не объектив) определяет размер поля зрения микроскопа. Более подробно это будет рассмотрено при описании объективов. Есть много разных окуляров, предназначенных для различных целей.

Окуляры Гюйгенса

В настоящее время используются редко, в основном на недорогих микроскопах с дешевыми объективами. Окуляр состоит из двух одиночных линз; вторая по ходу лучей — глазная линза — имеет небольшой диаметр и маленькую заднюю апертуру для ограничения поля зрения. Эти окуляры не обеспечивают цветокоррекцию, то есть компенсацию хроматических aberrаций (см. раздел, посвященный поляризационным микроскопам).

Широкопольные окуляры

Получили сегодня широкое распространение. Окуляры отличаются большим диаметром первой линзы, удобны в работе; выпускаются с различными расстояниями от оправы окуляра до плоскости, в которой образуется изображение. Наружный диаметр тубуса, куда вставляется такой окуляр, составляет 25 мм (около 1 дюйма). Внутренний диаметр тубуса равен обычно 23,5 мм; наружный диаметр окуляра — 23 мм; внутренний диаметр окуляра — 21,5 мм. В окуляр на специальный круглый выступ с внутренним диаметром 18 мм часто помещается сетка диаметром 20 мм. Таким образом, рабочая модель биологического микроскопа с 10x широкопольным окуляром обеспечивает поле зрения 18 мм, более совершенный микроскоп — 20 мм. Исследовательские микроскопы могут иметь поле зрения 20 или 25 мм, очень немногие микроскопы — 30 мм.

Обычно интересующие исследователя структуры препарата перемещают в центр поля зрения при помощи предметного столика. Разумеется, бывают иные ситуации. Например, невропатолог предпочтет целиком рассматривать всю структуру нервной клетки Пуркинье и её ветвей или любую другую клетку. Но для этого он воспользуется объективом с низким увеличением, чтобы увеличить площадь препарата, находящуюся в поле зрения.



Широкопольные окуляры 10x/18 мм

Компенсационные окуляры

Востребованы не так часто. Раньше сложные объективы с высокими значениями числовой апертуры (см. дальше) давали различное увеличение для разных цветов — большее для фиолетового и синего и меньшее для красного. Из-за этого ближний конец поля изнутри светился синим, а дальний — красным. Для устранения такого эффекта устанавливали компенсационные окуляры, обеспечивающие противоположный эффект. Чтобы не возникало проблемы при работе с объективами низкого увеличения, их производят сразу со встроенной ошибкой, поэтому при использовании компенсационных окуляров цвета соответствовали действительности. Сложно, не так ли?

Окуляры Кельнера

Окуляры с фокусированной верхней линзой. Предназначены для измерений при большом увеличении, позволяют настроить резкое изображение шкалы или сетки для всех пользователей. Однако для этого прекрасно подходят и обычные окуляры.

Компоненты микроскопа (часть 2)

Биноклярные/тринокулярные насадки

Тринокулярными насадками часто называют биноклярные насадки с фото/видео выходом.

Тринокулярные насадки могут отличаться лишь способом направления света в бинокляр и вертикальный тубус для микрофотографирования или проекции, а также вариантом направления света в различные каналы (полное или частичное).



Тринокулярная головка микроскопа



Биноклярная головка микроскопа

Возможные комбинации: 100 % света для просмотра препарата; 20 % света для просмотра препарата и 80 % для микрофотографии; 100 % света для микрофотографии и другие.

Существует большое количество различных бинокулярных насадок. В них должна быть предусмотрена возможность регулировки межзрачкового расстояния (расстояния между окулярами насадки, МР), так как разные наблюдатели имеют различную глазную базу (расстояние между зрачками глаз).

Возникает вопрос: приводит ли регулировка МР к изменению длины тубуса микроскопа и, соответственно, к изменению увеличения?

Если окулярные тубусы расходятся из общего центра, то это бинокуляр типа Seidentopf, у которого длина тубуса и увеличение не меняются при настройке МР. Если окуляры раздвигаются и при этом длина тубуса автоматически уменьшается или увеличивается, то это также насадка с постоянным увеличением.

Если окулярные тубусы раздвигаются без изменения длины, но на них имеется шкала, которая ставится в соответствии с МР, то перед нами вновь насадка с постоянным увеличением. Тогда при уменьшении МР длину тубуса необходимо увеличить и наоборот.

Если окуляры раздвигаются, но нет подстройки длины тубусов, то увеличение меняется при каждой настройке МР. Это не позволяет разным людям проводить измерения с помощью одного микроскопа. Однако калибровка становится проще — можно увеличить или уменьшить расстояние между окулярными трубками в соответствии с делениями объект-микрометра.

Главное, вы должны знать, что есть разные бинокуляры, уметь различать их и использовать правильно.

Если на насадке нет маркировки, то по умолчанию принято, что ее увеличение равно 1,0x. Если насадка влияет на увеличение, то сбоку должна находиться маркировка. Так, на одной из известных автору тринокулярных насадок указано: Photo 1,0x, Viewing 1,6x, то есть для фотографии увеличение насадки равно 1,0, для визуального наблюдения — 1,6.

При использовании параллельных тубусов вы как бы смотрите в бесконечность на горизонт, поэтому глаза напрягаются меньше. При работе со сходящимися тубусами вы смотрите на точку на расстоянии 15 дюймов. И хотя большинство людей способны работать с любым видом бинокуляра, значительное количество пользователей (20 %) после работы со сходящимися тубусами не могут приспособиться к параллельным тубусам.

Предметный столик.

Предметный столик микроскопа представляет собой механическое устройство для закрепления на нем предметных стекол размером 1" x 3" или 2" x 3", снабженное рукоятками (с накаткой) для перемещения их вперед – назад (север – юг) и справа – налево (восток – запад). Эти рукоятки могут располагаться на одной оси (коаксиально) или раздельно; они могут находиться справа или слева — здесь нет единого стандарта для всех производителей. Поэтому для выбора подходящего столика нужно обратиться к поставщику. При выборе микроскопа, пользователи руководствуются индивидуальными предпочтениями или тем, какая рука у них ведущая.



Механический двухкоординатный столик с градуировкой

Однако поскольку микроскоп — прибор, предназначенный для работы двумя руками, и бинокуляр, как правило, поворачивается на 360°, то можно повернуть бинокулярную насадку, чтобы перемещать столик другой рукой. Очевидно, что при выборе участка препарата предметный столик должен перемещаться строго под углом 90° к оптической оси микроскопа. Тогда при перемещении препарата последний будет оставаться в фокусе. У большинства микроскопов фокусировка осуществляется при перемещении столика вверх или вниз. Сторонники фокусировки с помощью столика утверждают, что перемещение столика более стабильно; кроме того, фиксированный столик позволяет использовать микроманипуляторы и другие устройства, работающие только с неподвижным столиком.

У всех инвертированных микроскопов столики фиксированы, а фокусировка проводится с помощью объективов.

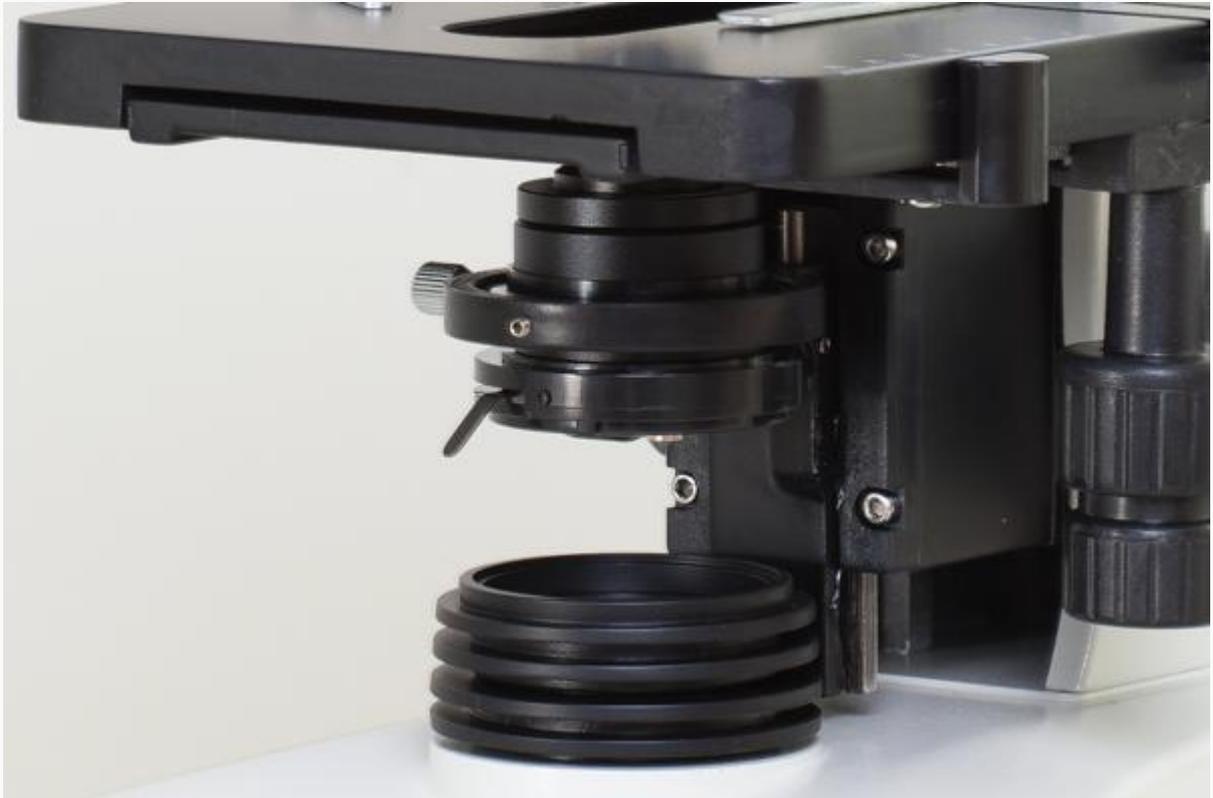
Разнообразие предметных столиков трудно представить:

- для инвертированных микроскопов для изучения тканевых культур при установке чашек Петри и флаконов
- для микроскопов отражённого света при исследовании чипов интегральных схем размером до 4" x 4" или 6" x 6"
- для микроскопов отражённого света, у которых верхняя поверхность столика перемещается во всех направлениях
- столики с увеличенными размерами рукояток перемещения и с головками микрометра для измерений и т. д.

Конденсор

Это единственный компонент микроскопа, кроме объектива, имеющий числовую апертуру.

Большинство конденсоров перемещаются при помощи реечного механизма фокусировки.



Конденсор Аббе, регулируемый по высоте с ирисовой диафрагмой $NA\ 1,25$, с держателем фильтров

!Изначально препарат определяет точное положение конденсора; для большинства препаратов подходит положение конденсора, при котором тот находится на 0,5 мм ниже предметного стекла. Поэкспериментируйте с положением конденсора (при этом препарат должен быть в фокусе объектива 10x), чтобы увидеть, как меняется интенсивность освещения при минимальном перемещении конденсора по высоте.

Конденсор предназначен для фокусировки света в точку или небольшой круг на препарате. Но, если круг будет достаточно широким для того, чтобы осветить поле зрения объектива 2,5x, то это не позволит нормально работать с объективом 100x (освещенность изображения будет мала).

Большинство недорогих конденсоров представляют собой компромиссный вариант, поскольку не совсем безупречно подходят для работы как при высоком, так и при самом низком увеличении. Но они удовлетворяют основным требованиям.

Для решения этой проблемы в оптический ход лучей вводится линза, либо над конденсором, либо под ним. Если вспомогательная линза находится сверху, то она предназначена для работы с объективами высокого увеличения, 100x.

Если линза размещена под конденсором, то её используют при работе с объективами низкого увеличения — 10x и ниже. Обычно при использовании объектива 10x не видно разницы при установленной вспомогательной линзе или без нее.

Ирисовая диафрагма под конденсором обеспечивает контраст и называется ***апертурной диафрагмой.***

К конденсору прикреплен держатель светофильтра, который вводится в оптический ход лучей. В держатель можно установить цветной или белый, прозрачный или матовый светофильтр. Матовые светофильтры можно использовать вместо вспомогательной линзы под конденсором, чтобы осветить всё поле зрения объектива с низким увеличением.

При использовании объективов 2,5x или 4x с не полностью освещенным полем зрения будет ярко виден участок препарата и темная или слабо освещенная область вокруг с едва заметными деталями.

Простой конденсор часто называют конденсором Аббе. К другим видам конденсоров относятся ахроматический и апланатический конденсоры; все они могут быть использованы со вспомогательными линзами; у всех есть апертурные диафрагмы и, как правило, держатели светофильтров.

Чем сложнее конденсор, тем выше его цена, тем он полезнее и тем труднее с ним работать. Конденсор Аббе с двумя линзами гораздо проще в применении, чем ахроматический конденсор с тремя линзами (с превосходной коррекцией цвета) или апланатический с четырьмя.

Вернемся теперь к числовой апертуре, закону Аббе и правилу полезного увеличения.

Закон Аббе утверждает, что численная апертура конденсора должна быть не менее числовой апертуры объектива с самым высоким увеличением. Если объектив 40 x 0,65 имеет самое высокое увеличение из используемых объективов, то апертура конденсора должна равняться 0,65. Однако если в микроскоп установлен иммерсионный объектив 100x с $A = 1,25$, то апертура конденсора должна равняться также 1,25.

Теперь рассмотрим правило ахроматов, или правило полезного увеличения. Ранее утверждалось, что для достижения верхней границы полезного увеличения микроскопа увеличение ахроматического объектива может превышать его апертуру в тысячу раз.

Итак, возьмем микроскоп с конденсором с $A = 0,65$ и сухим объективом 40 x 0,65. Верхний предел полезного увеличения будет равен 650x. При использовании окуляра 10x получим общее увеличение микроскопа 400x, при использовании окуляра 15x — 600x, все ещё в пределах полезного увеличения. Предположим, мы установим окуляры 20x и получим увеличение 800x. Что произойдет? Увидим ли мы изображение с хорошим разрешением? Ответ: да! Теперь усложним эксперимент. Установим объектив 100x с $A = 1,25$ на микроскоп с конденсором с $A=0,65$. Объектив необходимо использовать с иммерсионным маслом. Увидим ли мы изображение? Ответ: да!

Причина такого эффекта требует сложных объяснений, но для его получения необходимы абсолютно чистые конденсор и объектив, правильная центровка конденсора и оптимальное освещение.

Замечание: большинство недорогих микроскопов не обеспечивают достаточно света и только немногие имеют возможность центровки конденсора.

Компоненты микроскопа (часть 3)

Светофильтры

Светофильтры изготавливаются в основном из матового, нейтрального и различных цветных стекол. Они вводятся в оптический ход лучей только в случае необходимости, так как при их введении уменьшается освещенность препарата.

Светофильтр обычно устанавливается в выдвижной держатель под конденсором, или иногда после коллекторной линзы осветителя.

В микроскопии применяются стеклянные цветные, нейтральные и матовые светофильтры (диффузоры). Синие светофильтры используются с вольфрамовыми лампами для получения эффекта дневного света, который приятнее для глаз, чем нескорректированный желтый свет. Галогеновые лампы дают свет, который ближе к белому, поэтому с ними можно использовать более тонкие синие светофильтры. Для фазового контраста предназначен зеленый светофильтр, однако, согласно недавним исследованиям, могут быть полезны и светофильтры других цветов.

!Помните, светофильтры следует использовать, когда от них есть польза, и не нужно устанавливать, когда ее нет. Любой дополнительный элемент в оптическом ходе лучей поглощает свет, а недостаток освещения всегда создает проблемы при работе с микроскопом.

Осветители

Находятся, как правило, в основании микроскопа и имеют коллекторную линзу, которая направляет свет на конденсор. Если в осветителе имеется ирисовая диафрагма, то она служит для настройки размера освещенного поля и называется полевой диафрагмой. Лампа имеет низкое напряжение (менее 6 или 12 В, или напряжение в сети от настенной розетки), снабжена трансформатором с возможностью регулировки яркости; лампа 6 или 12 В имеет регулятор яркости или резистор для ограничения освещенности препарата. Распространенная ошибка в конструкции недорогих микроскопов — отсутствие регулятора яркости лампы 6 или 12 В и настройка интенсивности освещения при помощи ирисовой диафрагмы конденсора. **Это неправильно!** Ирисовая диафрагма регулирует лишь контраст изображения (существенное закрытие этой диафрагмы приводит, кроме того, к ухудшению разрешающей способности микроскопа). Таким образом, оптимальным вариантом изменения освещенности изображения является регулировка яркости источника света.

В лампах 115В обычно находится нить накала, которая проходит через всю лампу. Иногда нить имеет форму «V», что более эффективно для работы с микроскопом. Но при использовании любой из них необходим матовый светофильтр, чтобы свет, проходящий через конденсор, ровно освещал все поле зрения.

Лампы низкого напряжения, 6 В или 12 В, требуют трансформатор для снижения напряжения в сети и для регулировки напряжения с целью изменения интенсивности освещения.

Светящееся тело лампы накаливания представляет собой тонкую ленту или плотно навитую спираль из тонкой проволоки. В большинстве случаев эти лампы дают неравномерное освещение и часто требуют применения матового стекла. Это стекло может быть выведено из хода лучей при использовании объективов 40X и сильнее, что позволяет посылать в конденсор больше света. Иногда при применении 40-кратного объектива в поле зрения микроскопа наряду с изображением препарата видны нити накала лампы, поэтому в данном случае также целесообразно применять матовое стекло.

В лампах накаливания светящимся телом обычно является вольфрамовая нить, находящаяся в вакууме в стеклянной колбе. При работе в результате нагревания нить выделяет пары металла (вольфрама), которые осаждаются на внутренних стенках колбы, приводя к уменьшению светового потока.

Большинство ламп низкого напряжения – галогеновые лампы, которые имеют такую же вольфрамовую нить, выделяющую пары металла, которые взаимодействуют с парами йода и оседают на нити. Благодаря этому внутренняя поверхность лампы остается чистой, а яркость — постоянной на всем протяжении срока эксплуатации лампы. Однако взаимодействие паров увеличивает давление внутри лампы, поэтому лампа изготовлена из кварцевого стекла.

Отпечатки пальцев могут повредить кварцевое стекло, поэтому при замене лампы ее необходимо очистить перед включением и нагревом. Отпечатки пальцев оставляют следы на кварцевом стекле и снижают количество света, который проходит через конденсор.

Как узнать, достаточно ли освещения для работы с микроскопом? Включите весь свет. Если после этого вам придется уменьшить яркость, то его достаточно!

Всем лампам низкого напряжения необходим нагрев в течение двух- трех минут. Обычно если вы включаете осветитель при самом низком напряжении, свет виден. Затем выберите или подготовьте препарат, поместите его на столик и настройте фокусировку для объектива 10X – за это время лампа достаточно нагреется, чтобы можно было повысить напряжение до необходимого значения.

Не поднимайте напряжение выше необходимого — это продлит срок службы лампы, что верно для любых типов ламп.

Хорошее правило для продления срока эксплуатации осветителя микроскопа: если вы отходите от микроскопа на достаточное время, чтобы лампа могла остыть, выключите осветитель. Если времени для полного охлаждения лампы не хватит, снизьте напряжение до минимального, но не выключайте ее.

Во время включения лампы в первый момент ток может в три раза превысить рабочий ток. 20 Вт лампа может получить нагрузку 60 Вт, а затем снова 20 Вт. Вы не можете не включать осветитель, однако избегайте включения и выключения его без необходимости.

Рассказывая об освещении, нельзя не упомянуть об освещении в отраженном или падающем свете. Это освещение осуществляется от блока, помещенного между штативом микроскопа и бинокулярной насадкой и имеющего свой осветитель с низковольтной лампой и трансформатором, две ирисовые диафрагмы – полевую и апертурную, держатели светофильтров, дихроичное (светоделительное) зеркало. Свет горизонтально падает на дихроичное (обычно полупрозрачное) зеркало, которое отражает его вниз через объектив (служащий одновременно и конденсором) на препарат, отражается от него и идет обратно вверх через объектив и зеркало на призмы, направляющие свет в бинокулярную насадку и окуляры.

Настройка освещения по Келеру

Настройка освещения по Келеру — простая процедура настройки микроскопа и его компонентов для получения наилучшего возможного сочетания контраста и разрешения. У специалиста, знакомого с этой процедурой, длительность настройки занимает не более 2–3 минут. Ее следует проводить каждый день.

Наличие освещения по Келеру является первым признаком профессионального микроскопа.

Для настройки освещения по Келеру необходимо:

Включить осветитель микроскопа (помните, что и на момент выключения, и на момент включения ручка регулировки лампы должна быть установлена в «нулевое» положение).

Настроить бинокулярную голову под пользователя необходимо, сдвигая и раздвигая окулярные трубки до полного совмещения изображения, при необходимости выставить диоптрийную разницу на окулярах.

Установить объектив 10x (с желтым кольцом) и сфокусироваться микровинтом на препарате, удалить препарат со столика.

Закрывать полевую диафрагму на коллекторе.

Поднять конденсор до верхнего положения винтом регулировки конденсора. Затем плавно опускать конденсор до уровня, при котором края полевой диафрагмы, наблюдаемые в окулярах, оказались в фокусе.

Центрирующими винтами, находящимися на конденсоре перемещаем изображение полевой диафрагмы в центр поля зрения.

Открываем полевую диафрагму до границ поля зрения.

Рассмотрим каждый пункт подробнее.

Предположим, что осветитель включен, прогрет и бинокулярная насадка настроена, т.е. расстояние между окулярами выставлено.

Поместите препарат на предметный столик и настройте фокусировку при использовании объектива 10X. Апертурная и полевая диафрагма должны быть широко открыты, светофильтр и дополнительная линза выдвинуты из оптического пути, конденсор поднят вверх до упора и затем опущен на расстояние примерно 0,5 мм.

Прикройте полевую диафрагму так, чтоб ее было видно в поле зрения и настройте фокусировку конденсора так, чтобы в фокусе был внутренний край ирисовой диафрагмы в плоскости препарата. Когда она будет в фокусе поставьте ее изображение в центр поля зрения и откройте ее так, чтобы наружный диаметр находился несколько за пределами поля зрения. Вытащите один окуляр и глядя в пустой тубус, прикройте апертурную диафрагму, чтобы было открыто 2/3 в центре наблюдаемого при этом поля. Верните на место окуляр.

Настройка освещения по Келеру завершена.



Поле зрения перед выравнением конденсора

Поле зрения после выравнивания конденсора

Частично открытая полевая диафрагма

Полностью открытая полевая диафрагма

Вы начали с объектива 10X. Препарат должен оставаться в фокусе при любом методе настройки и при любых регулировках.

Теперь обратимся к осветителю. Нить лампы должна находиться на расстоянии минимум 7'' (предпочтительно 10'') от апертурной диафрагмы. Осветитель располагается позади микроскопа. В средней позиции находится полевая диафрагма, затем зеркало для отражения света под углом 90° на конденсор. Если нить находится на оптимальном расстоянии, то она будет в фокусе в плоскости апертурной диафрагмы; в противном случае ее необходимо сфокусировать в этой плоскости путем передвижения по горизонтали коллекторной линзы осветителя. Закрыв полевую диафрагму, можно посмотреть, центрирована лампа или нет (если нет, ее нужно центрировать).

Следует проверить настройку конденсора для данного препарата, т.е. фокусирует ли конденсор полевую диафрагму в поле зрения. Для этого при закрытой полевой диафрагме перемещением конденсора по вертикали подкорректируйте фокусировку

полевой диафрагмы в плоскости препарата, затем она раскрывается до краев поля зрения. Следовательно, при применении разных объективов ее раскрытие будет различным. Таким образом, название «полевая диафрагма» отражает ее назначение.

Поясним фразу «настройка конденсора для данного препарата». Конденсор устанавливается в положении на 0,5 мм ниже столика по двум причинам:

- если мы не сможем пройти фокальную точку, как мы узнаем, что мы ее нашли?
- показатель преломления воздуха равен 1.0.

Если мы оставим промежуток воздуха между поверхностью конденсора и нижней поверхностью предметного стекла, то вся система освещения будет работать с $A=1.0$. Однако апертура конденсора должна быть равна 1.25, как и A иммерсионного объектива 100X. Как сделать так, чтобы система работала с $A=1.25$, а не с $A=1.0$?

Ответ: поместите на конденсор каплю иммерсионного масла и подведите его к нижней части предметного стекла. Тогда у вас будет достаточно места для капли масла и конденсор будет установлен в правильном положении. Вы когда-нибудь наносили масло между конденсором и предметным стеклом? Скорее всего, нет. Почему? Потому что у вас не было в этом необходимости. Вы и без того видели всё, что нужно. Значит ли это, что иммерсионный объектив 100X с $A=1.0$ или даже $A=0.95$ в сочетании с конденсором с $A=1.0$ дает нормальный результат? Именно так.



Микроскоп с системой освещения по Келеру с линзой, полевой ирисовой диафрагмой и механизмом центрирования.

Рассмотрим масляную иммерсию — как и почему она применяется.

Все иммерсионные объективы, предназначенные для применения с маслом, используют масло типа А. После фокусировки с объективом 40X, поверните револьвер так, чтобы убрать объектив с оптического пути и нанесите одну или две капли иммерсионного масла на участок покровного стекла, через который проходит свет. Затем установите объектив 100X. Поскольку микроскоп парфокален, нет опасности повредить покровное стекло. Подстройте фокусировку при необходимости. Вы можете настроить

фокусировку конденсора для объектива 100X без использования масла на конденсоре, а просто при помощи правильной настройки апертурной диафрагмы и яркости освещения.

В чем преимущество использования масла? Оно позволяет устранить рассеянный свет, вызванный освещением в комнате, что влияет на контраст изображения препарата. Вторая (главная) причина – лучший сбор лучей света, выходящих из конденсора, и соответствующее повышение яркости изображения.

Увеличивает ли использование масла разрешающую способность микроскопа?

Да. Иммерсионное масло позволяет увеличить апертуру объектива, что в свою очередь повышает разрешающую способность микроскопа.

Другими словами, мы теперь используем апертурную диафрагму только для того, для чего она предназначена — регулировки контраста.

Рабочее расстояние обычного 100X объектива составляет около 0.3 мм. Иммерсионное масло типа А хорошо подходит для данного расстояния и благодаря высокой вязкости легко счищается со стекла и объектива. Масло типа Б гуще и предназначено для конденсоров, потому что иногда расстояние между конденсором и стеклом должно составлять 0.5 мм или более. Оба типа масла высыхают медленно или не высыхают совсем за то время, пока вы используете их. Не забудьте очистить объектив перед тем, как закончить работу, даже если вы собираетесь отойти всего на 10 минут.

Теперь посмотрим, что зависит от того, левша вы или правша. При выводе объектива 100X из оптического пути для его чистки в оптическом ходе оказывается объектив 40X или объектив с низким увеличением? Если это объектив 40X, то поменяйте порядок объективов. Этот объектив достаточно длинный и задевает масло, однако его линза не предназначена для работы с ним.

Микроскоп позволяет поворачивать револьвер с объективами и по часовой стрелке и в противоположном направлении. Поэтому если вы единственный пользователь микроскопа, выберите тот порядок, который вам удобен для очистки иммерсионного объектива.

Две самые большие проблемы при чистке микроскопов — масло и грязь на объективах 40X и 100X. Масла на объективе 40X не должно быть, но вы можете это не заметить; также вы можете не заметить масляную пленку и грязь на объективе 100X, поскольку фронтальная линза очень маленькая.

Фронтальная линза иммерсионного объектива герметично закрыта с краев для предотвращения попадания масла в объектив и на внутреннюю поверхность фронтальной линзы. Наличие масла внутри объектива исключает возможность нормальной работы, а очистка стоит дорого.

Теперь повторно обратимся к освещению по Келеру.

Поместите знакомый препарат на столик и настройте фокусировку при использовании объектива 10X. Апертурная и полевая диафрагма должны быть широко открыты, светофильтр и вспомогательная линза выдвинуты из оптического пути, конденсор поднят вверх до упора. Прикройте полевую диафрагму так, чтобы ее было видно и настройте фокусировку конденсора так, чтобы в фокусе был внутренний край ирисовой диафрагмы на плоскости препарата. Когда она будет в резком фокусе, откройте ее, так чтобы край находился как раз за полем зрения. Вытащите один окуляр и, глядя в пустой тубус, прикройте апертурную диафрагму, чтобы открыто было 2/3 в центре поле зрения. Верните на место окуляр.

Проверьте, чему равна апертура объектива 40X; обычно она равна 0.65. Значение очень близко к 2/3 апертуры конденсора. Поэтому мы настраиваем микроскоп, используя объектив 10X, что подходит также и для работы с объективом 40X. Объектив 40X называют сухим объективом с высоким увеличением. Сейчас уже есть сухие объективы 60X, 80X и даже 100X, однако термин сухой объектив по-прежнему относится к объективу 40X. Причина использования объектива 10X для настройки в том, что у него

самое низкое увеличение среди хорошо скоррегированных объективов высокого качества. Объективы с увеличением меньше 10X хуже, вне зависимости от производителя.

Некоторые микроскопы имеют название «микроскоп типа Келера» или «полу-Келера». Если лампа находится прямо под конденсором и нет необходимого расстояния 7–10”, то такие приборы не относятся к микроскопам по Кёлеру. Если есть полевая диафрагма, ее можно использовать для ограничения освещенного поля, но не для настройки конденсора.

Можно ли провести настройку освещения по Келеру для такого микроскопа? Не совсем, но попробуйте. Поместите знакомый препарат на предметный столик и настройте фокусировку при использовании объектива 10X. Апертурная диафрагма должна быть широко открыта, светофильтр и вспомогательная линза выдвинуты из оптического пути.

Поднимите конденсор вверх до упора и опустите на 0.5 мм. Вытащите один окуляр и глядя в пустой тубус, прикройте апертурную диафрагму, чтобы открыто было 2/3 в центре поле зрения. Верните на место окуляр. Если есть полевая диафрагма, широко откройте ее. После настройки, закрывайте ее, пока поле зрения не начнет становиться темным. Теперь поднимите или опустите конденсор, чтобы проверить, подходит ли расстояние 0.5 мм для данного препарата. Очень велика вероятность, что вам редко, если вообще придется работать с микроскопом типа Кёлера. Поэтому научитесь настраивать микроскоп до компромиссного варианта, но так близко к идеалу, как только возможно.

Когда вы освоите работу с микроскопом и научитесь пользоваться всеми его компонентами, вам потребуется 2–3 минуты на настройку по Келеру или полу-Келеру. Вы сможете открывать апертурную диафрагму примерно на 2/3, просто глядя на препарат.

Фокусировку конденсора следует настраивать для конкретного препарата, а это единственная причина для изменения положения конденсора после настройки освещения по Келеру или полу-Келеру (на 0,5 мм ниже стекла).

Представьте себе, что выбраны для работы объектив и окуляр, конденсор установлен в нормальное положение, которое редко требуется менять, и все компоненты чистые — что вам остается делать? Вы настроили апертурную диафрагму для объектива 40X, но можете выбрать объектив 10X или даже с меньшим увеличением; или объектив 100X. Апертурная диафрагма — единственный регулируемый компонент микроскопа. Ваша компетенция при работе с микроскопом зависит исключительно от того, насколько хорошо вы умеете настраивать апертурную диафрагму. Отверстие в 2/3 — это нормальное положение.

Для настройки освещения по Келеру необходимо:

- Включить осветитель микроскопа (помните, что и на момент выключения, и на момент включения ручка регулировки лампы должна быть установлена в «нулевое» положение).
- Настроить бинокулярную голову под пользователя необходимо, сдвигая и раздвигая окулярные трубки до полного совмещения изображения, при необходимости выставить диоптрийную разницу на окулярах.
- Установить объектив 10x (с желтым кольцом) и сфокусироваться микровинтом на препарате, удалить препарат со столика.
- Закрывать полевую диафрагму на коллекторе.
- Поднять конденсор до верхнего положения винтом регулировки конденсора. Затем плавно опускать конденсор до уровня, при котором края полевой диафрагмы, наблюдаемые в окулярах, оказались в фокусе.
- Центрирующими винтами, находящимися на конденсоре перемещаем изображение полевой диафрагмы в центр поля зрения.
- Открываем полевую диафрагму до границ поля зрения.

Виды стеклопрепаратов.

Предметное и покровное стекла.

Для многих видов исследований с помощью биологического микроскопа пригодны различные варианты предметных стекол, имеющиеся в продаже.

В некоторых масляно-иммерсионных темнопольных методиках крайне важной является идеальная толщина; такие стекла продаются.

Покровное стекло: Пластиковые покровные стекла категорически не рекомендуются использовать. Единственная причина, по которой используют пластиковые покровные стекла – это то, что их можно мыть и повторно использовать. Обычно встречаются покровные стекла классов №1 или №2, в то время как надлежит использовать стекла класса №1.5!

Тот, кто покупает покровные стекла класса №1, полагает, что за свои деньги получает лучшую из имеющихся альтернатив. Тот, кто покупает стекла класса №2, думает, что они не такие хрупкие, и использует их с большей отдачей.

Толщина покровных стекол: класс №1 от 0.13 до 0.17 мм; №1.5 от 0.16 до 0.19 мм; №2 от 0.17 до 0.25 мм.

Почти все производители микроскопов разрабатывают объективы на толщину покровного стекла 0.17 мм. Такие стекла могут попадаться и в классе №1 и в классе №2. Но больше всего покровных стекол оптимальной толщины в классе №1.5.

Существует возможность приобрести масляно-иммерсионные объективы с регулировкой под толщину покровных стекол. Предполагается, что это свойство наиболее важно при больших увеличениях; в то же время замечено, что ценность этой функции снижается вместе со снижением степени увеличения. Данная регулировка встречается в некоторых исследовательских микроскопах.

Применение стандартного препарата

Работа микроскопа зависит от регулировки его компонентов и оптических элементов. Правильная работа зависит также от пользователя. Например, болезнь, усталость, изменения остроты зрения, раздражающее воздействие окружающей обстановки и персонала - всё оказывает влияние на того, кто смотрит в микроскоп и на результаты работы.

Есть две причины, по которым рекомендуется использовать стандартный препарат: ежедневная проверка работы микроскопа и оценка микроскопов других марок и моделей.

Выберите интересующий вас препарат с различными характеристиками: хорошим примером служит лёгочная ткань, но можно использовать и многие другие ткани. Они должны быть окрашены гематоксилином и эозином. Ежедневное использование этого препарата для проверки микроскопа позволит вам хорошо запомнить его структуры и особенности в зависимости от положения ирисовой диафрагмы конденсора.

Ежедневная проверка: Используйте 10X объектив; поднимите конденсор до конца (до соприкосновения с нижней поверхностью предметного стекла), затем опустите на 0.5 мм. Сфокусируйте препарат, настройте раскрытие полевой и апертурной диафрагм.

Горизонтальное смещение препарата: Во время фокусировки с 10X объективом следите за горизонтальным перемещением препарата в любом направлении. Изображение должно находиться чётко в фокусе (без расплывчатости и горизонтального смещения).

Устранение некоторых неполадок, которые могут вызвать горизонтальное смещение препарата, требует участия компетентного технического специалиста. При хорошем обращении с микроскопом в 80 % случаев этот эффект возникает по одной из 4 основных причин и легко устраним. Если исправление любой из четырех причин устраняет горизонтальное смещение, переходите к оценке разрешающей способности.

1. Убедитесь, что объектив надёжно закреплён в револьвере.

2. Лампа. Поместите матовое стекло или протирочную ткань в осветительную систему. Если горизонтальное смещение препарата исчезает, то лампа не центрирована. Центрируйте её, или продолжите работу, используя светофильтр или протирочную ткань, пока не появится время в течение дня для центрировки лампы.

3. Центровка конденсора. Допустим, что апертурная диафрагма была центрирована в конденсоре производителем. Выньте из тубуса окуляр, открывайте и закрывайте ирисовую диафрагму для того, чтобы увидеть центрирована ли она в поле зрения. Если диафрагма не центрирована, но есть винты центровки, отцентрируйте её. Если же нет винтов центровки (смотрите примечание далее), переходите к следующему шагу.

4. Горизонтальное смещение до сих пор присутствует. Проверьте наличие грязи или высохшего иммерсионного масла на фронтальных линзах объектива. При обнаружении очистите их.

Эти шаги должны были устранить горизонтальное смещение. Если оно было устранено, то микроскоп готов к ежедневной работе.

Если проблема заключалась в пункте (3), тогда надо отцентрировать конденсор, что возможно. Проблема может быть в оправе, в которой закреплен конденсор. Конденсор в оправе может быть установлен неровно или неплотно. Понаблюдайте за техническим работником, исправляющим неполадки, чтобы в дальнейшем вы сами могли решить проблему, если она снова появится.

Разрешающая способность микроскопа: Убедитесь, что все характерные детали, которые вы обычно наблюдаете на стандартном препарате, присутствуют на нём. Удостоверьтесь, что вы правильно настроили ирисовую диафрагму конденсора. Также проверьте работу 40X и 100X объективов.

Если изображение затуманено или загрязнено, то причина может быть в масляной пленке на фронтальной линзе, оставшейся после чистки ксилолом или другими растворителями на основе бензина. Спирты (метанол, этанол, изопропил) чистят так же, как и ксилол, но они менее резкие и не оставляют масляной плёнки. Также могут использоваться и другие растворители. Помните, что растворитель надо наносить на протирочную бумагу, а не на саму линзу, используйте растворитель экономно.

Если вы чётко видите стандартный препарат со всеми характерными чертами, микроскоп готов к ежедневной работе.

Оценка микроскопа: Используйте стандартный препарат для сравнения и оценки других микроскопов. Делайте это на вашем рабочем месте или на выставках, на которых экспонируются микроскопы. Всегда посещайте такие мероприятия и сравнивайте микроскопы.

В тот момент, когда вы будете смотреть в незнакомый микроскоп (перед тем, как вы будете наблюдать свой препарат через него), вы должны учесть две вещи.

Если есть устройство между бинокулярной насадкой и корпусом микроскопа, убедитесь, что оно находится в положении исследования в светлом поле.

Затем осмотрите конденсор на наличие дополнительных линз. Если есть линза под конденсором, то она предназначена для работы с объективами малого увеличения, включая 10X объектив. Если линза находится над конденсором, то тогда она предназначена для работы с объективами 40X и 100X. С того момента, как вы начнёте работу с 10X объективом, нижняя линза должна находиться в оптическом пути или верхняя линза должна быть убрана из оптического пути. Максимально поднимите конденсор, затем опустите его на 0.5 мм. Конденсоры никогда не имеют сразу оба типа указанных выше линз, есть только один тип.

Обратитесь за разрешением на использование стандартного препарата вместо того, что уже установлен в микроскопе. Если вы не видите деталей препарата, которые вы хотели бы увидеть, удостоверьтесь, что микроскоп исправен. Если да, тогда этот микроскоп хуже, чем тот, который у вас уже есть. Не тратьте на него время, но всё же

запомните марку и модель на будущее. Наоборот, если вы видите больше, чем было раньше, с лучшим разрешением и контрастом, тогда вы нашли микроскоп лучше того, что был у вас. Уточните, почему этот микроскоп лучше вашего. Спросите про объективы, конденсоры, окуляры и т.д. И что может быть добавлено к нему, например, фазовый контраст, тёмное поле, интерференционный контраст, флуоресценция, и т.д. Даже если вы не собираетесь покупать новый микроскоп, вы можете накопить нужную информацию, чтобы в дальнейшем совершить покупку нужной вам модели.

Микроскопы очень индивидуальны. Рассматривайте незнакомый вам микроскоп с позиции удобства в использовании. Удобно ли вам за ним сидеть? Удобны и просты ли в использовании винты фокусировки и рукоятки перемещения предметного столика? Подходит ли вам угол наклона окуляров? Великоват ли он и требуется ли его уменьшить, чтобы вам стало комфортнее?

Смотрите в более совершенные микроскопы, даже если вам не очень комфортно за ним сидеть. Вы должны научиться всему, чему сможете, и должны уметь оценивать преимущества в оптике, даже если вам это не нравится.

Наконец, это уверит вас в приобретении и использовании стандартного препарата. Если вы также хотите проверить плоскостность поля зрения, примените цитологический препарат и поместите его под покровное стекло для устойчивости препарата.

Картонная коробочка подойдет для хранения одного, двух или более стандартных препаратов.

Основные приемы настройки микроскопа

Этап 1: Положение. Необходимо правильно сидеть за микроскопом:



1. Спина должна быть прямая.
2. Голова находится на уровне окулярных трубок визуальной насадки. Это связано с высотой микроскопа. Высота в данном случае определяется углом наклона окулярных трубок (30° 45° и так называемые «эргономические» насадки с переменным углом наклона). Обращаем Ваше внимание на то, что ни микроскоп, ни сам пользователь не должны использовать для «удобства» книги, журналы и прочее. Это создает нестабильность (неустойчивость) положения и еще больше увеличивает усталость.
- 3.



При этом пальцы рук удобно охватывают рукоятки грубой и точной фокусировки. Наиболее эргономичным является коаксиальное (на одной оси) расположение рукояток,

что позволяет без дополнительных усилий и движений переходить от одной настройки к другой. То же относится и к механизму передвижения препарата.



Современный дизайн препаратопроводителя — это расположенные на одной оси рукоятки горизонтального и вертикального перемещения препарата по предметному столику.

Этап 2: Настройка бинокулярной насадки

Функцией бинокулярной насадки является снижение утомляемости при работе на микроскопе. Для этого конструктивно предусмотрены:

1. Механизм раздвижки окулярных трубок по глазной базе наблюдателя, снабженный маркировкой наиболее часто встречающихся у пользователей межзрачковых расстояний;
2. Механизм диоптрийной наводки на плоскость изображения, в которой создается изображение объекта после объектива и которое "рассматривается" окуляром, как лупой.
- 3.



Маркировка механизма такова, что на подвижной части имеется "0" — отсчет, а далее при вращении в одну сторону указан "-" — диоптрий, в другую "+" — диоптрий; на неподвижной части маркируется уровень — черточка или точка. Механизм может быть расположен как на одной, так и на обеих окулярных трубках.

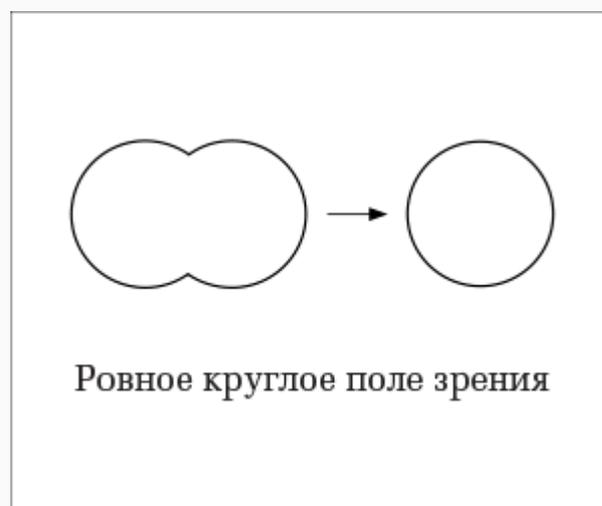
Одной из причин болезни глаз и головной боли является неправильная настройка бинокулярной насадки — выходные зрачки микроскопа не совмещены с входными зрачками глаз пользователя, иными словами, при построении изображения на сетчатке каждого глаза не происходит психологического восприятия изображения объекта в целом, при этом «работает» только один глаз.

Настройка межзрачкового расстояния

Межзрачковое расстояние — расстояние между вашими зрачками в миллиметрах.



1. Получаем резкое изображение объекта.
2. Устанавливаем окулярные трубки таким образом, чтобы совместить видимое поле от каждого окуляра в единое. Для этого выставляем бинокулярные трубки на одну линию (по горизонтали)



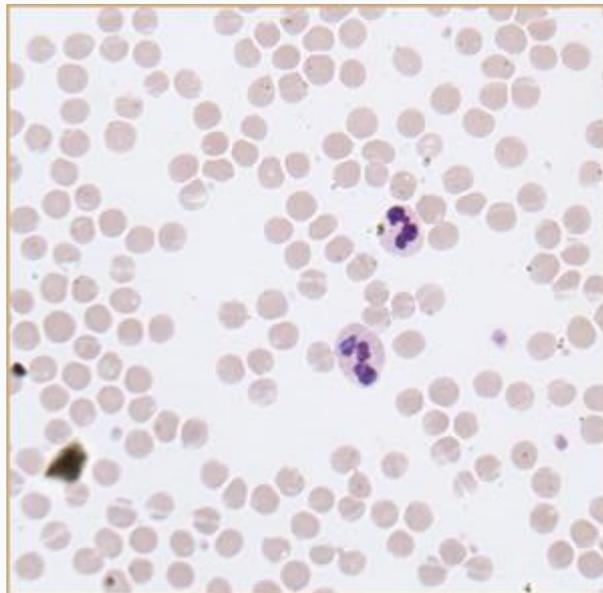
Далее, наблюдая в бинокляр, медленно сводим их таким образом, чтобы из двух видимых полей мы получили единое (объединенное) изображение объекта. Не останавливаясь, продолжаем сводить окулярные трубки дальше (мы увидим опять два поля), затем начинаем обратное движение и повторно получаем одно поле изображения. Вот теперь мы выставили окулярные трубки по своей глазной базе.

Как только оба глаза почувствуют комфорт в процессе наблюдения, Вы уже никогда не сможете неправильно смотреть в бинокулярную насадку — оба глаза будут требовать для себя соответствующего положения окулярных трубок.

Запомните число, указанное на смотровой головке, чтобы вам было проще проводить настройку в дальнейшем.

Выравнивание плоскости изображения для правого и левого глаз

Совмещаем на окулярной трубке или окуляре с диоптрийной наводкой маркировку "0" с уровненой черточкой или точкой. Закрываем этот глаз (обычно это левый глаз) и с помощью открытого глаза и фокусирующего механизма добиваемся резкого изображения в этом канале бинокулярной насадки.

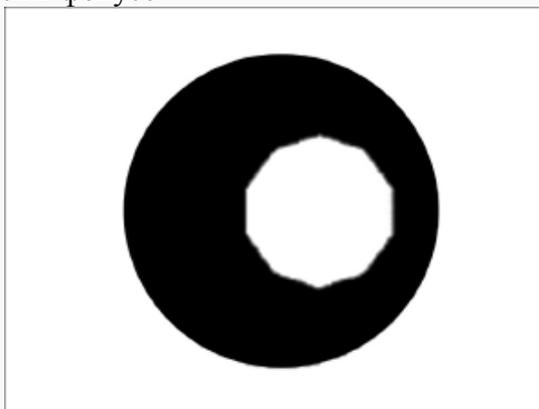


Теперь закроем правый глаз и откроем левый; с помощью механизма диоптрийной наводки (!), не трогая фокусирующий механизм, добьемся резкого изображения в этом канале.

Этап 3: Настройка системы освещения

Настройка освещения по Келлеру — процедура для получения наилучшего возможного сочетания контраста и разрешения.

1. Включите осветитель микроскопа и поместите на столик микроскопа стекло с препаратом. Установите объектив 10X и настройте фокусировку
2. Поднимите конденсор под столиком в верхнее положение при помощи регулятора фокусировки
3. Убедитесь, что полевая диафрагма (на коллекторе) и апертурная диафрагма (в конденсоре) полностью открыты
4. Удалите препарат со столика
5. Максимально закрываем полевую диафрагму
6. При помощи регулятора фокусировки, поднимите или опустите конденсор так, чтобы край полевой диафрагмы оказался в фокусе



7. Если изображение полевой диафрагмы находится не в центре вашего поля зрения, поворачивайте центрирующие винты, пока изображение полевой диафрагмы не попадет в центр поля зрения

8. Открываем полевую диафрагму

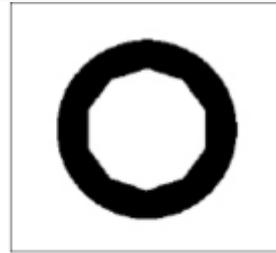
9.



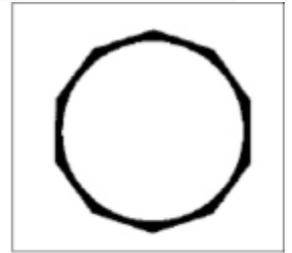
Поле зрения перед выравнением конденсора



Поле зрения после выравнением конденсора



Частично открытая полевая диафрагма

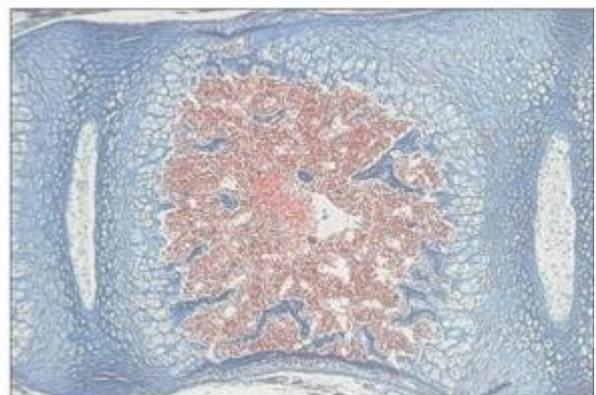
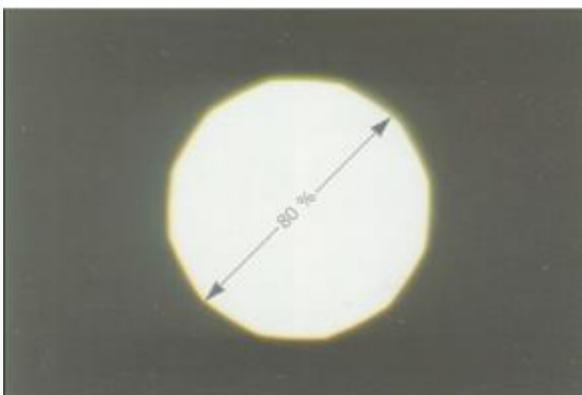
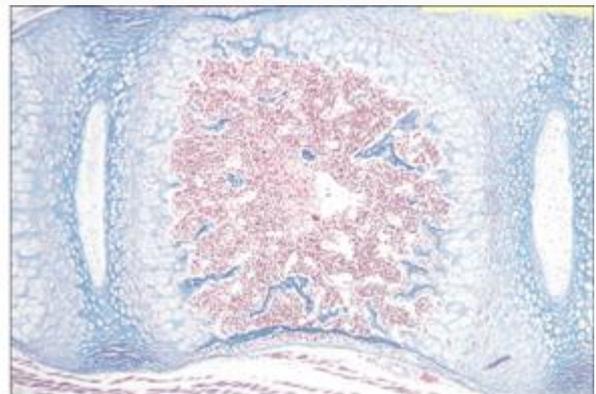
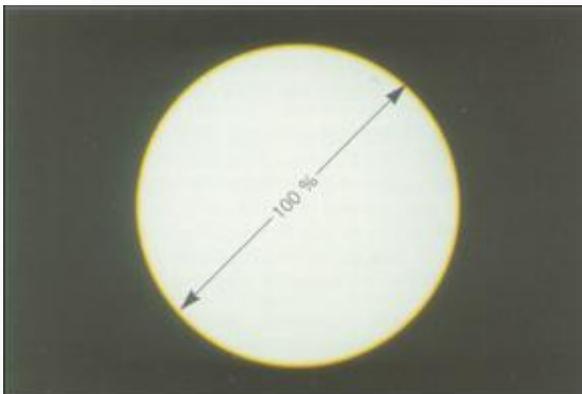


Полностью открытая полевая диафрагма

Этап 4: Настройка апертурной диафрагмы

1. Достаньте один из окуляров и посмотрите в тубус на диск света, идущего через заднюю плоскость объектива. Закройте апертурную диафрагму при помощи рычага, расположенного на конденсоре, пока видимой останется около 80 % диска света. Вставьте окуляр на место

2. Микроскоп настроен для использования с окуляром 10X. Чтобы получить необходимое освещение, эту процедуру надо проводить при каждой смене объектива



Основные правила ухода за микроскопом

Правила хранения микроскопа и ухода за ним

1. Микроскоп от проникновения внутрь пыли должен быть покрыт чехлом, лучше полиэтиленовым. Микроскоп может храниться в ящике или шкафу.
2. Вынимая прибор из ящика, снимая с полки, а также при переносе с места на место микроскоп необходимо держать за штатив.
3. Необходимо оберегать микроскоп от механических ударов.
4. Каждый объектив должен быть ввинчен до конца в гнездо револьверного устройства, и четко зафиксирован в ходе лучей в рабочем состоянии микроскопа.
5. Необходимо предохранять фронтальные линзы объективов и конденсора, а также глазные линзы окуляров от соприкосновения с различными реактивами.
6. Нельзя без необходимости снимать бинокулярную насадку и прикасаться к поверхности тубусной линзы.
7. Нельзя касаться любой стеклянной поверхности пальцами рук, поскольку на поверхности остаются жирные следы. Это потребует проведения внеплановой чистки оптики, которая может повлечь за собой повреждение просветляющих поверхностей.
8. Категорически запрещается снимать «рубашку» (металлический корпус) объектива и заниматься его разборкой.
9. Во внерабочем состоянии микроскопа объективы должны быть опущены (причём в ход лучей должен быть установлен объектив малого увеличения). При этом объектив не должен касаться предметного столика.
10. Для предохранения попадания пыли внутрь микроскопа (если отсутствует чехол) окуляры должны быть вставлены в окулярные трубки, а объективы ввинчены в гнезда револьверного устройства. Если окуляры отсутствуют, то на окулярные трубки необходимо сделать бумажный чехол, а там где нет объективов — необходимо в оставшееся гнездо вставить заглушку или заклеить его широким скотчем.
11. Рекомендуется перед началом или в конце работы оценить чистоту основных оптических поверхностей объектива, окуляров и конденсора микроскопа и в случае загрязнения немедленно подвергнуть их чистке.
12. Для продления срока службы ламп в осветителях рекомендуется не подвергать их резким перепадам напряжения и перед включением и выключением переводить регулятор накала нити лампы (реостат) в минимальное положение. Осветители, в которых отсутствует реостат, для продления срока службы лампы рекомендуется реже выключать.
13. Раз в полгода необходимо проводить профилактическую чистку и смазку микроскопа представителями сервисной технической службы.

Чистка объективов микроскопа



Объектив является основной частью микроскопа — воспроизводящей, создающей увеличенное изображение с дифракционным расчетным качеством. Одной из причин отсутствия этого качества, в том числе, контраста, разрешения и цветопередачи, является грязь в объективе и, в первую очередь — на передней поверхности первой линзы.

После использования в течение всего рабочего дня, иммерсионный объектив обязательно должен быть вычищен с помощью набора для чистки.

Объективы можно тремя способами. Если иммерсионное масло соответствует стандарту, то его вязкость такова, что позволяет производить чистку фронтального компонента с помощью бумажной салфетки или фланелевой тряпочки. Однако, если иммерсионная жидкость старая и загустела, если слой иммерсии застыл (давно не чистили), то объектив необходимо вывернуть и подвергнуть тщательной чистке. То же относится к сухим объективам, опущенным в слой иммерсии.

Процесс чистки

1. Вывернуть объектив из микроскопа (или установить в положение удобное для чистки с большим свободным расстоянием)
2. Сделать тампон из ваты, для чего:
 - Слегка смочить заостренный кончик палочки в спирте
 - Наматывая вату на кончик палочки, вытянуть небольшой кусочек
 - Положив на ладонь, скатать вату на палочке в «тампон»



3. Сухим тампоном одним движением руки снять иммерсию с первой линзы объектива, убрать грязный тампон;

4. Сделать новый тампон из ваты;

5. Смочить тампон в смеси следующим образом:



○ Осторожно обмакнуть тампон во флакон со смесью, едва погружая палочку;

○ Вынуть палочку с тампоном и промокнуть на сгибе руки около ладони;

ВНИМАНИЕ!

Лишняя влага не должна попасть на фронтальную часть объектива, так как в противном случае линза объектива может выпасть из оправы.

6. Кругообразным движением, без вдавливания линзы внутрь объектива аккуратно протереть поверхность линзы и металлическую оправу;

7. Сделать следующий «тампон»;

8. Подышать на поверхность;



9. Протереть стеклянную поверхность палочкой с сухим тампоном;

10. Проверить чистоту поверхности, наклонив объектив. В противном случае операцию придется повторить.



Но чистить следует не только иммерсионные объективы. Вы сами можете почувствовать, когда следует посмотреть все первые поверхности объективов. Низкий контраст, невозможность сфокусироваться, изображение неравномерно резкое по полю, рассеянный свет — все это признаки загрязнения.

Технология достаточно простая:

- Свет направляется на первую поверхность объектива и оценивается ее чистота, если поверхность грязная — следует продолжить чистку;
- Необходимо посмотреть на свет со стороны резьбовой части объектива (со стороны последней поверхности);
- Со стороны последней поверхности объектива следует «грушей» выдуть грязь, при этом струю воздуха направив от центра к краю.

При плохо вычищенном объективе может произойти следующее: резкое снижение контраста изображения, потеря четкости, резкости и разрешающей способности объектива, появление дополнительного рассеянного света.

Помните, что микроскоп с иммерсионным объективом плохо работает в помещении, где температура ниже +10°C.

Чистка конденсора

Аналогична чистке объектива. Только со всеми конденсорами, надо быть вдвойне аккуратным. Ни в коем случае при чистке не надавливать на линзу и не смачивать обильно спиртовой смесью. Оба случая ведут к выдавливанию фронтального компонента, то есть к выходу из строя осветительной системы микроскопа.

Плохо вычищенный фронтальный компонент конденсора снижает освещенность поля на предмете, при этом возможно появление дополнительной окраски и провалов в освещенности изображения мелких элементов.

Иными словами, чистка влияет на точность воспроизведения объекта, окраску фона в поле изображения, повышает разрешающую способность микроскопа.

Чистка окуляра

В окуляре обычно чистится глазная линза — первая к глазу наблюдателя.

Чаще всего на первой поверхности линзы остаются отпечатки пальцев, пыль, грязь, цветные разводы, что ведет к рассеянному свету, снижению четкости и контраста картины.

Однако бывает и осыпка внутри окуляра, которая создает ощущение грязи на изображении объекта. Эта грязь может вносить ложное представление об объекте.

Если на окулярной сетке Вы обнаружите грязь, то поверхность ее не рекомендует протирать спиртом (это можно делать только в крайнем случае). Лучше взять чистую фланелевую салфетку, подышать на стеклянные поверхности с двух сторон, а затем ею протереть поверхности.

Желательно не касаться сетки пальцами рук, а аккуратно брать ее за кромку по диаметру.