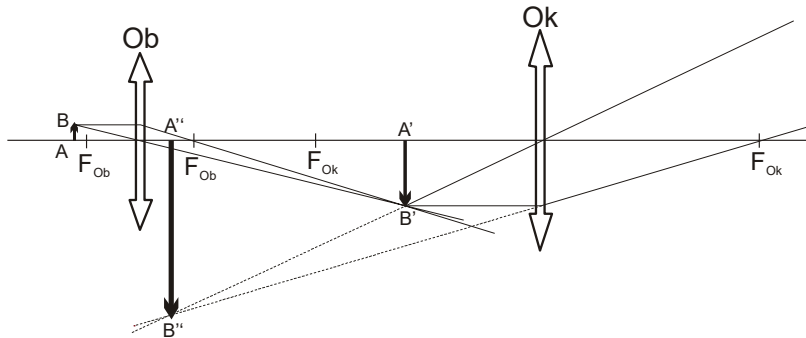


D14. Analiza mikrostruktur biologicznych za pomocą mikroskopu cyfrowego

Celem ćwiczenia jest poznanie budowy i zasady działania mikroskopu optycznego oraz możliwości badawczych i pomiarowych mikroskopu cyfrowego.

Mikroskop jest układem optycznym, składającym się z dwóch **soczewek** skupiających: **obiektywu**, który daje powiększony, odwrócony i rzeczywisty obraz $A'B'$ przedmiotu AB , i **okularu**, który - działając jak **lupa** - daje z kolei powiększony, prosty i pozorny obraz $A''B''$ pierwszego obrazu, czyli $A'B'$.



Rys. 1. Konstrukcja obrazu w mikroskopie

Powiększenie mikroskopu równe – w przybliżeniu – iloczynowi powiększenia obiektywu i okularu jest zdefiniowane jako:

$$p = \frac{l \cdot D}{f_{ob} \cdot f_{ok}}, \quad (1)$$

gdzie l – jest długością tubusa, D – odległością dobrego widzenia, a f_{ob} i f_{ok} – **ogniskowymi** obiektywu i okularu.

Zdolność rozdzielcza mikroskopu – to wielkość, która charakteryzuje mikroskop pod względem rozróżniania drobnych szczegółów badanego przedmiotu. Określamy ją, jako odwrotność najmniejszej odległości d pomiędzy punktami, które jeszcze rozróżniamy jako oddzielne, a więc:

$$z = \frac{1}{d} = \frac{n \cdot \sin u}{\lambda}. \quad (2)$$

Wyrażenie:

$$n \sin u = A \quad (3)$$

nazywa się **aperturą numeryczną obiektywu mikroskopu**, gdzie n oznacza współczynnik załamania światła ośrodka pomiędzy obiektywem a oglądanym przedmiotem, u - jest połową kąta, jaki tworzą skrajne promienie wchodzące do obiektywu.

Mikroskop jest tym lepszy, im większą ma zdolność rozdzielczą, gdyż tym więcej szczegółów można rozróżnić w badanym przedmiocie. Zdolność rozdzielczą mikroskopu można **zwiększyć** poprzez:

wprowadzenie pomiędzy badany przedmiot a obiektyw tzw. *cieczy immersyjnej*, o dużym współczynniku załamania n (tzw. **mikroskop immersyjny**) lub poprzez zastosowanie promieniowania o krótszej długości fali λ . Najkrótsze fale uzyskuje się w tzw. **mikroskopie elektronowym**, w którym **fale materii de Broglie'a**, towarzyszące poruszającym się elektronom, mają długość rzędu $10^3 - 10^4$ razy mniejszą niż fale świetlne.

Mikroskop cyfrowy, którym posługiwać się będziemy w niniejszym ćwiczeniu, zaopatrzony jest w aparat cyfrowy. Otrzymany – dzięki układowi soczewek – powiększony obraz przedmiotu jest kierowany na światłoczułą matrycę. Oglądane obiekty są powiększane, fotografowane lub

filmowane, a zdjęcia przesyłane do komputera. Zrobione zdjęcia i filmy mogą być zachowane i rejestrowane w komputerze. Mikroskop cyfrowy pozwala na badanie i obserwację mikroobъекtów różnego rodzaju, a dzięki specjalnemu oprogramowaniu, również na precyzyjny pomiar długości, kątów i powierzchni obserwowanych obiektów.

W niniejszym ćwiczeniu mikroskop cyfrowy posłuży nam do badania przekroju poprzecznego drewna. Zarejestrujemy obraz wybranego fragmentu próbki drewna, odczytamy promienie kilku kapilar, obliczymy ile ich przypada na jednostkę powierzchni przekroju drewna i obliczymy wysokość wzniesienia kapilarnego.

Literatura uzupełniająca:

1. S. Przystalski , Fizyka z elementami biofizyki i agrofizyki, Część I, rozdz.4

Zobacz też:

symulacje komputerowe na stronie internetowej *Katedry Fizyki i Biofizyki*

(<https://sparrow.up.poznan.pl/kfb/>) (zakładka: Symulacje zjawisk fizycznych).

D14. Protokół pomiarów i obliczeń

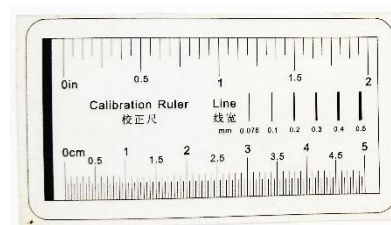
Nr pary	Imię i nazwisko studenta	Wydział
		grupa
data	Imię i nazwisko prowadzącego	Zaliczenie

Wykonanie ćwiczenia

Przyrządy: mikroskop cyfrowy z kamerą, monitor, skala milimetrowa, próbki drewna.

Przed przystąpieniem do wykonania ćwiczenia zalecane jest zapoznanie się z instrukcją obsługi mikroskopu cyfrowego dostępną jako materiał dodatkowy do ćwiczenia.

1. Włącz mikroskop, kamerę i monitor.
2. Obniż stolik mikroskopu na najniższe położenie za pomocą śruby makrometrycznej. Ustaw do obserwacji obiektyw o powiększeniu **4x** (oznaczony kolorem czerwonym).
3. Na stoliku mikroskopu połóż równo skalę milimetrową (rys.1). Za pomocą śruby makro- i mikrometrycznej ustaw ostry obraz oglądanego fragmentu skali.
4. Dokonaj kalibracji mikroskopu dla wybranego obiektywu. W tym celu włącz funkcję kalibracji na pasku menu na górze ekranu (przycisk **Calibration**).
5. W oknie kalibracji w polu **Magnification** wybierz aktualny obiektyw (4x).
6. Przeciągnij za pomocą myszy linię, która pojawiła się po włączeniu funkcji kalibracji, między dwoma punktami skali o znanej odległości i wpisz jej wartość (w mm) w polu **Actual Lenght**, wybierając jednocześnie jednostkę **Millimeter**.
7. Odczytaj i zapisz rozdzielczość mikroskopu (**Resolution**).



Rys.1. Skala milimetrowa.

Rozdzielczość mikroskopu po kalibracji =

8. Zapisz ustawienia przyciskiem OK i zamknij okno kalibracji.
9. Zdejmij z podstawki mikroskopu skalę milimetrową i w jej miejsce umieść badaną próbkę drewna. Ustaw ostry obraz próbki za pomocą śruby mikrometrycznej.
10. W górnym pasku menu wybierz narzędzie pomiarowe **Center + Radius** lub **Three Points** i zaznacz fragment oglądanego obrazu, jako pole obserwacji Odczytaj lub oblicz jego powierzchnię **S** i zapisz w tabeli.
11. Policz, ile kapilar znajduje się w wybranym polu obserwacji i liczbę tę zapisz jako **N**. Kapilary to białe, koliste obszary widoczne na próbce.
12. Korzystając z tych samych narzędzi pomiarowych (p.10) dopasuj wielkość rysowanych okręgów do co najmniej 7 – 8 kapilar i odczytaj wartości średnicy **d**. W razie konieczności przesuń stolik mikroskopu by obserwować inny obszar próbki. Oblicz promienie **r** mierzonych kapilar i zapisz je w tabeli.

Tabela

Powierzchnia pola obserwacji S [cm ²]	Ilość kapilar w polu obserwacji N	Ilość kapilar, przypadająca na 1 cm ² N/S [1/cm ²]	Promień kapilary r [mm]	Wysokość wzniesienia kapilarnego h [m]
			1/ 2/ 3/ 4/ 5/ 6/ 7/ 8/	$h_{max} =$ $h_{min} =$

Opracowanie wyników

1. Znając ilość kapilar N w polu obserwacji S , oblicz, ile kapilar przypada średnio na jednostkę pola przekroju poprzecznego drewna, np. na 1 cm² (w tym celu odczytaną lub obliczoną w mm² wartość S wyraż w cm²)
2. Znając promienie kapilar r , oblicz wysokość wzniesienia kapilarnego h dla najwęższej i najszerzej kapilary (czyli dla r_{min} i r_{max}), korzystając ze wzoru:

$$h = \frac{2\alpha}{r \cdot \rho \cdot g},$$

gdzie: napięcie powierzchniowe wody $\alpha = 70 \cdot 10^{-3}$ N/m, przyspieszenie ziemskie $g = 9.81$ m/s², a gęstość wody ρ w [kg/m³] odczytaj w tablicach fizycznych dla zmierzonej temperatury pomiaru.

Uwaga! Wartości promieni kapilar r wstawiamy do wzoru w metrach!

3. Dla obliczonych wartości wzniesienia kapilarnego h_{min} i h_{max} oblicz błędy pomiarowe metodą logarytmiczną, korzystając ze wzoru: $\Delta h = h \left| \frac{\Delta r}{r} \right|$ i zestaw je z otrzymanymi wynikami h_{min} i h_{max} w postaci: $(h \pm \Delta h)$ jedn.