

A fénymikroszkóp felépítése, működésének alapelvei és használata

Bényeiné Dr. Himmer Márta, Felhősné Váczi Erzsébet, Dr. Reményi Mária Lujza és Dr. Tömösközi Mária munkája nyomán

Összeállította: Dr. Erős-Honti Zsolt

A mikroszkópok a szabad szemmel nem látható objektumok vizsgálatára szolgáló, különféle lencsetagokból álló nagyítókészülékek. A vizsgálandó tárgyat különféle hullámhosszúságú elektromágneses sugárzással világíthatjuk meg. Abban az esetben, ha a megvilágító sugárzás hullámhossza a látható fény tartományába (380-780 nm) esik, **fénymikroszkópról** beszélünk.

A napjainkban használatos fénymikroszkópok a tárgyról egy összetett lencserendszer segítségével készítenek képet. A **tárgyhoz** közelebb eső lencsetag az **objektív (tárgylencse)**. Az objektív a minta fordított állású, nagyított, valódi képét hozza létre. Az objektív alkotta kép további nagyítására szolgál a tárgytól távolabb eső lencsetag, az **okulár**. Az okulár hozza létre a tárgy fordított állású, nagyított, látszólagos képét. A **mikroszkóp össznagyítása** az objektív és az okulár nagyításának szorzata.

A mikroszkóp részeit két csoportra osztjuk: a **mechanikai berendezésre** és az **optikai berendezésre**.

A **mechanikai berendezés** segítségével állítjuk az optikai berendezés elemeit a képalkotás szempontjából megfelelő pozícióba. A mikroszkóp váza a **talpból** és **oszlopból** álló **állvány**. A vizsgálandó objektum (**preparátum**) rögzítésére és mozgatására szolgál a **tárgyasztal**, amelyen a tárgyat leszorítókkal vagy rugós szorítóval kell rögzíteni. Általános esetben mintáinkat valamilyen folyadékba merítve, egy nagyobb üveglemezen, a **tárgylemezen** helyezzük el, amit a kisebb méretű **fedőlemezzel** fedünk le. A tárgyasztal síkban történő mozgatását az asztal oldalán vagy alján található csavarokkal végezzük. A tárgy képét nem a lencsetagok, hanem a tárgyasztal mozgatásával állítjuk élesre, az oszlopon található **durva** (makro) és **finom** (mikro) **élességállító** segítségével.

Az objektív és az okulár meghatározott helyzetben rögzítésére szolgál a **tubus**. Ez a meghatározott hosszúságú cső tartja közös optikai tengelyben, egymástól meghatározott távolságban a két lencserendszert. Az objektív és az okulár felfekvési felületeinek távolsága a **mechanikai tubushossz** (ált. 160-170 mm), a belső fókuszpontjaik közti távolság az **optikai tubushossz**. Fénymikroszkópok készülnek egyetlen okulárt tartalmazó **monokuláris**, valamint két okulárt tartalmazó, a kényelmesebb, két szemmel végzett vizsgálatokat elősegítő **binokuláris tubussal** is. Az utóbbi esetben két szemünkkel ugyanazt látjuk, tehát a kép nem térhatású (szemben a sztereomikroszkóppal). A több objektívvel felszerelt mikroszkópok objektívjeit a **revolverfoglat** segítségével válthatjuk. Pontosan beállított mikroszkóp esetében az objektívek váltását követően csak minimális élességkorrekció szükséges.

A megvilágító fény útjában található kondenzorlencse magasságát az állványon, a tárgyasztal alatt található csavar segítségével változtathatjuk.

Az **optikai berendezés** a mikroszkóp képalkotáshoz szükséges elemeinek együttese. A fényforrás mellett lencséből, tükrökből, a fényutat elhajlító ill. kettébontó prizmákból és a fénynyaláb rekeszelésére alkalmas blendékből áll. A mikroszkóp valójában nem magányos lencsét, hanem közös foglalatban ágyazott lencsetagokból álló lencserendszereket tartalmaz.

Az optikai rendszer első tagja a **megvilágító készülék**. Ezt a wolframszálas izzó (**fényforrás**), a fényforrás fényét a tárgy felé irányító **tükör** valamint kondenzor lencserendszere alkotja. A **kondenzor** feladata a fényforrás képének tárgyra vetítése révén az optimális megvilágítás biztosítása. Amennyiben a kondenzor a tárgyasztalhoz közeli helyzetben áll, a megvilágított terület minimális, míg a fényerősség maximális. Ha a kondenzort lesüllyesztjük, a fényerő csökken, a megvilágított terület mérete megnő, ugyanakkor a mélységélesség és a kontraszt is javul. Hasonló minőségi javulást okoz a kondenzoron átjutó fénynyaláb rekeszsel (blende/diafragma) történő csökkentése is.

Az **objektív** lencserendszerének első tagja a **nagyítólcse (frontlencse)**. (A többi lencsetag a frontlencse hibáinak kiküszöbölésére szolgál.) A mikroszkópi kép legtöbb minőségi jellemzője az objektívtől függ, ezért tisztában kell lennünk az objektív néhány optikai jellemzőjével:

- **Nagyítás:** Ez minden esetben lineáris nagyítást jelent, azaz ha az objektíven feltüntetett nagyítás 8x, akkor az 1mm hosszú vonalat 8mm-re nagyítja (a területet azonban 64x-esére).
- **Fókusz távolság:** a lencserendszer eredő fókusz távolságát jelenti, ami egyenes arányban áll a munkatávolsággal (tárgytávolsággal) is. Minél nagyobb az objektív nagyítása, annál kisebb a fókusz távolsága, ami azt jelenti, hogy a nagy nagyítású objektíveket az éles kép elérése érdekében igen közel kell vinni a preparátumhoz, ami óvatlanság esetén növeli a preparátum (vagy akár a lencse) törésének veszélyét is!
- **Rajzoló képesség:** az objektív lencserendszere alkotta kép élessége.
- **Ábrázoló képesség:** a kép geometriai pontossága (a sík tárgy képe valóban sík-e).
- **Feloldó képesség/felbontó képesség:** az a legkisebb távolság, amelyen levő két pont még különállónak látszik a létrehozott képen. A mikroszkóp teljes feloldó képességét az objektív feloldó képessége határozza meg, hiszen hiába nagyítjuk tovább az okulárral az objektív létrehozta képet, ha azon a tárgy két pontja már egybe esik. (Az okulárnak ezt a „felesleges” nagyítását nevezzük *üres nagyításnak*.) Az objektív feloldó képessége a tárgy és az objektív közti közeg törésmutatójától, az objektív fél-nyílásszögétől (ez utóbbi szinuszának és a törésmutatónak a szorzata az objektív ún. **numerikus aperturája**) és a megvilágító fény hullámhosszától függ, az alábbi összefüggés szerint:

$$d = k \cdot \frac{\lambda}{n \times \sin \sigma} = k \cdot \frac{\lambda}{NA}$$

Ahol:

k: arányossági konstans

d: feloldó képesség

λ : a megvilágító fény hullámhossza

n: a fedőlemez és a frontlencse közti közeg törésmutatója

σ : az objektív fél-nyílásszöge

NA: az objektív numerikus aperturája ($n \cdot \sin \sigma$)

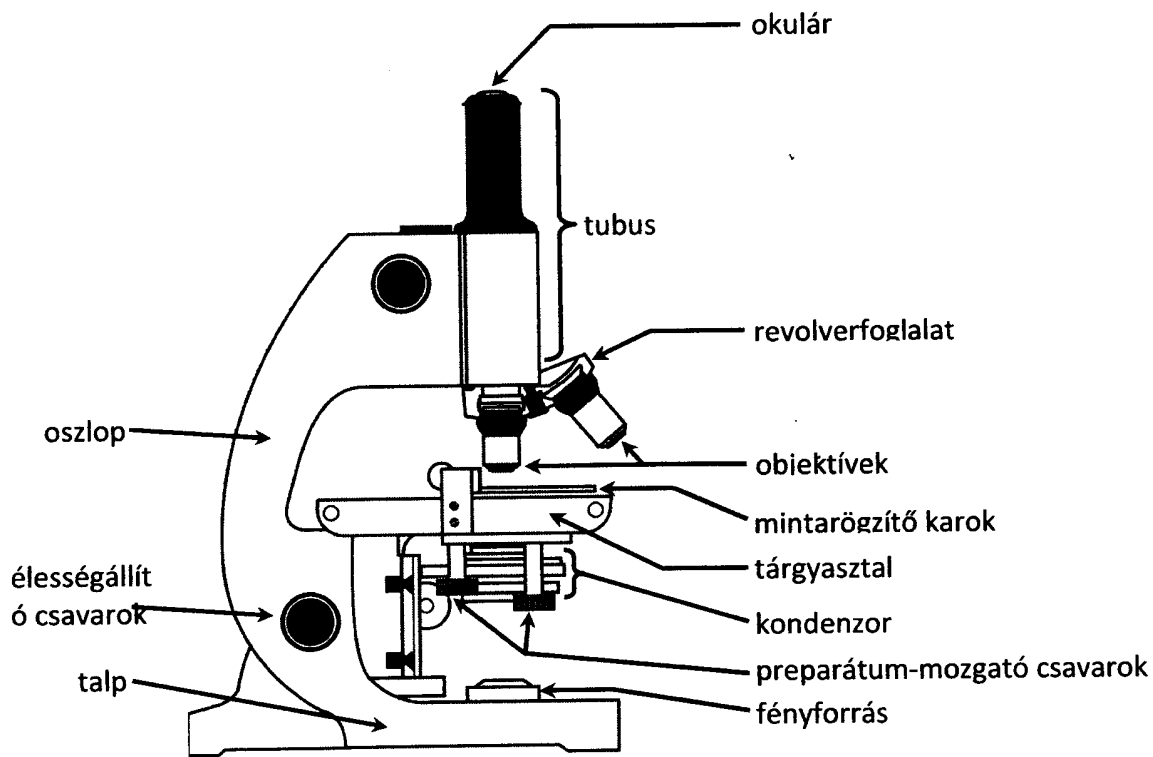
Az objektív képét az okulár lencserendszere nagyítja tovább. Ennek két lencsetagja a felső, a szem felé eső **szemlencse** és az alatta elhelyezkedő annak hibáit korrigáló **kollektív lencse**. Az okulár belsejében rekeszt is találunk, ami a kép széléről érkező, erősebben torzult fénysugarakat tartja vissza, a kép minőségének javítása érdekében.

A mikroszkóp használata

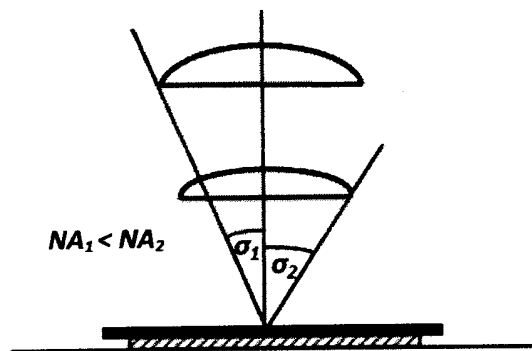
A mikroszkópot csak az állványánál fogva szabad mozgatni, megemelni!

1. A legkisebb nagyítású objektívet fordítsuk az optikai tengelybe!
2. A kondenzort csavarjuk fel legmagasabb állásába!
3. Ellenőrizzük, hogy a kondenzor gyűjtőlencséje az optikai tengelyben áll-e!
4. Nyissuk ki a rekeszeket!
5. Kapcsoljuk be a fényforrást!
6. A rögzítő karok segítségével helyezzük stabilan a preparátumot a tárgyasztalra!
7. A tárgyasztal mozgatásával állítsuk a preparátumot a fényútba!
8. A durva (makro) majd a finom (mikro) beállító csavarok segítségével, a tárgyasztal mozgatásával állítsuk élesre a tárgy képét!
9. A preparátum vizsgálandó részét helyezzük a látótér közepére!
10. Nem megfelelő megvilágítottság esetén a kondenzor lencséjének süllyesztésével/emelésével vagy blendenyílásának változtatásával szabályozzuk! (Elegendő megvilágítottság esetén a fény reteszelésével részletgazdagabbá tehetjük a képet.)
11. A revolverfoglatat elforgatásával váltsunk a soron következő nagyítású objektívre!
12. Ha indokolt, a finom beállító csavar segítségével állítsuk be az élességet! (Ha életlen a tárgy képe, a legnagyobb nagyítású objektív esetében a tárgyasztalt óvatosan állítsuk legfelső állásba – éppen érintse meg az objektív frontját -, majd az asztal finom távolításával keressük meg a megfelelő tárgytávolságot! Így elkerülhetjük a preparátum törését.)
13. A mikroszkopizálás során tanácsos mindkét szemünket nyitva tartani, így azok kevésbé fáradnak.

A mikroszkopizálás végeztével a revolverfoglat segítségével a legkisebb nagyítású objektívet állítsuk az optikai síkba és a tárgyasztalt állítsuk legmagasabb állásába! Az áramtalanítás előtt kapcsoljuk ki a fényforrást és a kondenzort állítsuk a vizsgálatoknak megfelelő állapotba!



1. ábra. A mikroszkóp részei.



2. ábra. A fókusztávolság és a numerikus apertúra kapcsolata. (σ : az objektívek félnyílásszöge)