

СТРОЕНИЕ МИКРОСКОПА И ПРАВИЛА РАБОТЫ С НИМ

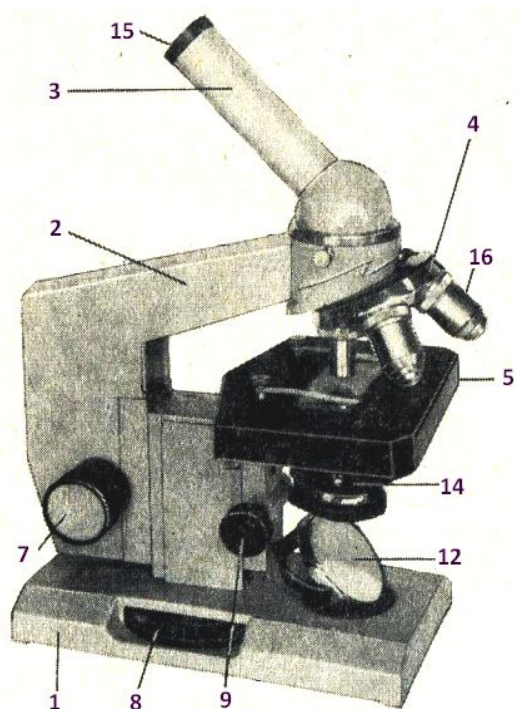
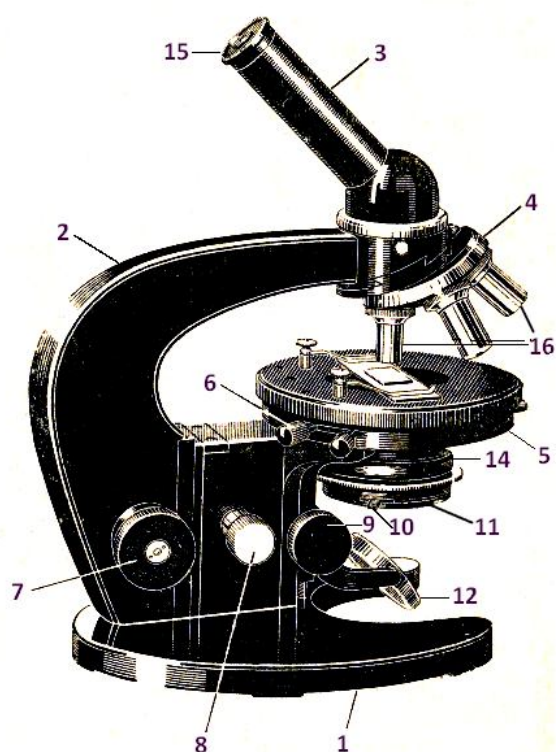
Микроскопический метод (гр. micros — мельчайший, scireo — смотрю) позволяет изучать структуру клетки с помощью микроскопов (светового, фазово-контрастного, люминесцентного, ультрафиолетового, электронного). При световой микроскопии объект рассматривается в лучах видимого света. Для этого используются микроскопы типа МБР, МБИ, МБС-1, Р-14, МИКМЕД — 1 и др.

Микроскоп состоит из механической, осветительной и оптической частей.

К **механической части** микроскопа относятся: подставка штатива (башмак), колонка штатива (тубусодержатель), тубус, предметный столик с клеммами или фиксаторами препарата, сортировочные винты (винты перемещения предметного столика и препарата), револьвер, макро- и микрометрические винты, винт конденсора, рычаг ирис-диафрагмы, оправа для светофильтров. Сортировочные винты применяются для центровки объекта на препарате. Револьвер состоит из двух сегментов шара, соединенных друг с другом центральным винтом. Верхний сегмент шара крепится к тубусу. В нижнем сегменте имеются отверстия для вкручивания объективов. Макро- и микрометрические винты обеспечивают грубую и микрометрическую фокусировку (изменяют расстояние между объективом и изучаемым объектом).

Осветительная часть состоит из подвижного зеркала, ирис-диафрагмы, конденсора и светофильтров (матового и синего). Зеркало служит для улавливания света и направления его на препарат (объект). Зеркало имеет две поверхности - плоскую и вогнутую. Плоская поверхность зеркала используется при ярком освещении, вогнутая - при слабом. Диафрагма состоит из системы металлических пластин, которые за счет движения рычага могут сходиться к центру или расходиться. Диафрагма находится под конденсором и служит для изменения ширины светового пучка. Конденсор (система линз) концентрирует рассеянные лучи света в тонкий пучок параллельных лучей и направляет их на объект. Он передвигается специальным винтом вверх — вниз, что позволяет установить оптимальное освещение препарата. Обычное положение конденсора самое верхнее. Светофильтры устраняют дифракцию света. Они располагаются в специальной откидной оправе, находящейся под ирис-диафрагмой. Матовый светофильтр используется при рассеянном освещении, синий — при ярком свете.

Увеличительные приборы: **микроскоп МБР-1** и **микроскоп Р-14**.



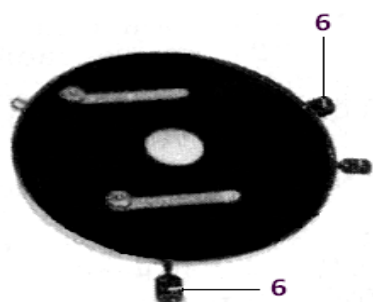
Механическая часть: 1 - подставка штатива (основание); 2 - колонка штатива (тубусодержатель); 3 - тубус; 4 - револьвер; 5 - предметный столик; 6 - сортировочные винты; 7 - макрометрический винт; 8 - микрометрический винт; 9 - винт конденсора; 10 - рычаг ирис-диафрагмы, 11 - оправа для светофильтров.

Осветительная часть: 12 – зеркало; 13 - диафрагма; 14 – конденсор.

Оптическая часть: 15 - окуляр; 16 - объективы.

Предметный столик Диафрагма и конденсор

**Предметный столик
(вид снизу)**



Оптическая часть состоит из объективов (система линз, обращенная к объекту), которые расположены в гнездах револьвера, и окуляров (система линз, обращенная к глазу исследователя). Окуляры вставляются в верхнее отверстие тубуса. Обычно, микроскопы комплектуются тремя объективами (8х - объектив малого увеличения, 40х - объектив большого увеличения, 90х - иммерсионный объектив). В соответствии с этим на объективе имеется маркировка 8, 40 или 90. На окулярах также имеется маркировка, указывающая кратность их увеличения. Чаще всего используют окуляры с увеличением 7, 10 и 15 раз.

Общее увеличение микроскопа (величина, показывающая во сколько раз линейные размеры изображения больше линейных размеров объекта) равно произведению увеличений окуляра и объектива. Например, при работе с окуляром 10х и объективом 8х происходит увеличение линейных размеров объекта в 80 раз ($8 \times 10 = 80$).

Важнейшей характеристикой светового микроскопа является разрешающая способность. Разрешающая способность (d) — минимальное расстояние между двумя точками объекта, которые видны отдельно. Она определяется по формуле:

$$d = 0,61 \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha}$$

где λ — длина волны света, n — показатель преломления среды между объектом и объективом, α — угол между оптической осью объектива и наиболее отклоненным лучом, попадающим в объектив. Величина « $n \cdot \sin \alpha$ » называется числовой апертурой объектива. У объектива «8х» она равна 0,20; у объектива «40х» — 0,65; у объектива «90х» — 1,25. Предел разрешающей способности микроскопа зависит от длины волны источника света. У светового микроскопа она равна 555 нм. Поэтому современные оптические микроскопы имеют предел полезного увеличения до 1500 раз.

Правила работы с микроскопом на малом увеличении (объектив 8х).

1. Перед началом работы проверить исправность микроскопа, протереть линзы окуляра, объективов, конденсора и зеркало салфеткой. Развинчивать окуляры и объективы запрещено.

2. Микроскоп расположить на рабочем месте слева, на ширину ладони от края стола, тубусодержателем к себе и предметным столиком от себя.

3. Поднять конденсор и поставить его на уровне предметного стола, открыть диафрагму.

4. Движением револьвера довести до щелчка объектив малого увеличения «8х» (щелчок свидетельствует о том, что оптическая ось окуляра и объектива совпадают).

5. Вращением макрометрического винта расположить объектив «8х» на 1 см от предметного столика.

6. Осветить поле зрения: глядя в окуляр, поворачивать зеркало большим и указательным пальцами одной или обеих кистей рук по отношению к источнику света до тех пор, пока всё поле зрения не будет освещено равномерно и достаточно интенсивно. Пальцы располагать на боковой поверхности зеркала так, чтобы ими не закрывать само зеркало. Микроскоп с этого момента нельзя перемещать на рабочем месте.

7. Взять препарат из гистологической коробки большим и указательным пальцами за боковые поверхности предметного стекла. Проверить, где лицевая сторона препарата (на лицевой стороне находится покровное стекло). Рассмотреть препарат на свет. Определить место нахождения объекта. Положить препарат на предметный столик микроскопа лицевой стороной вверх так, чтобы сам объект находился в центре отверстия предметного столика.

8. Глядя сбоку, с помощью макрометрического винта, опустить объектив малого увеличения на расстояние 0,5 см от препарата, т. е. ниже фокусного.

9. Глядя в окуляр, движением макрометрического винта на себя, плавно поднять тубус вверх до появления четкого изображения объекта.

10. С помощью сортировочных винтов или плавных движений пальцев руки объект, или интересующую нас часть объекта, вывести в центр поля зрения, после чего приступить к изучению препарата и зарисовке его в альбом.

11. По окончании изучения препарата макрометрическим винтом поднять объектив «8х» на 2 — 3 см. Препарат снять с предметного столика и положить в гистологическую коробку.

12. По окончании работы на предметный столик положить салфетку, объектив «8х» опустить вниз на расстояние 0,5 см от предметного столика. Микроскоп накрыть чехлом и поставить на место хранения. При переносе микроскопа необходимо одной рукой держать микроскоп за штатив, а другой поддерживать зеркало снизу.

Правила работы с микроскопом на большом увеличении (объектив 40х).

1. При работе с микроскопом на большом увеличении сначала необходимо выполнить все пункты правил работы с объективом «8х» (см. пункты 1 — 10).

2. После нахождения объекта на малом увеличении необходимо вывести интересующую нас часть точно в центр поля зрения с помощью сортировочных винтов (при переходе к большому увеличению диаметр фронтальной линзы объектива уменьшается в 5 раз, поэтому если не сделать центровку, объект может оказаться за пределами поля зрения).

3. Макрометрическим винтом поднять объектив вверх на 2 — 3 см и с помощью револьвера заменить объектив «8х» на объектив «40х».

4. Глядя сбоку, макрометрическим винтом опустить объектив «40х» так, чтобы расстояние между ним и препаратом составило 1 мм, т. е. объектив оказался ниже фокусного расстояния.

5. Глядя в окуляр, макрометрическим винтом плавно поднять тубус вверх до появления изображения объекта.

6. Дофокусировку провести с помощью микрометрического винта, который разрешается вращать вперед или назад не более чем на пол-оборота.

7. Изучить препарат. Зарисовать.

8. По окончании изучения препарата макрометрическим винтом объектив «40х» поднять вверх на 2-3 см. Препарат снять со столика и положить в гистологическую коробку. Поворотом револьвера заменить объектив «40х» на объектив «8х», на предметный столик положить салфетку. С помощью макрометрического винта опустить объектив «8х» на расстояние 0,5 см. Микроскоп закрыть чехлом и поставить на место хранения.

Работа с иммерсионным объективом (объектив 90х).

Объектив «90х» применяется при работе с очень мелкими и тонкими объектами. Пространство между объективом и препаратом заполняется специальным иммерсионным маслом. Масло имеет показатель преломления, приближающийся к показателю преломления стекла, поэтому световые лучи попадают в объектив, не преломляясь и не изменяя направления при прохождении различных сред. Иммерсионный объектив требует осторожного обращения, так как его фронтальная линза имеет маленькое

фокусное расстояние и при грубой работе можно повредить и объектив, и препарат.

1. Прежде, чем приступить к работе с объективом «90х», необходимо найти объект при увеличении 56х, а затем 280х. Точно вывести интересующую часть объекта в центр поля зрения с помощью сортировочных винтов, т.к. необходимо помнить обратную зависимость между силой увеличения и диаметром фронтальной линзы.

2. Макрометрическим винтом поднять объектив «40х» вверх на 2 –3 см. На исследуемый участок препарата нанести стеклянной палочкой каплю иммерсионного масла. Капля не должна быть очень большой или очень малой. С помощью револьвера заменить объектив «40х» на объектив «90х».

3. Глядя сбоку, макрометрическим винтом опустить объектив «90х» в каплю масла почти до соприкосновения с покровным стеклом, т. е. ниже фокусного расстояния.

4. Глядя в окуляр, макрометрическим винтом плавно поднять объектив «90х» вверх до появления изображения.

5. Пользуясь микрометрическим винтом, добиться четкого изображения объекта; приступить к его изучению и зарисовке в альбом (при необходимости).

6. После окончания изучения препарата макрометрическим винтом поднять объектив «90х» вверх на 2-3 см над столиком. Препарат снять, стереть масло полоской фильтровальной бумаги и протереть салфеткой. Препарат положить в гистологическую коробку. Линзу объектива «90х» также протереть полоской фильтровальной бумаги, а затем салфеткой. В случае сильного загрязнения, когда масло засыхает, объектив рекомендуется протереть салфеткой, смоченной бензином.

7. С помощью револьвера заменить объектив «90х» на объектив «8х». На предметный столик положить салфетку. Макрометрическим винтом объектив «8х» опустить вниз на расстояние 0,5 см от предметного столика. Микроскоп закрыть чехлом и поставить на место постоянного хранения.

Подготовила: доцент Логишинец И.А.

Литература:

1. Бекиш О.-Я.Л., Никулин Ю.Т. Практикум по биологии (для студентов 1-го курса фармацевтического факультета).- Витебск, 1997.- 90с.
2. <http://wikipedia.ru>