

Čočky – základní součásti mikroskopu

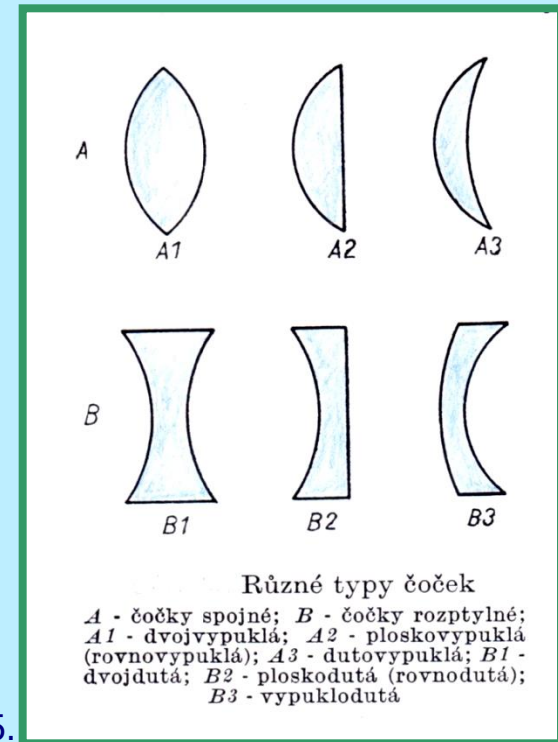


= průhledná (nejčastěji skleněná) tělesa, omezená vypuklými nebo dutými kulovitými plochami, lišící se od svého okolí odlišným indexem lomu

Základní typy čoček:

spojky (vypuklé neboli konvexní)

rozptylky (duté, konkávní)



Pazourek, 1975.

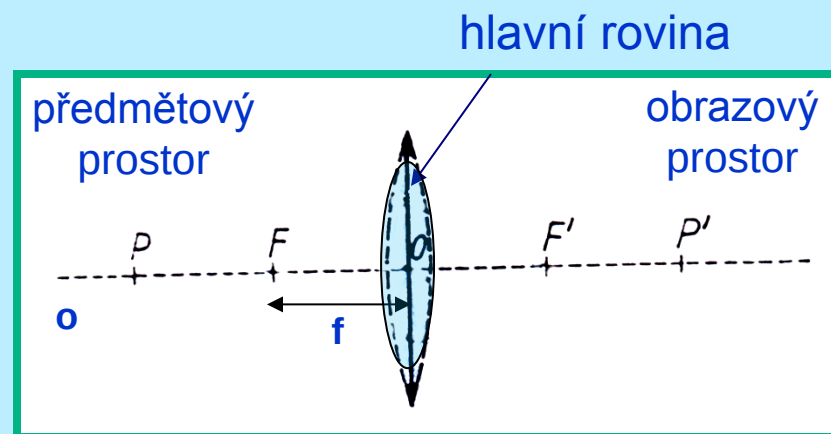
Důležité charakteristiky čočky *

Optická osa (o) prochází středem čočky a je kolmá na hlavní rovinu čočky

Ohnisko (F) - bod do kterého se soustřeďují paprsky probíhající rovnoběžně s optickou osou
- 2 ohniska - *předmětové ohnisko* (F)
obrazové ohnisko (F')

- **ohnisková vzdálenost** (f)
vzdálenost ohniska od hlavní roviny, proložené středem čočky
- **dvojnásobná ohnisková vzdálenost** (P, P')

Obrazový prostor - prostor, v němž vzniká obraz

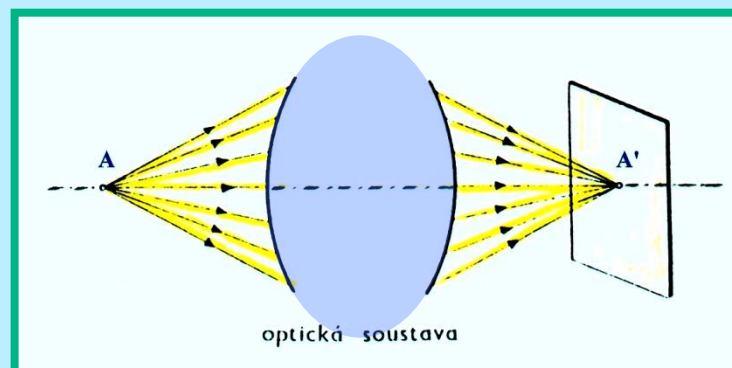


Pazourek, 1975.

* V případě velmi tenké čočky

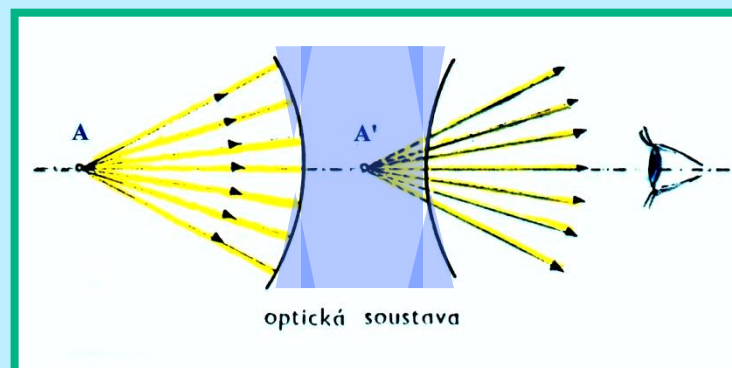
Obraz skutečný a neskutečný

- Obraz za optickou soustavou
→ obraz **s k u t e ě n ý**



A – předmět, A' - obraz předmětu

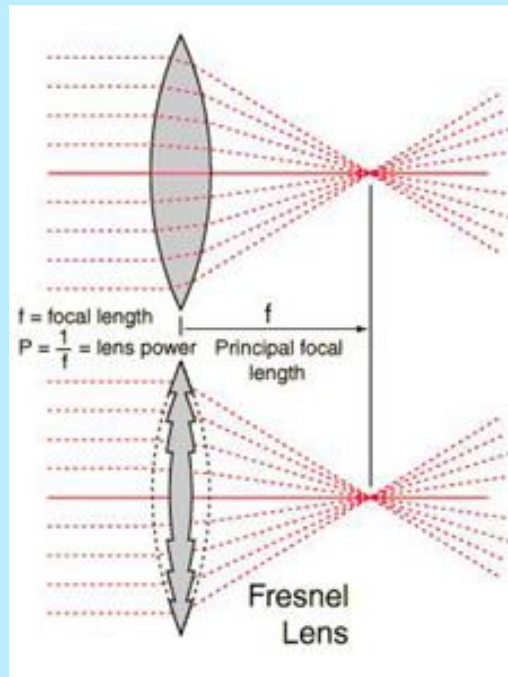
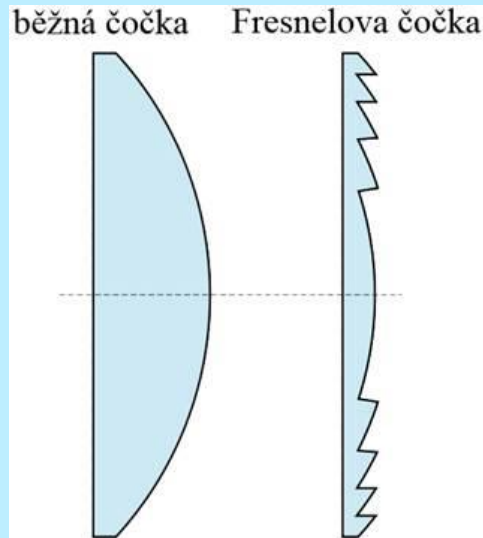
- Obraz před soustavou
→ obraz **n e s k u t e ě n ý**
(zdánlivý, virtuální)



Upraveno podle Pazourek, 1975.

- Skutečný obraz je možné zachytit na stínítko nebo na fotografickou desku, neskutečný nikoliv.

Fresnelova čočka



čočka na majáku

- plochý tvar (zachovány pouze části, které mění směr chodu světelných paprsků)
- výrazně nižší hmotnost při zachování podobných parametrů

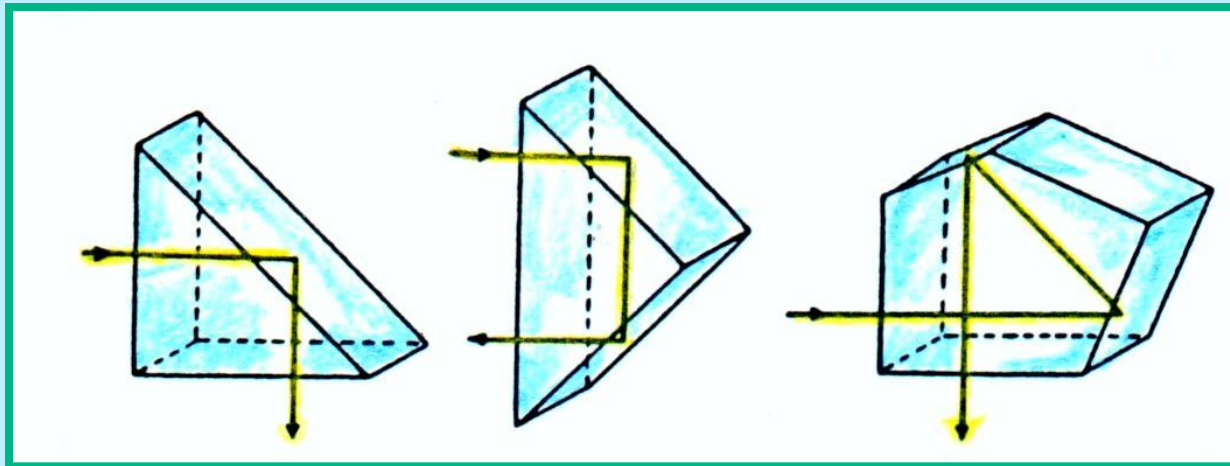
Využití: infračidla pohybu, semaforey, světlomety (majáky) a reflektory (světla aut, divadelních a filmových osvětlovacích zařízení), zpětné projektory, sluneční kolektory; na základě tohoto principu také výroba 3D displejů k mobilním telefonům a televizím

Hranoly

- doplňky optických systémů
- většinou tvar rovnostranného trojúhelníka
- využívají úplného odrazu

Funkce:

- změna chodu paprsků pod různými úhly
- rozdvojení paprsků



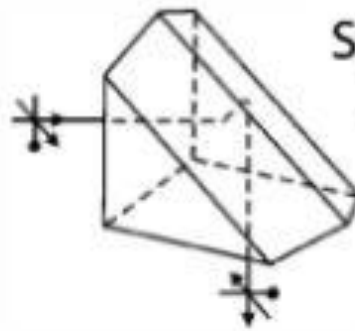
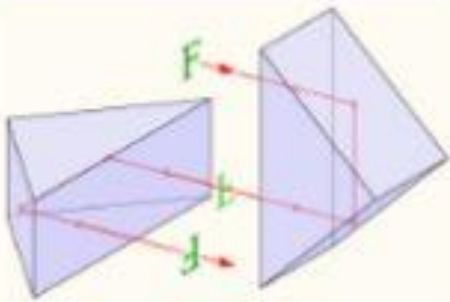
Pazourek, 1975.

Různé typy odrazných hranolů

Hranoly

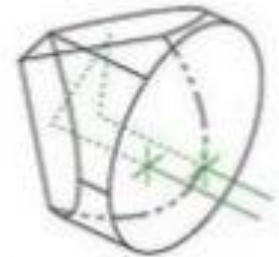
Různé typy hranolů

Pravoúhlý
hranol

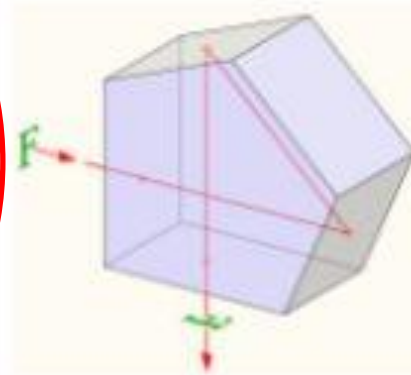


Střechový
hranol

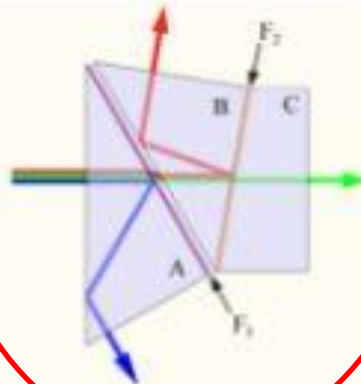
Koutový
odražeč



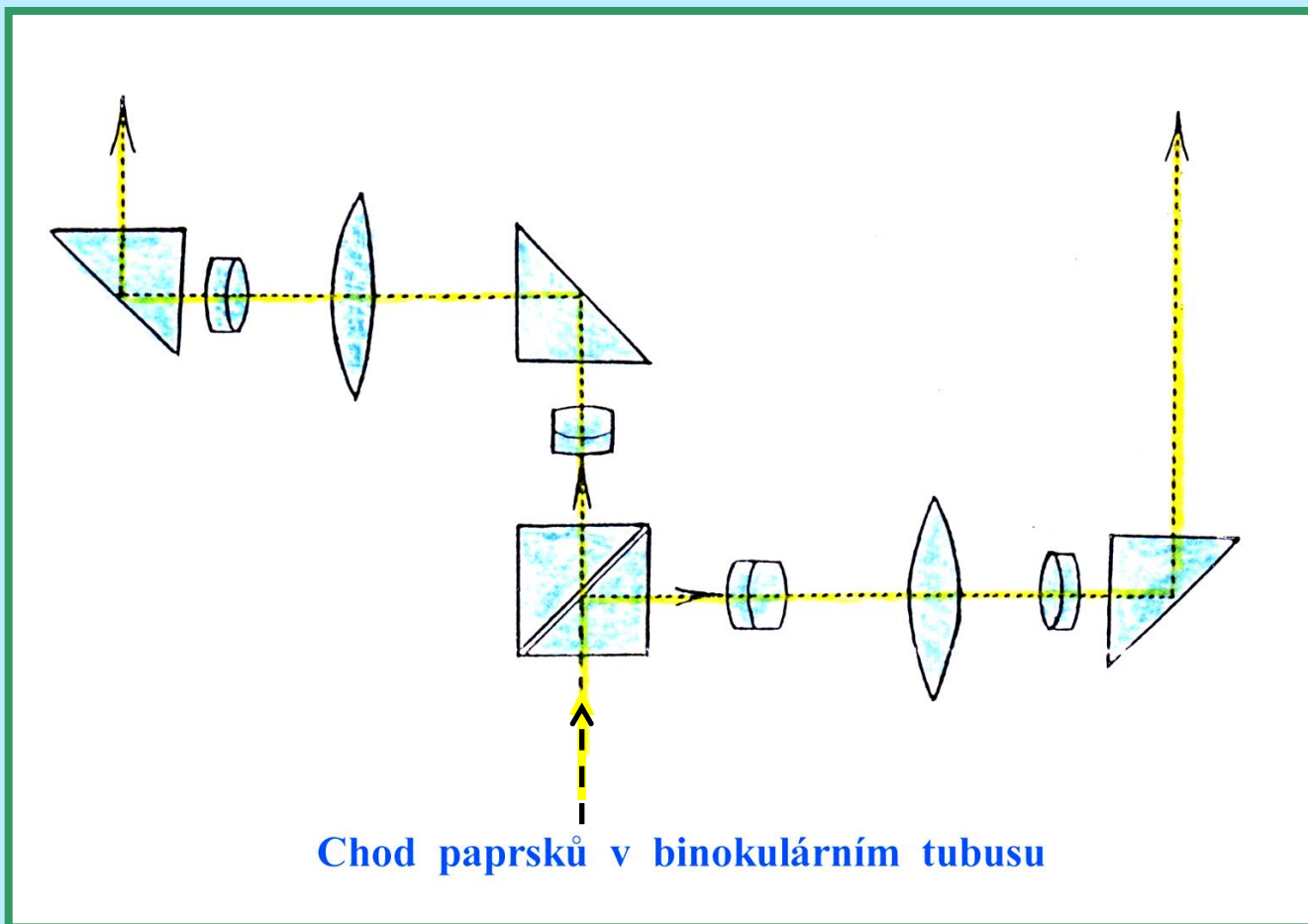
Pentagonální
hranol



Dělicí hranol



Chod paprsků v binokulárním tubusu

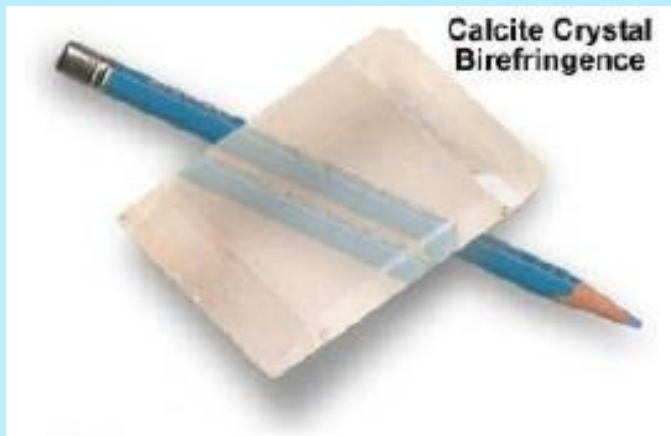


Pazourek, 1975.

Nikol = hranol z islandského vápence

→ polarizace světla

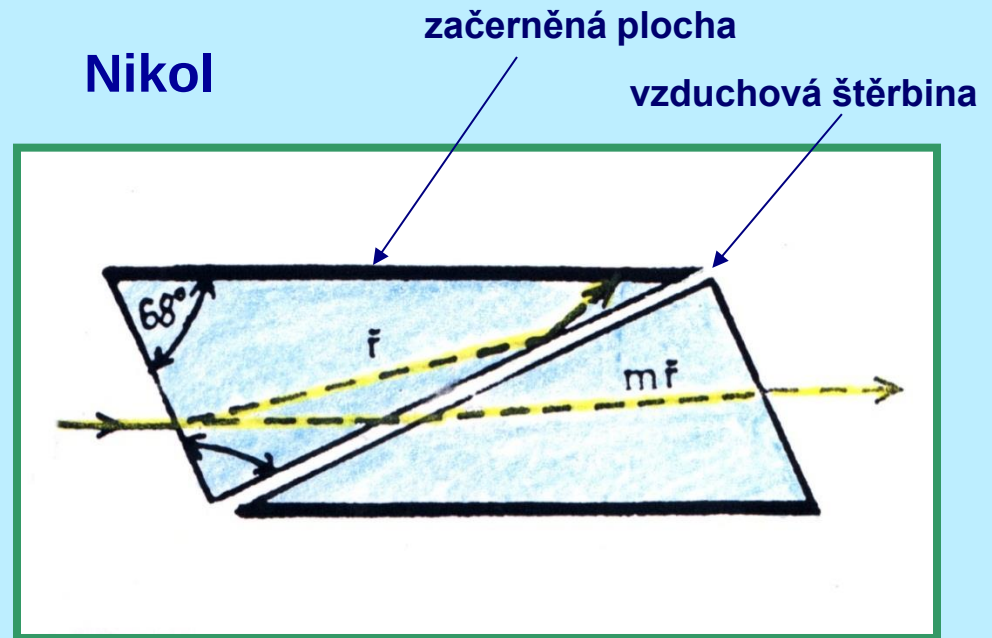
Dvojlomný vápencový krystal



- rychlost světla je v různých směrech různá
- úhel paprsku řádného a mimořádného je odlišný

(u Vikingů - sluneční kámen
sólársteinn)

Nikol



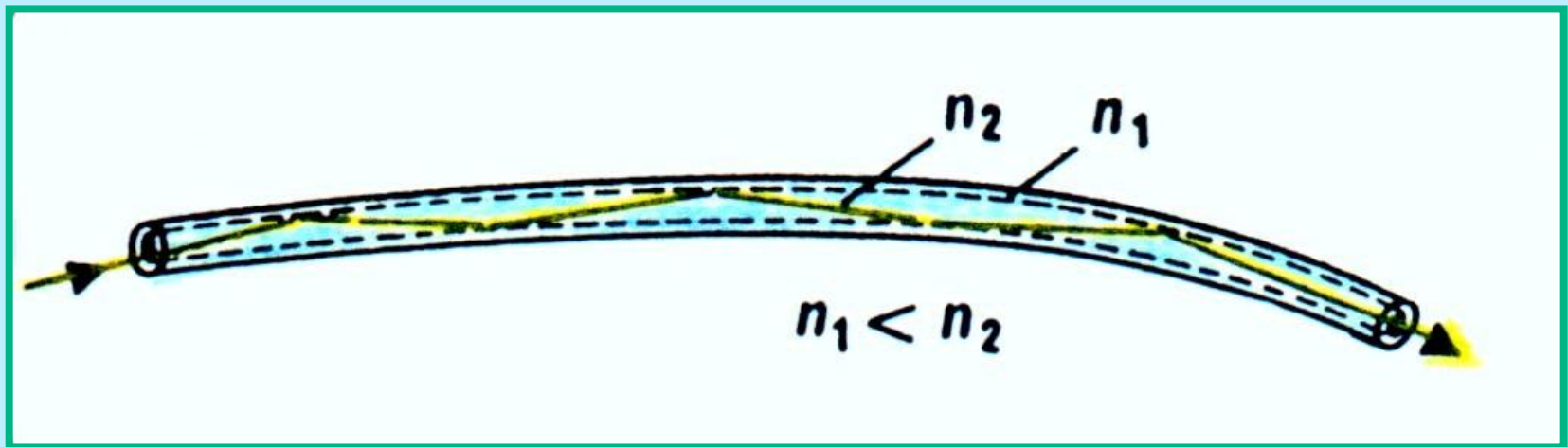
Pazourek, 1975.

- ř** – paprsek řádný (zaniká na začerněné ploše)
- mř** – paprsek mimořádný (lineárně polarizovaný, využit k osvětlení)

Světlovodná vlákna

Princip: úplný odraz paprsku

- uvnitř skleněného vlákna je opticky hustší prostředí
- nutnost dostatečně silného světelného zdroje



Pazourek, 1975.

Chod paprsků ve světlovodném vláknu

Široké využití v praxi: optické kabely – přenos signálů ve sdělovací technice, světlovody umožňující vést denní světlo, vedení světla u stereolup, endoskopů, ...

Přednáška 2_1

Konstrukce obrazu v mikroskopu

Vady čoček

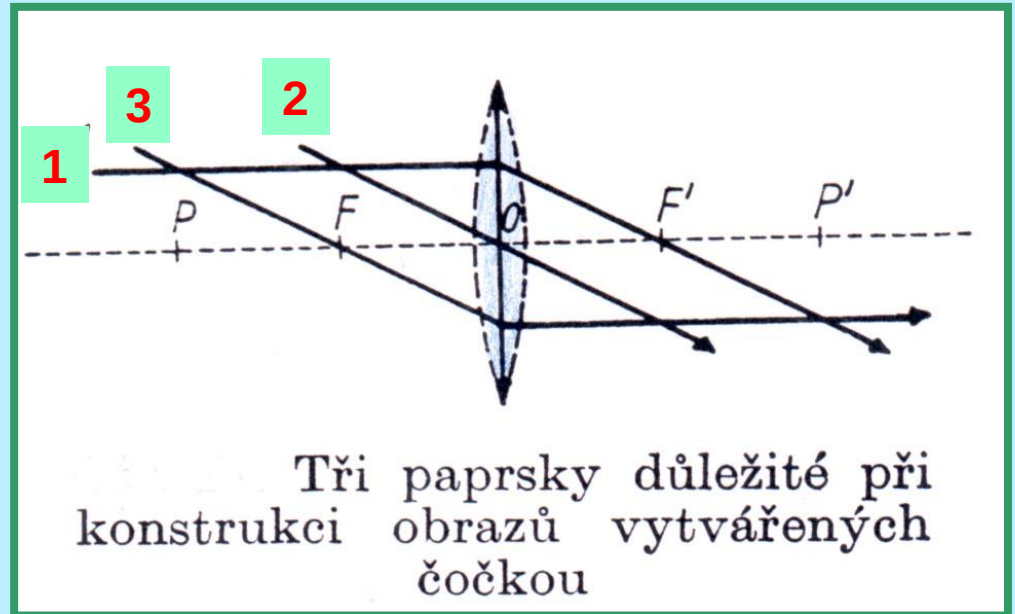
Rozlišovací schopnost mikroskopu

Pavla Válová, 2018

Geometrie zobrazování spojnou čočkou:

Paprsky důležité při konstrukci obrazů vytvořených čočkou*:

1. paprsek rovnoběžný s optickou osou se láme do obrazového ohniska (F')
2. paprsek procházející středem čočky (hlavní) se neláme
3. paprsek procházející předmětovým ohniskem (F) se láme rovnoběžně s optickou osou

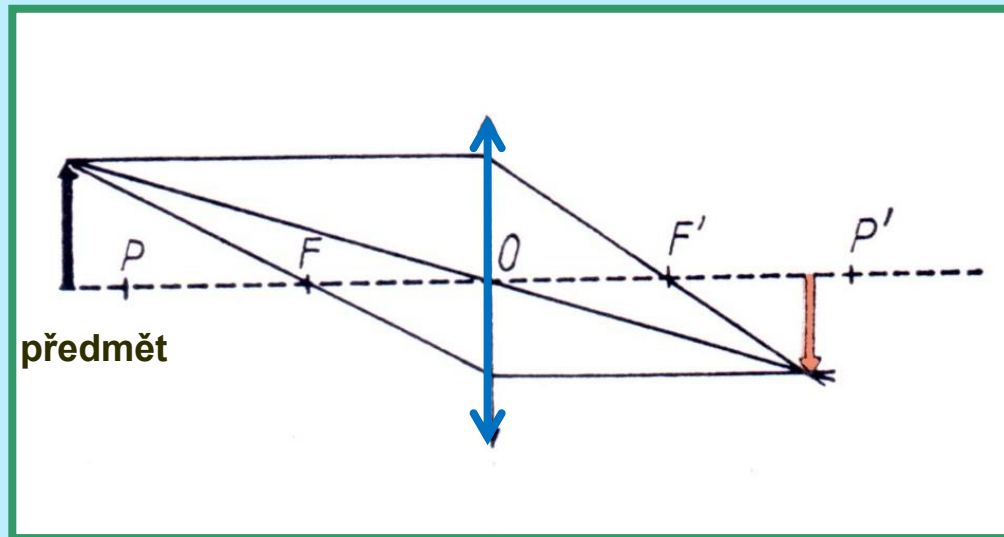


Pazourek, 1975.

* Předpokládáme velmi tenkou čočku..

Konstrukce obrazů při různých polohách objektu:

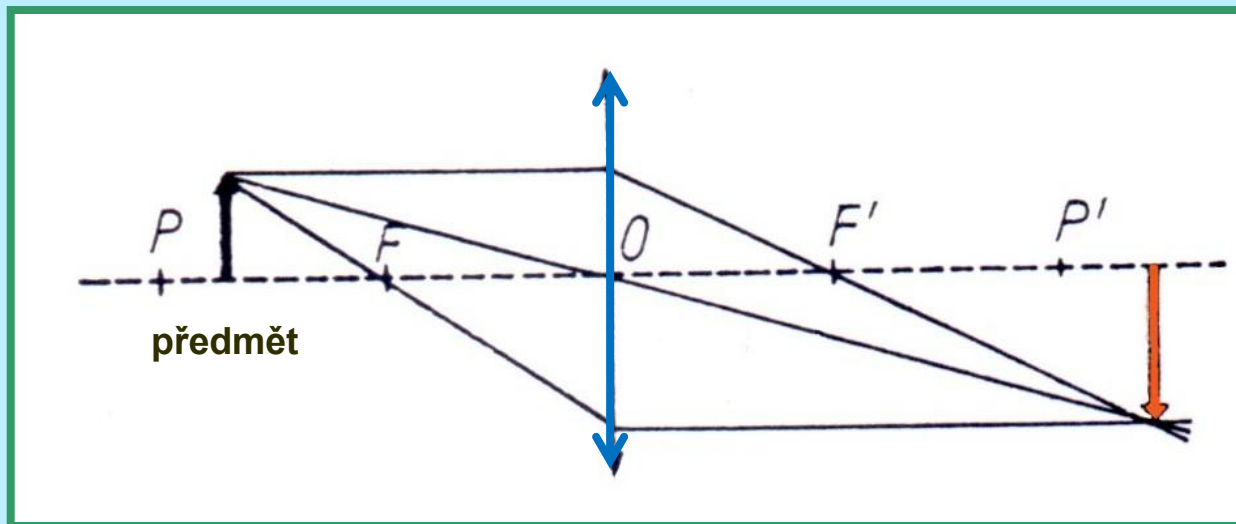
- 1) je-li předmět za dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností (P)
→ obraz mezi ohniskem a dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností - **skutečný, zmenšený** a **převrácený**



Pazourek, 1975.

2) leží-li předmět mezi dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností (P) a F

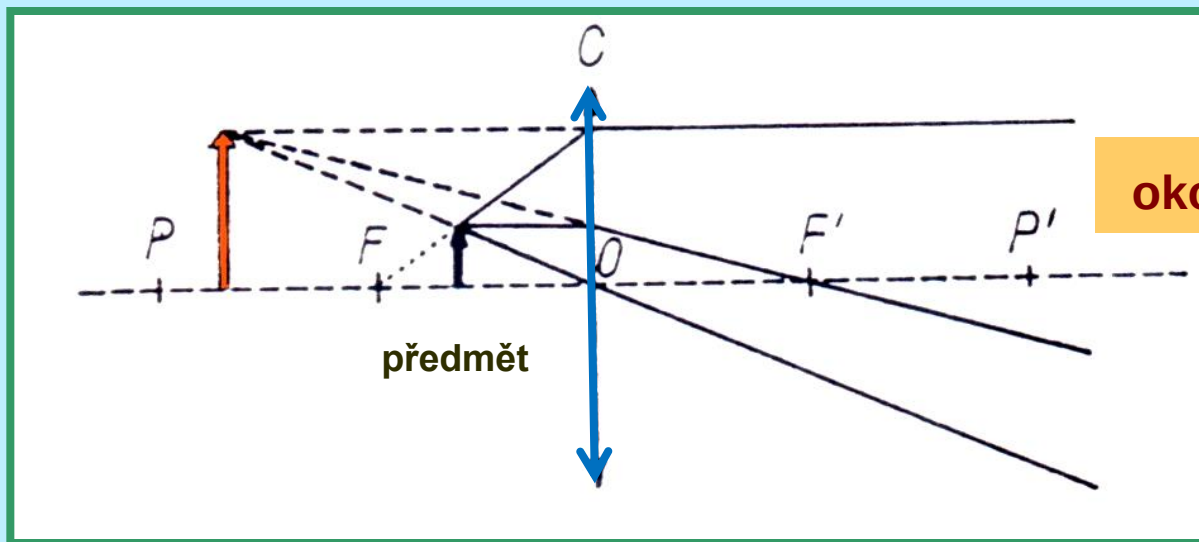
→ **skutečný, zvětšený a převrácený** za dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností



Pazourek, 1975.

3) předmět ležící blíže než F

→ obraz **neskutečný** (zdánlivý, virtuální), zvětšený a **vzpřímený**



Pazourek, 1975.

Pozorování neskutečného obrazu:

Oční čočka změní rozbíhavé paprsky ve sbíhavé – obraz předmětu pozorujeme v průsečíku, který vznikne zpětným prodloužením rozbíhavých paprsků.

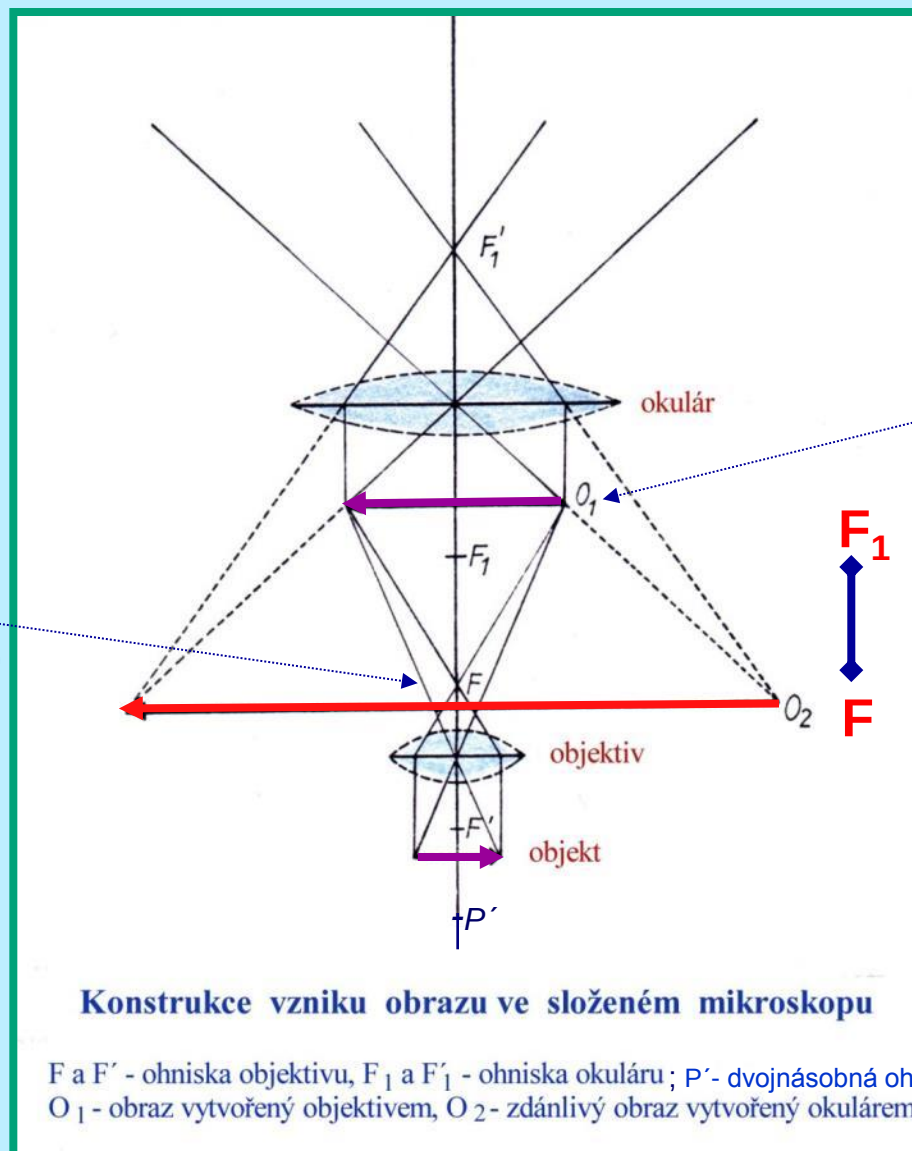
Konstrukce obrazu vytvořeného složeným mikroskopem:

Složený mikroskop se skládá ze dvou optických částí funkčně i stavebně odlišných:

z objektivu
a okuláru

Pro konstrukci obrazu vycházíme ze zákonů geometrické optiky.

Zadní ohnisková
rovina objektivu (F)



Obrazová rovina
objektivu

Optický
interval
mikroskopu

F – ohnisko objektivu
F₁ – ohnisko okuláru

Upraveno podle: Pazourek, 1975.

Optický interval mikroskopu (Δ) – vzdálenost mezi obrazovým
ohniskem objektivu (F) a předmětovým ohniskem okuláru (F₁)

Při ostření nastavujeme objekt
mezi dvojnásobnou ohniskovou vzdálenost a ohnisko

- **objektivem** vzniká obraz

skutečný, zvětšený, převrácený
za dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností

- tento obraz pozorujeme **okulárem** jako lupou
(obraz musí být mezi čočkou okuláru a jejím ohniskem),
tou získáme obraz **neskutečný, zvětšený, vzpřímený**

➔ **Konečný obraz** pozorovaný v mikroskopu je vzhledem
k předmětu **převrácený**

Kvalita získaného obrazu:

Hlavní vady čoček

Vady chromatické

- barevná vada polohy
- barevná vada velikosti
- barevné variace monochromatických vad

Vady monochromatické

- otvorová vada (sférická aberace)
- astigmatická vada
- asymetrická vada (koma)
- vyklenutí zorného pole
- zkreslení (distorze)

Vada chromatická (barevná)

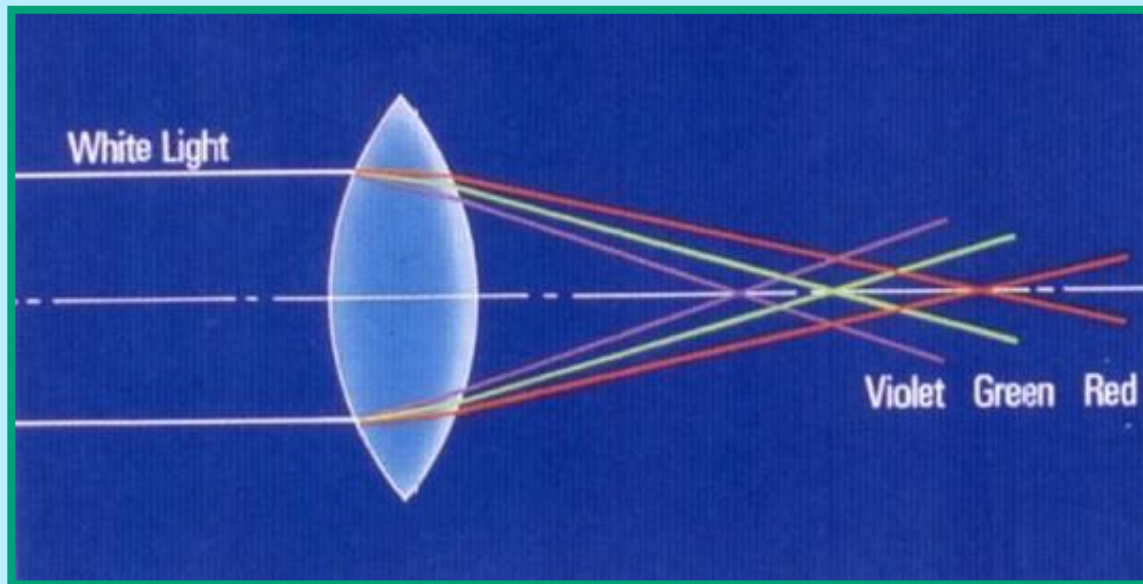
– různý lom světla o různé λ

Kvalitní čočky
fotoaparátu



Čočky
s neodstraněnou
chromatickou
vadou

<http://www.visioneng.com/resources/history-of-the-microscope>



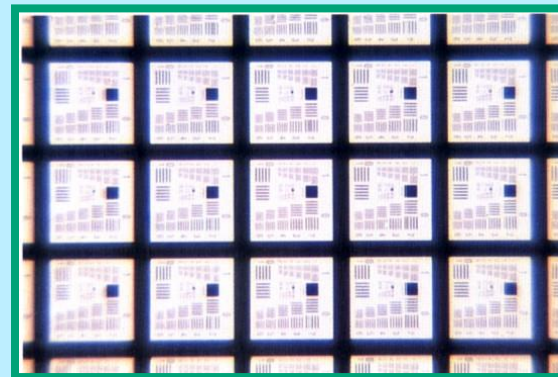
Obraz zaostřený v jedné barvě nebude současně ostrý i pro jiné barvy.

1. Barevná vada polohy

– obraz pro každou barvu se vytváří v jiném místě

Odstranění vady:

- použití monochromátů



2. Barevná vada velikosti (zvětšení)

– obrazy předmětu jsou pro různé barvy různě velké
(pro modré jsou menší než pro červené)

Odstranění:

- kompenzační okuláry

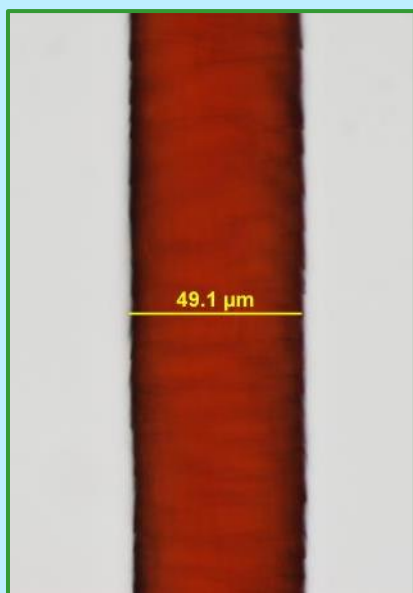
Objektivy achromatické a apochromatické

– čočka je nahrazena dvojicí či trojicí rozdílně tvarovaných čoček

Barevná vada velikosti

- velikost průměru vlasu pod mikroskopem

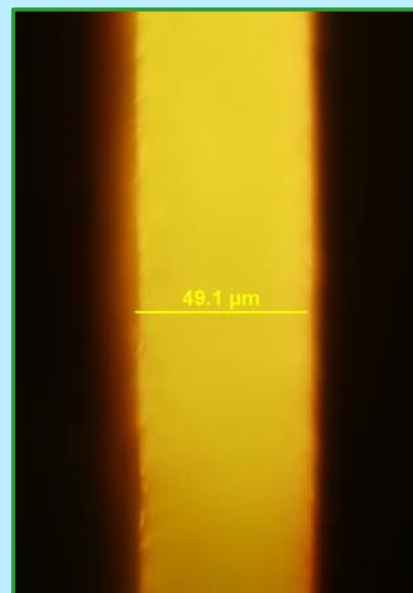
Z = 400x



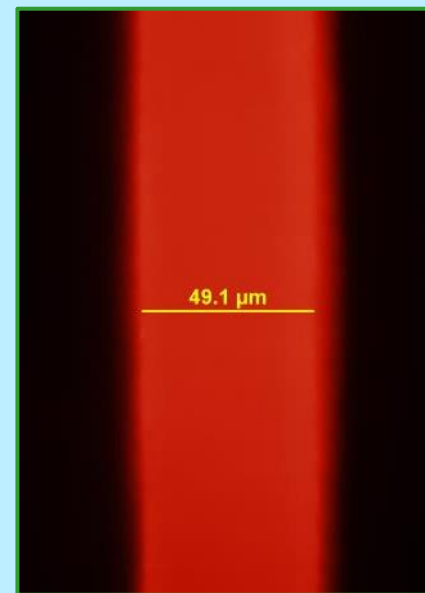
**Bílé
světlo**



**Fluorescence
WU
modrá emise**



**Fluorescence
WB
žlutá emise**



**Fluorescence
WG
červená emise**

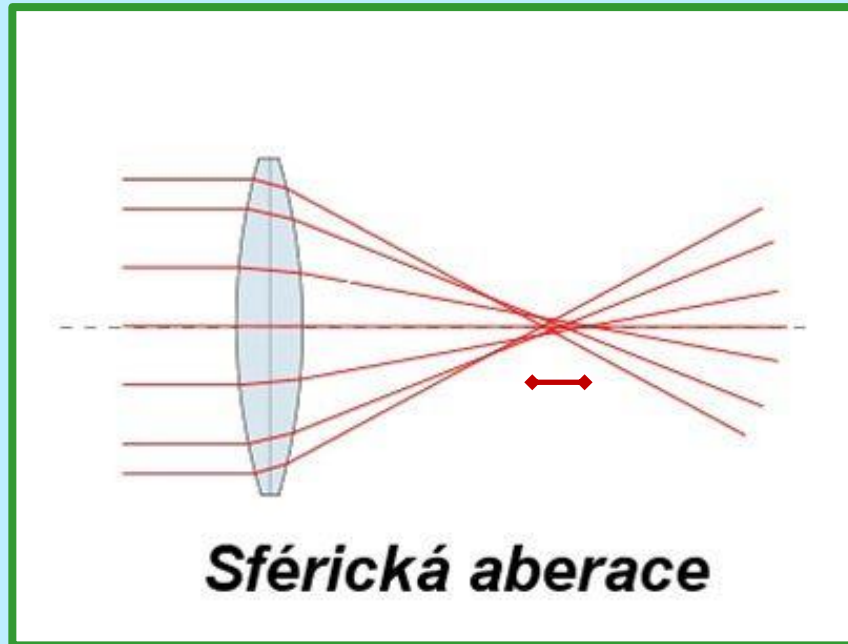
Vady monochromatické

Pozorovaný objekt



Vada otvorová (kulová, sférická)

- paprsky rovnoběžné s osou se lámou různě podle jejich vzdálenosti od středu čočky
- obrazem bodů nejsou body, ale překrývající se kruhy



http://technet.idnes.cz/zakladni-kamen-kazdeho-fotaku-jak-vznika-obraz-v-objektivu-pan-tec_foto.aspx?c=A071025_103506_tec_foto_jlb

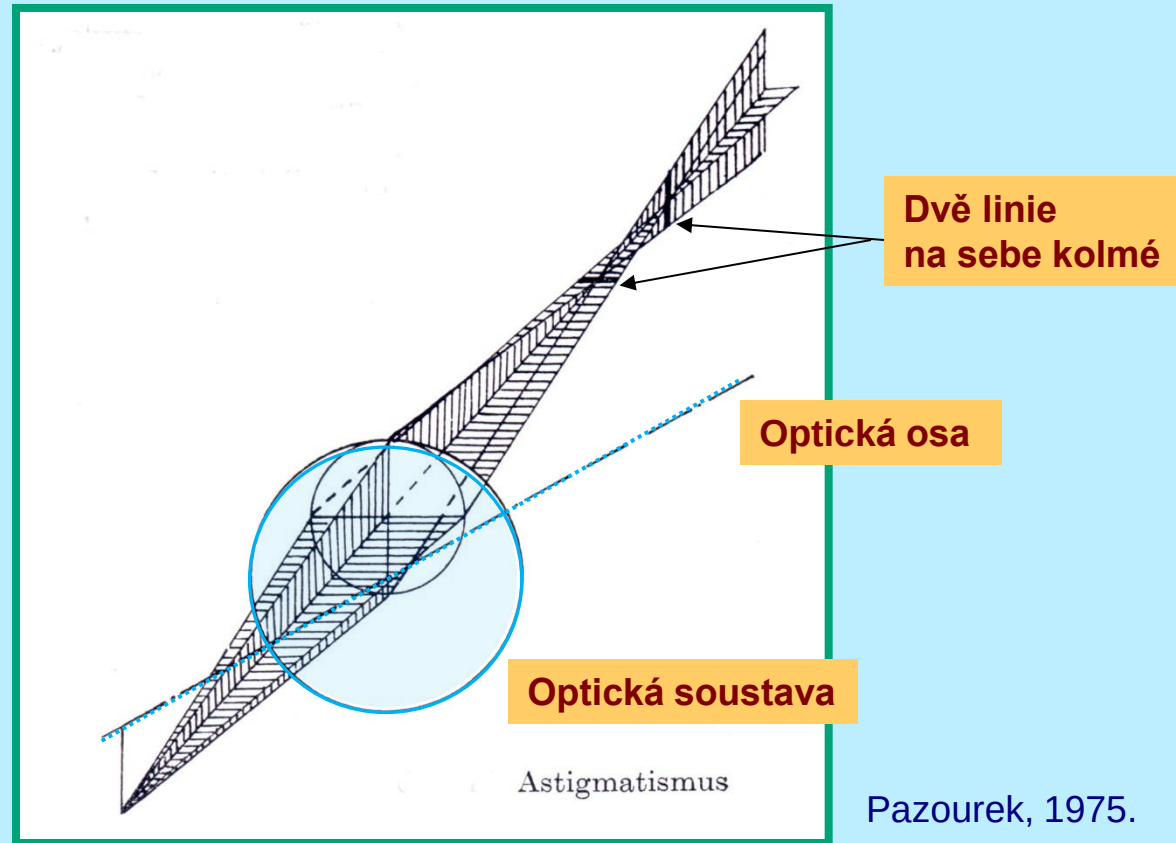
→ obraz je mdlý, s nízkou obrysovou ostroť

Odstranění vady:

- zúžením svazku paprsků; použitím soustav čoček konvexních a konkávních, tzv. aplanatické čočky

Vada astigmatická

- paprsky dopadající na čočku ze strany (z bodu ležícího mimo optickou osu) se neprotnou v jednom místě, ale zobrazí se jako dvě linie na sebe kolmé



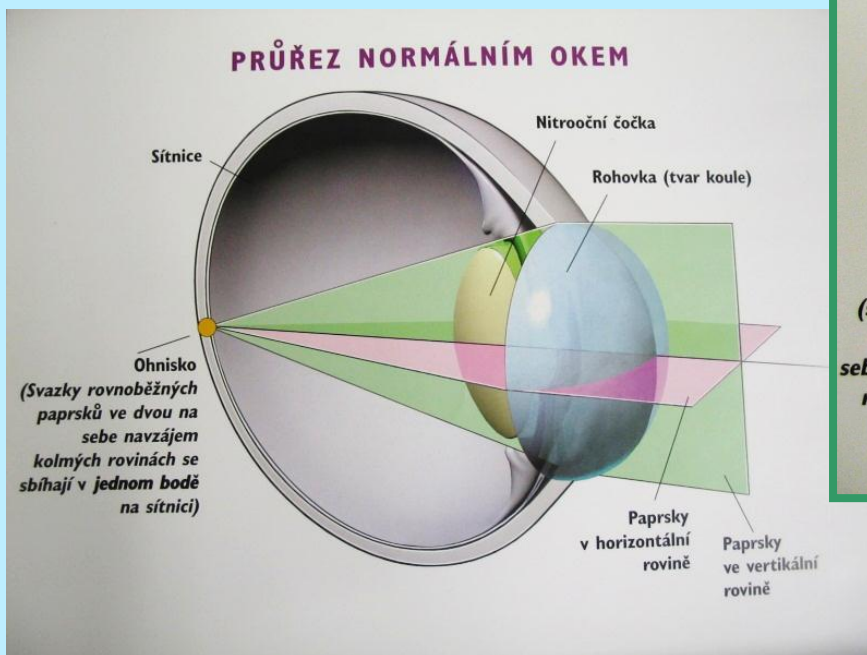
Pazourek, 1975.

Odstranění vady:

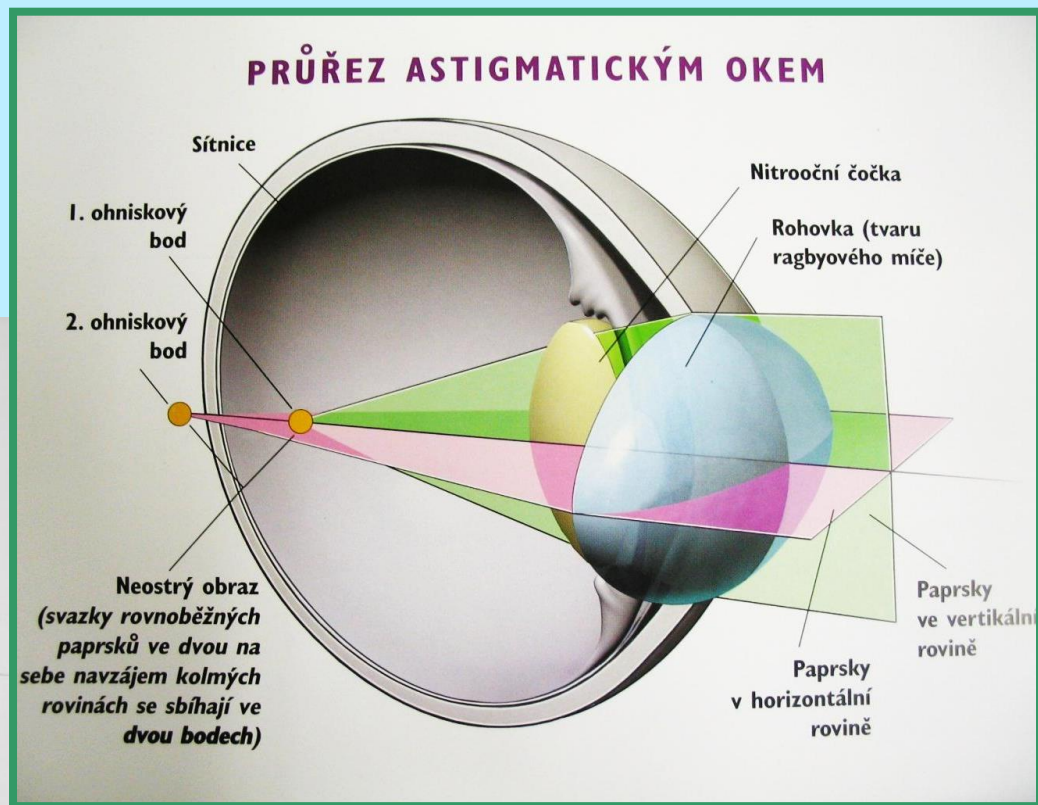
- spojení s rozptylkou opačné chyby
- důležitá správná konstrukce mikroskopu

Astigmatická vada u oka

PRŮŘEZ NORMÁLNÍM OKEM



PRŮŘEZ ASTIGMATICKÝM OKEM



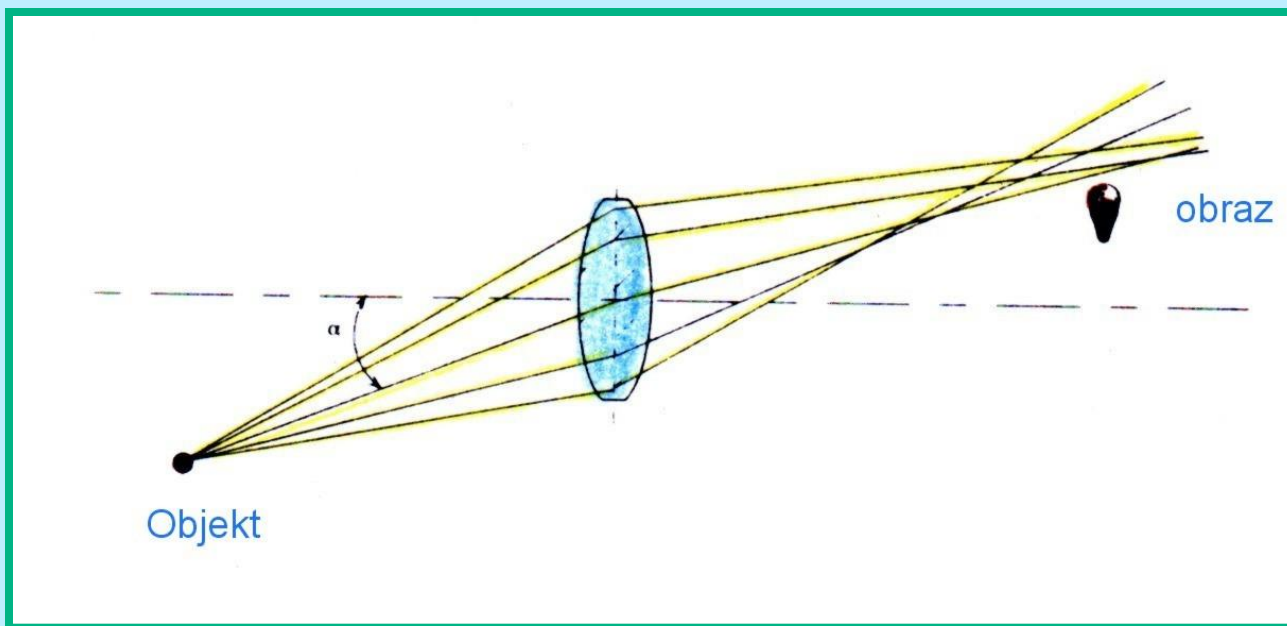
Korigovaný (vlevo) a nekorigovaný (vpravo) astigmatismus

Odstranění vady:

Toroidní čočka – ve dvou navzájem kolmých rovinách má jiné zakřivení, takže v každé z nich ovlivňuje sbíhavost paprsků jinak.

Asymetrická vada - koma

- komplexní vada; bod ležící mimo osu čočky se zobrazuje širokým svazkem paprsků v prostorový útvar, který na rovinném stínítku vytváří skvrnku připomínající tvarem kometu



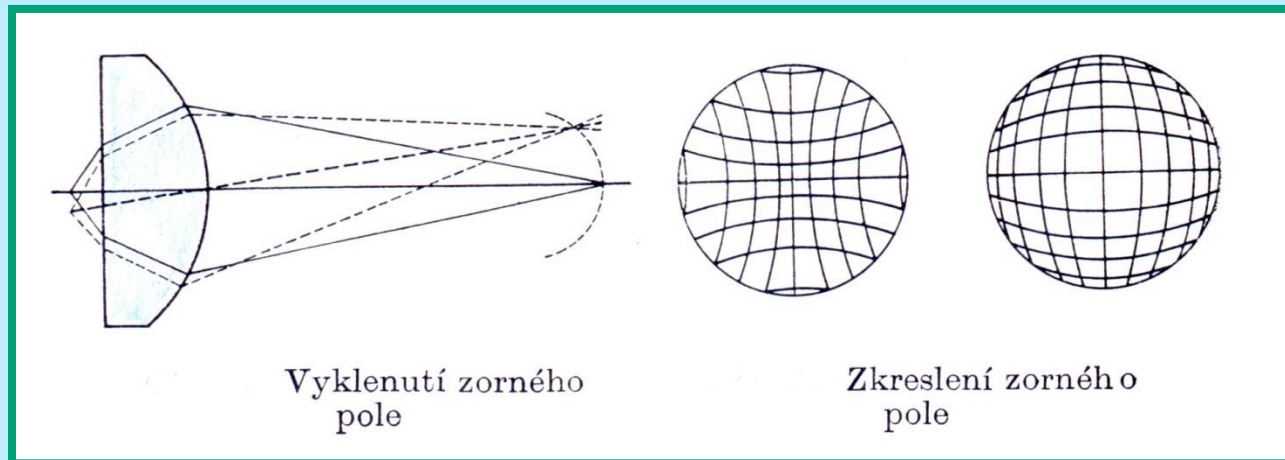
Pazourek, 1975.

Odstranění vady:

- aplanatické optické systémy;
- důležitá správná konstrukce mikroskopu

Vyklenutí zorného pole

- paprsky dopadající na čočku šikmo mají jiné ohnisko, než rovnoměrné paprsky přímé → obraz roviny se nevytvoří v rovině, ale na zakřivené ploše → **nelze zaostřit na celý předmět**



Pazourek, 1975.

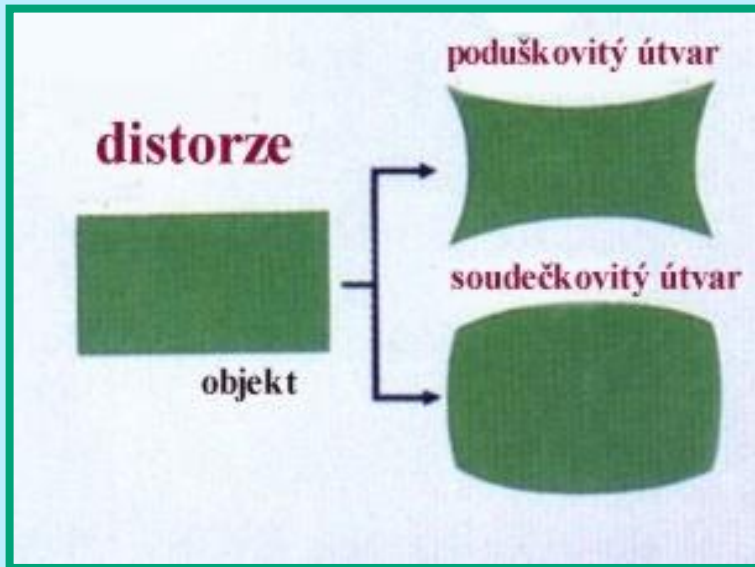
Odstranění vady:

- použití planobjektivů

Důležité pro mikrofotografii kvůli zobrazení nezkráceného celého zorného pole

Distorze (zkreslení)

– okraje zorného pole jsou více nebo méně zvětšené než střed - přímky mimo optickou osu se zobrazují jako prohnuté čáry → deformace reality



Soudečkovitá distorze
(http://fotoroman.cz/glossary2/2_sfera.htm)

(obraz bez distorzní vady je tzv. ortoskopický)

- Možnost korekce vad vhodnými kombinacemi různých čoček a materiálů.

Zobrazení detailů v mikroskopu

Důležitým parametrem kromě zvětšení mikroskopu
je také
schopnost rozlišovat podrobnosti v preparátu

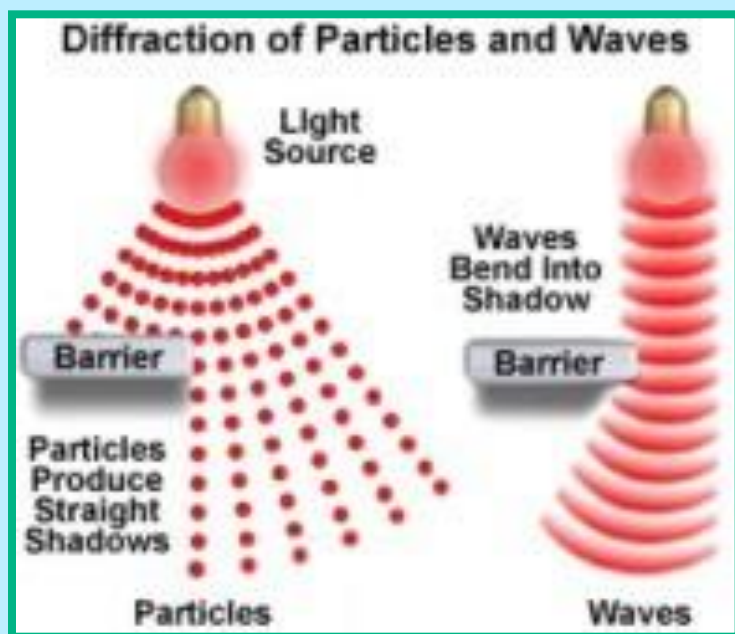
Na vzniku obrazu
se podílí lom a chod paprsku
(viz geometrická optika)

Na kvalitu obrazu má vliv
ohyb a interference světla
(elektromagnetické vlnění)



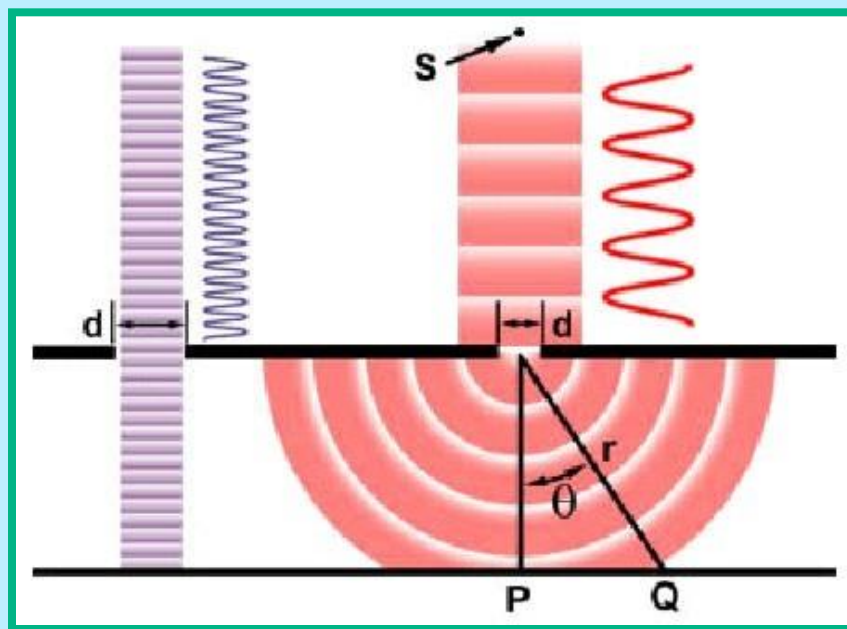
Foto Pavla Válová

Zobrazení detailů v mikroskopu - ohyb (difrakce)

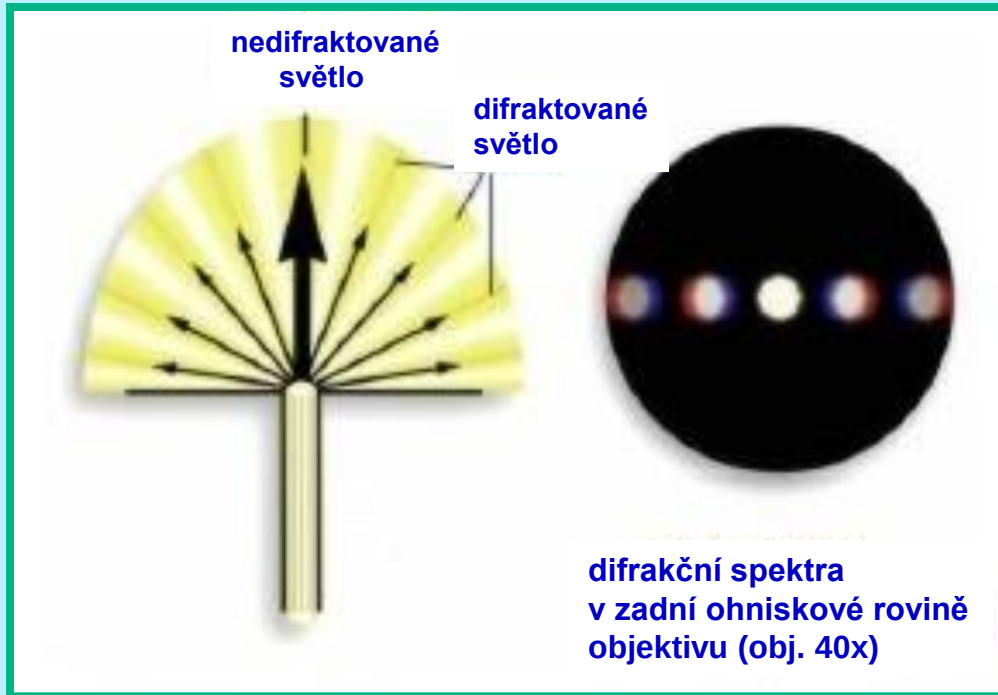


částice

vlny



Ohyb světla (difrakce)



Preparát: mřížka s širokými štěrbinami



- vznik difrakčních obrazců

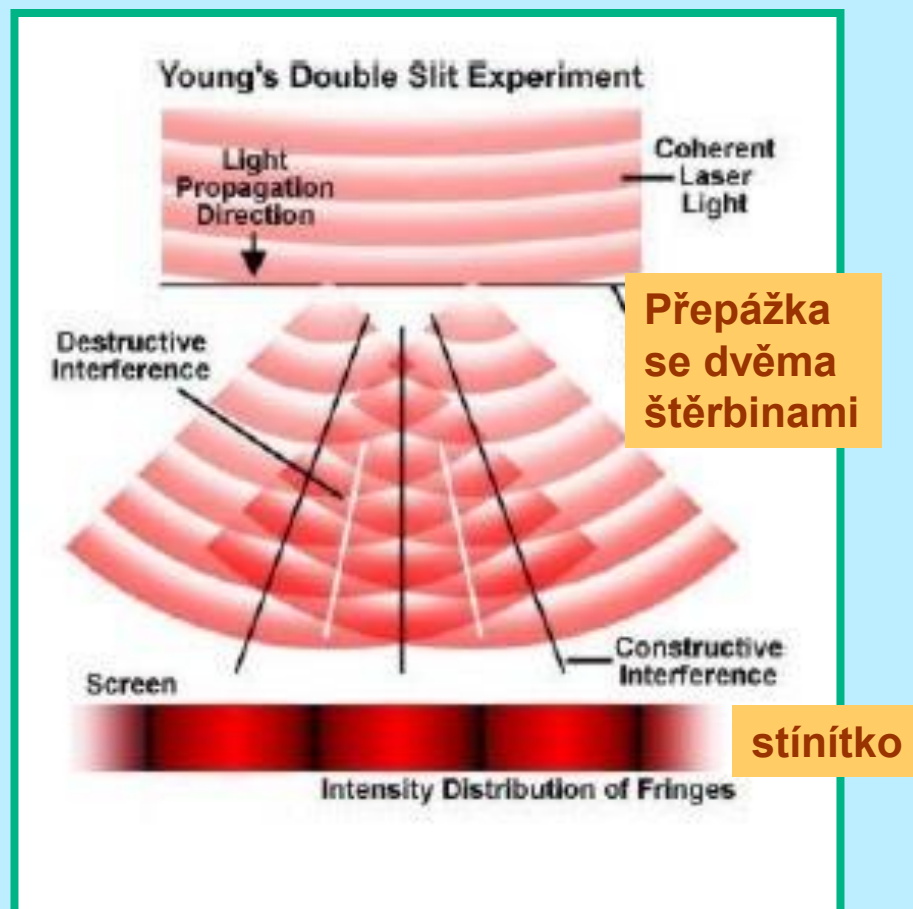


Preparát bez mřížky

- difrakční obrazce nevznikají

Zobrazení detailů v mikroskopu

- Preparát se skládá z množství detailů (bodů), které se liší svými optickými vlastnostmi od svého okolí
(možnost přirovnání k mřížce)
- Otvor v neprůhledné destičce je zdrojem nového světelného vlnění
- Skládání (interference) vln z více otvorů
→ vznik světlých a tmavých zón (maxim a minim)



Youngův* pokus s dvojitou štěrbinou

*Thomas Young (1773-1829) - [jang] – anglický lékař a fyzik

Potřeba maxim k tvorbě obrazu:

Nulté maximum (0)

- prochází přímo, projde vždy, ale nepodílí se na vzniku obrazu
- na vzniku obrazu se podílí maxima I., II., III. ... řádu
- Čím více maxim projde do objektivu, tím kvalitnější obraz

Obrazová rovina objektivu

Zadní ohnisková rovina objektivu

Obraz předmětu (Z_2)

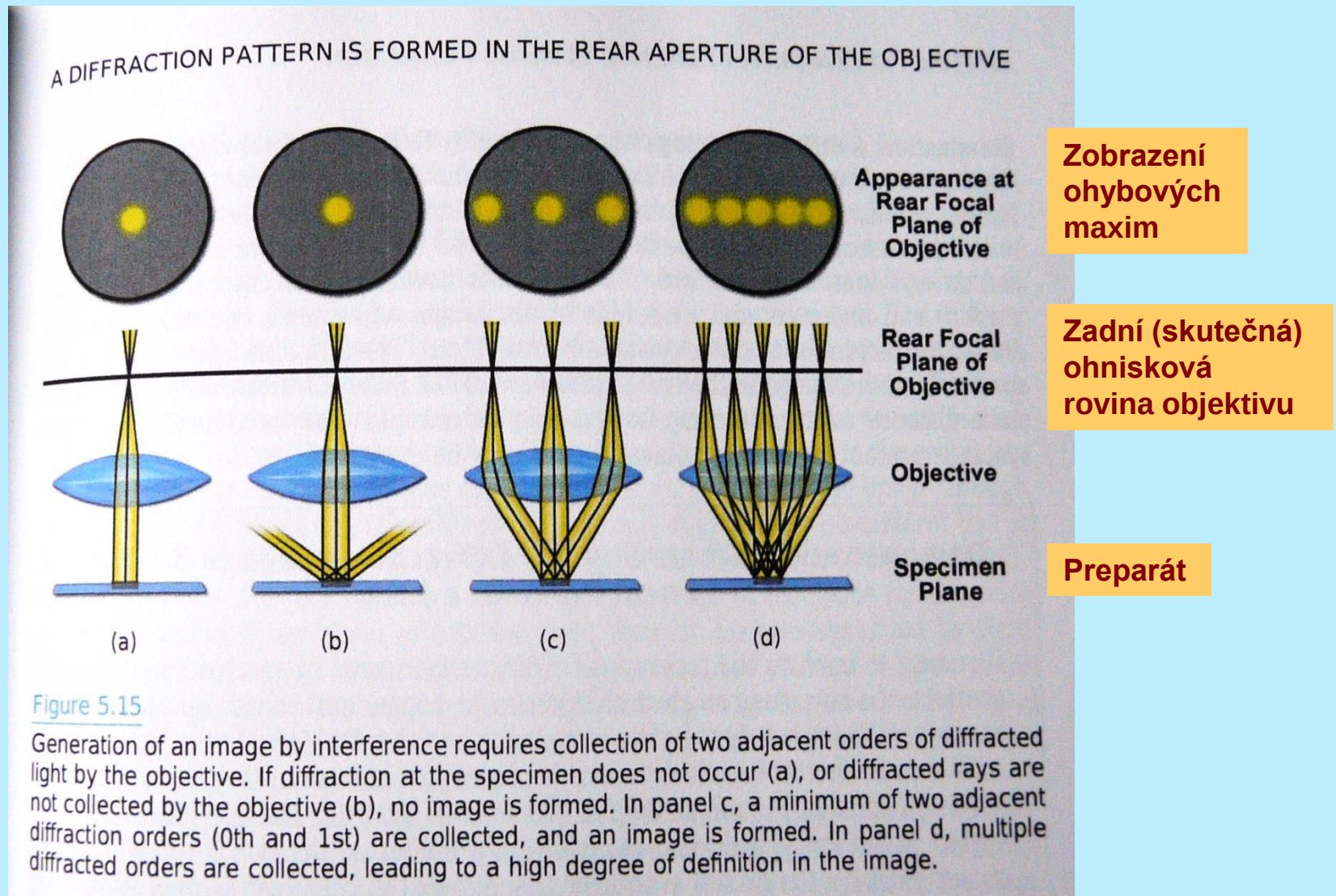
Zobrazení ohybových maxim (Z_1)

Preparát (P)

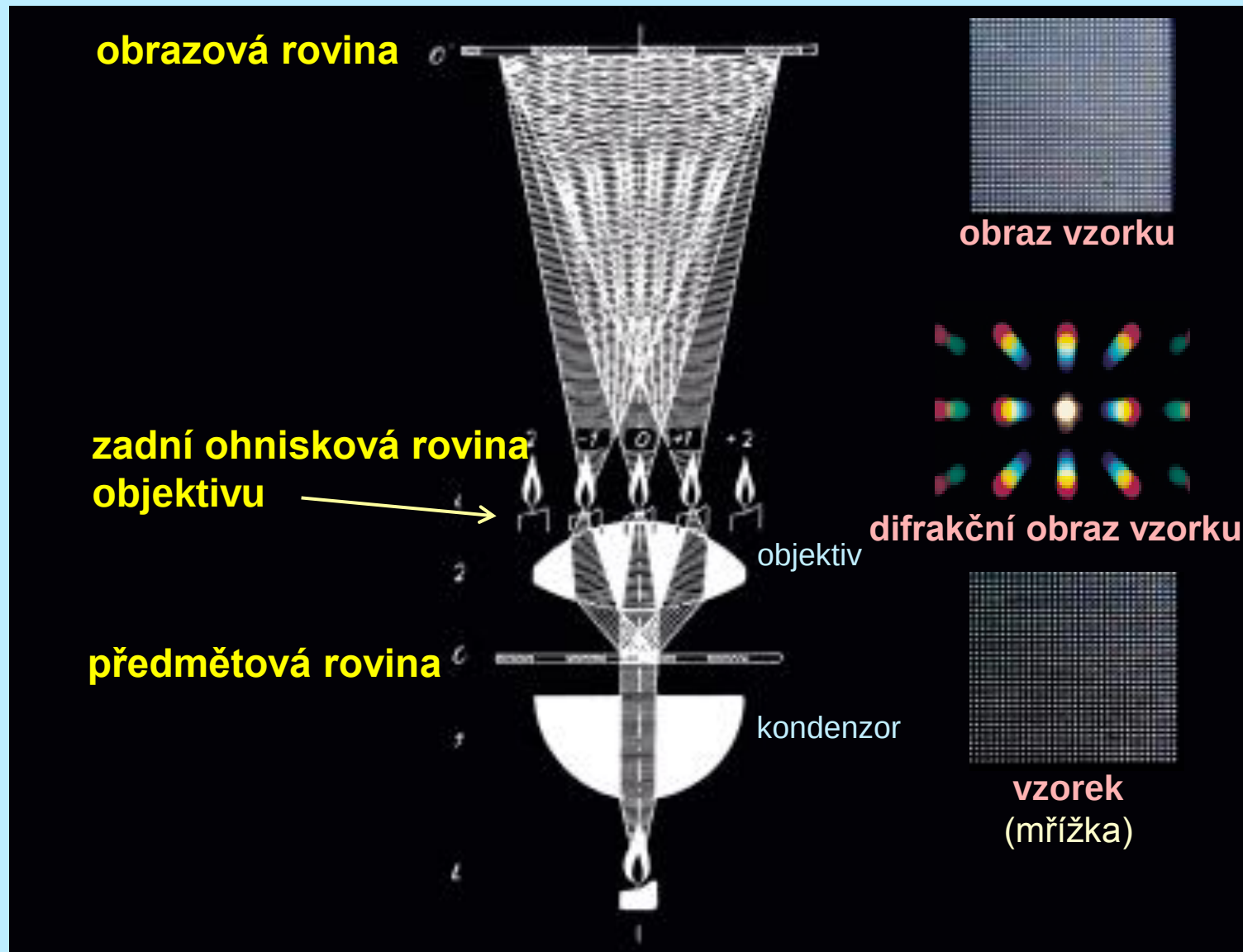
P - předmět (např. otvory v mřížce); Ob - objektiv; Z_1 - zobrazení ohybových maxim; O a I - maximum nulté a maxima prvního řádu; Z_2 - obraz předmětu; II - maxima druhého řádu, která v tomto případě do objektivu nevnikají a neúčastní se tedy vytvoření obrazu

Pazourek, 1975.

Zobrazení ohybových maxim:



Difrakce – vznik difrakčních obrazů v mikroskopu



Obr.: upraveno podle Innovation 15, Carl Zeiss AG, 2005.
https://www.zeiss.de/content/dam/Corporate/pressandmedia/downloads/innovation_ger_15.pdf

Rozlišovací schopnost světelného mikroskopu

- je shodná s rozlišovací schopností objektivu
- je závislá na:
 - numerické apertuře (NA) objektivu a kondenzoru
 - na vlnové délce světla použitého k osvětlení
 - na kvalitě osvětlení preparátu
(optimální nastavení podle Köhlera)

Rozlišovací mez (d) - nejmenší vzdálenost 2 bodů, které lze mikroskopem rozlišit

- vztah odvozen na základě teorie německého fyzika Ernsta Abbeho

- **Numerická (číselná) apertura**

(*apertura* = lat., otvor)

- jedná se o bezrozměrné číslo, které je číselným měřítkem pro schopnost mikroskopické optiky zachycovat informace, obsažené v pozorovaném objektu



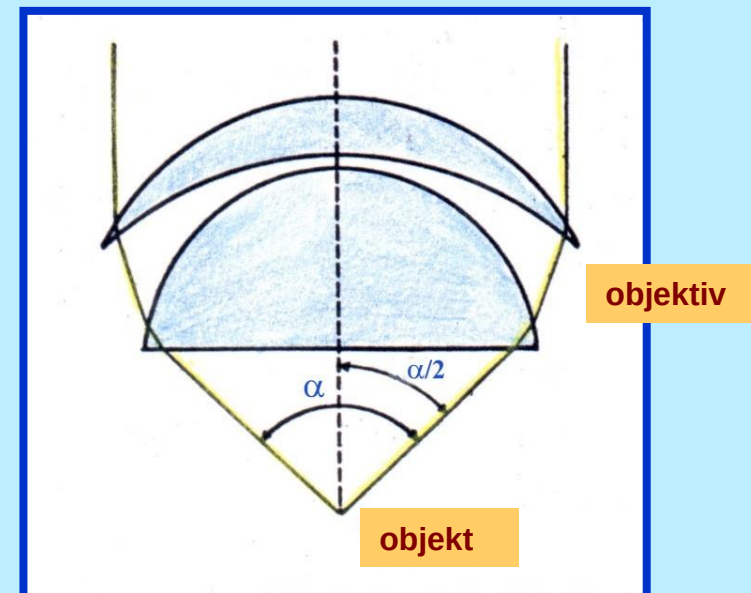
NA (N.A.) nebo také jen **A**

= vztah mezi otvorovým úhlem (α) a lomivostí prostředí (n)

$$NA = n \cdot \sin \alpha/2$$

α = vstupní úhel paprsků do
objektivu

n = index lomu prostředí mezi
objektivem a preparátem



Obr. Pazourek, 1975

Nejmenší vzdálenost mezi dvěma body:

Podle Abbeho

$$d = \frac{\lambda}{NA_{\text{obj}}}$$

Abbeho zápis

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$

Podle Rayleigha*

$$d = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{NA_{\text{obj}}}$$

d = vzdálenost mezi body
0,61 = konstanta (Rayleighovo kritérium)
 λ = vlnová délka použitého světla
 NA_{obj} = číselná apertura objektivu

Rozlišení tvaru:

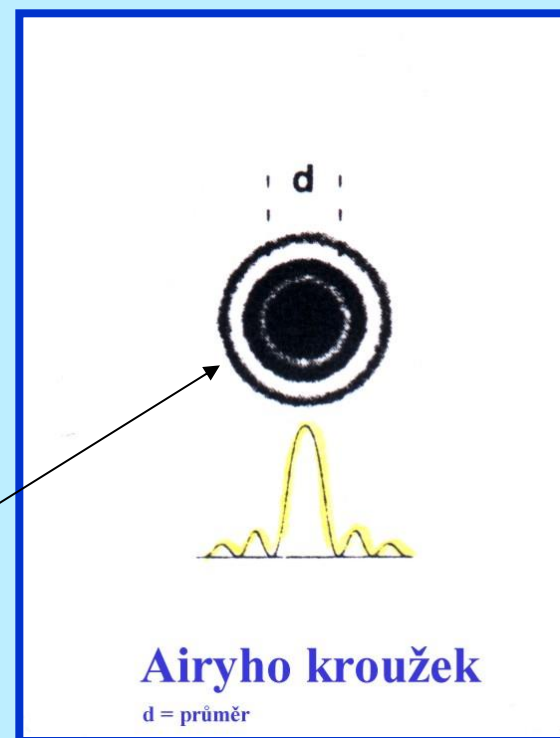
- vzdálenost mezi body musí být 5 d - 10 d

* **Lord Rayleigh** – John William Strutt (1842–1919), anglický fyzik, spoluobjevitel argonu, zabýval se i optickým a elektromagnetickým rozptylem světla.

Rayleighovo kritérium

Na vzniku obrazu v mikroskopu se podílejí:

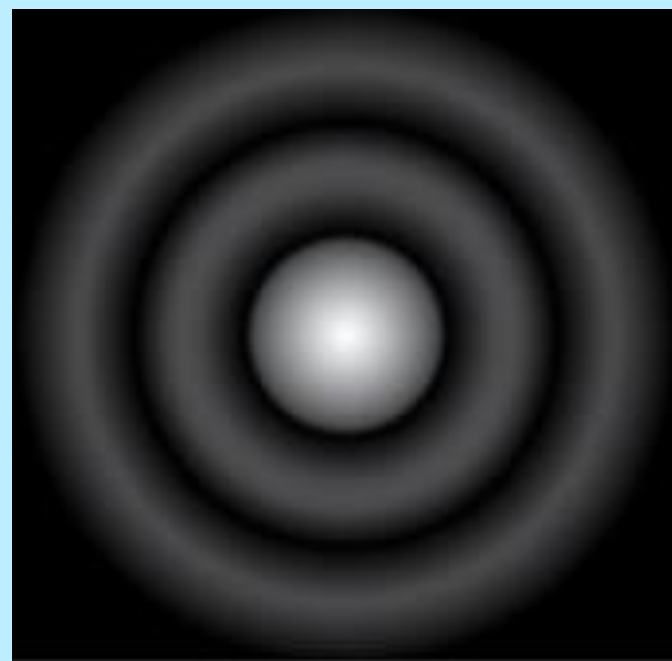
- odraz a lom paprsku
 - **difrakční (ohybové) jevy**
- kvůli difrakčním jevům se ideální bod nezobrazí jako bod, ale jako poněkud rozmazaná malá ploška, tzv. **Airyho kroužek**



Rayleighovo kritérium

Na vzniku obrazu se podílejí:

- odraz a lom paprsku
 - **difrakční (ohybové) jevy**
- kvůli difrakčním jevům se ideální bod nezobrazí jako bod, ale jako poněkud rozmazaná malá ploška, tzv. **Airyho kroužek**



<http://www.edmundoptics.com/technical-resources-center/optics/comparison-of-optical-aberrations/>

Rayleighovo kritérium:

- dva body jsou rozlišené,
pokud nulté maximum jednoho
kroužku právě splývá s prvním
minimem druhého kroužku (A)



nulté maximum

první minimum



A)

B)

A – rozlišené body

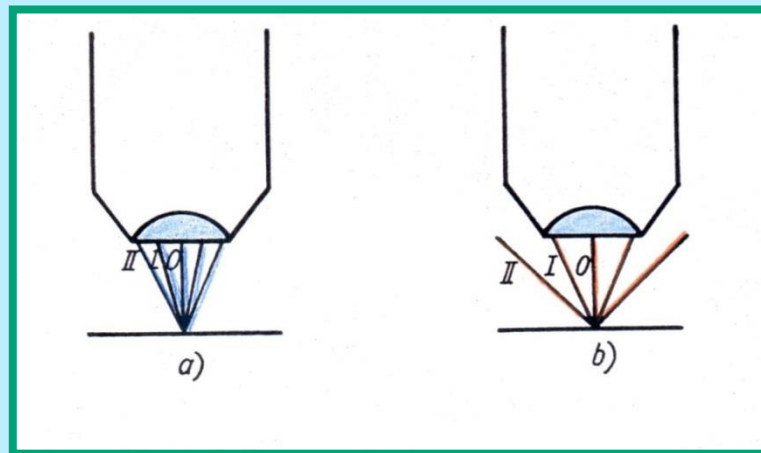
B – nerozlišené body

Rozlišovací schopnosti mikroskopu závisí na velikosti otvorového úhlu (průměru objektivu), ale i na **vlnové délce** elektromagnetického záření užitého k osvětlení objektu:

- pokud je vlnová délka dlouhá a objekt velmi malý, nebudou vlny rušeny a objekt zůstane neviditelný
- při **použití kratší vlnové délky** bude teoretická rozlišovací schopnost mikroskopu **lepší**

Vliv vlnové délky na rozlišení struktury

- při použití kratší vlnové délky bude teoretická rozlišovací schopnost mikroskopu lepší



0, I, II – maxima nultého, prvního a druhého řádu

Pazourek, 1975

Při $NA_{obj} = 1,4$ (s imerzí)

d pro modré světlo (380 nm) = 170 nm

d pro červené světlo (780 nm) = 340 nm

d pro běžně používané bílé světlo (cca 550 nm) = cca 240 nm

pro $NA_{obj} = 1,25$ (školní mikroskop) = cca 270 nm

d = vzdálenost mezi body