

Физические принципы оптической микроскопии, сахариметрии, рефрактометрии

Лектор: к.т.н., Якимов А.Н.

Кафедра медицинской и биологической
физики, медицинской информатики,
биостатистики

**ГУ «Луганский государственный
медицинский университет»**

ВВЕДЕНИЕ

Оптика — это раздел физики, изучающий процессы излучения света, его распространения в различных средах и взаимодействия с веществом.

Оптическое излучение представляет собой электромагнитные волны, и поэтому оптика является частью общего учения об электромагнитном поле.

Свет имеет **двойственный** характер (корпускулярно-волновой дуализм). В одних оптических явлениях преобладают волновые свойства света (свет как электромагнитная волна) в других - корпускулярные (свет ведет себя как поток частиц).

ВВЕДЕНИЕ

В зависимости от круга рассматриваемых явлений оптику разделяют на

- **геометрическую**, в основе которой лежат понятия световых лучей;
- **волновую**, изучающую явления, в которых проявляются волновые свойства света;
- **квантовую**, изучающую взаимодействие света с веществом, в котором проявляются корпускулярные свойства света;

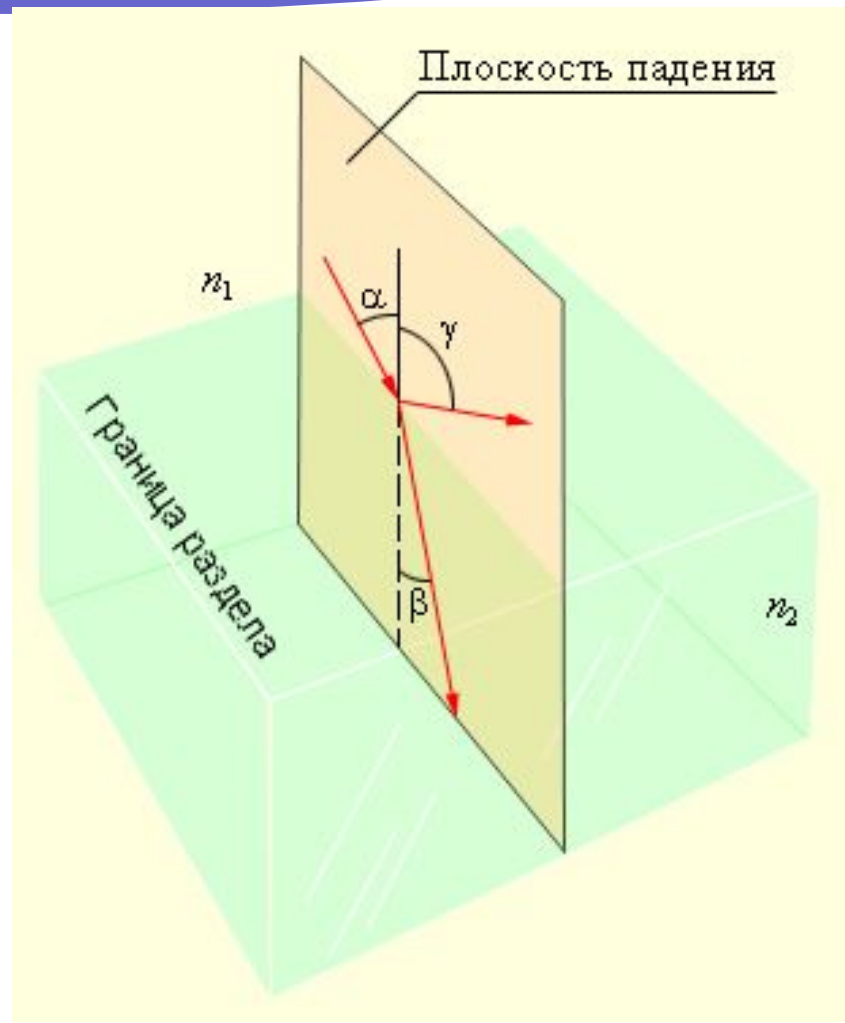
ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ ОПТИКА

Геометрическая или лучевая оптика - крайний случай волновой оптики, когда длина волны $\lambda \rightarrow 0$, т.е. длина волны намного меньше по сравнению с размером объектов.

Световой луч - первый элемент геометрической оптики, прямая линия, вдоль которой переносится световая энергия.

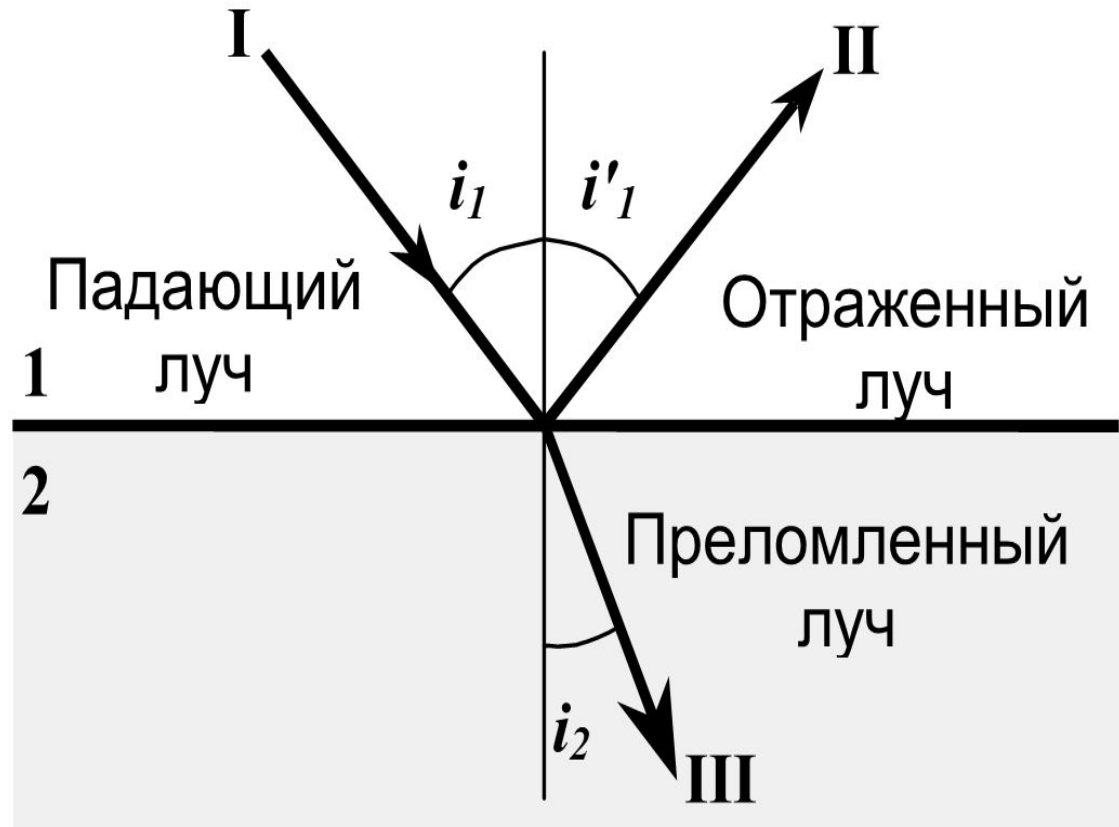
ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ ОПТИКА

Когда свет падает на границу двух сред, происходит отражение и преломление света.

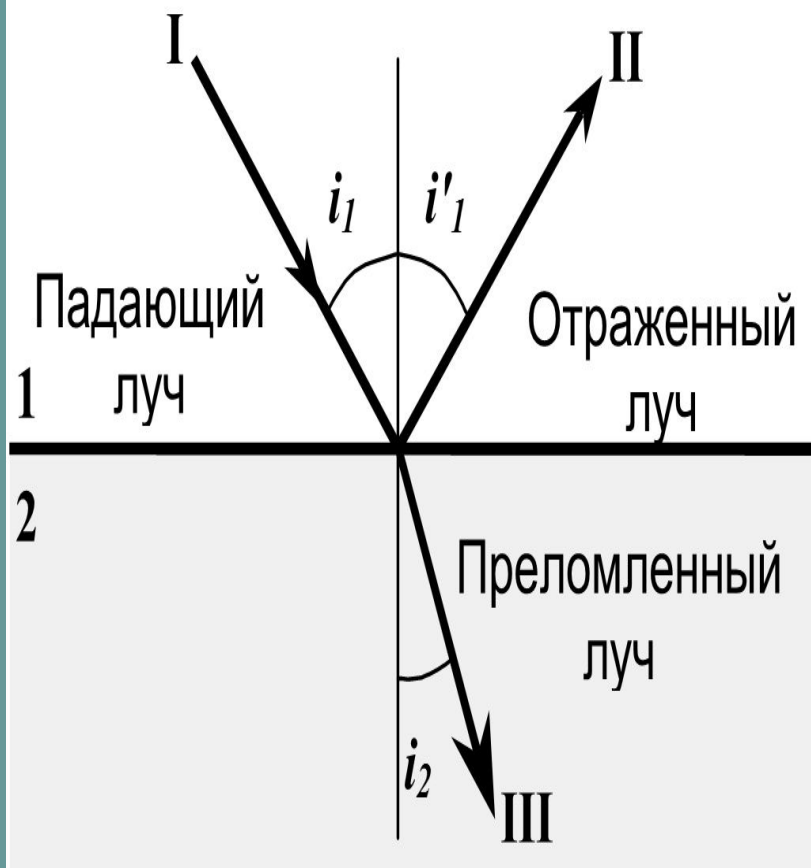


ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ ОПТИКА

1. Падающий (1) световой луч, отраженный (2) и преломленный (3) световые лучи, находятся в одной плоскости с нормалью к границе раздела двух сред в точке падения.



ЗАКОН ОТРАЖЕНИЯ



2. Угол отражения равен углу падения:

$$i'_1 = i_1$$

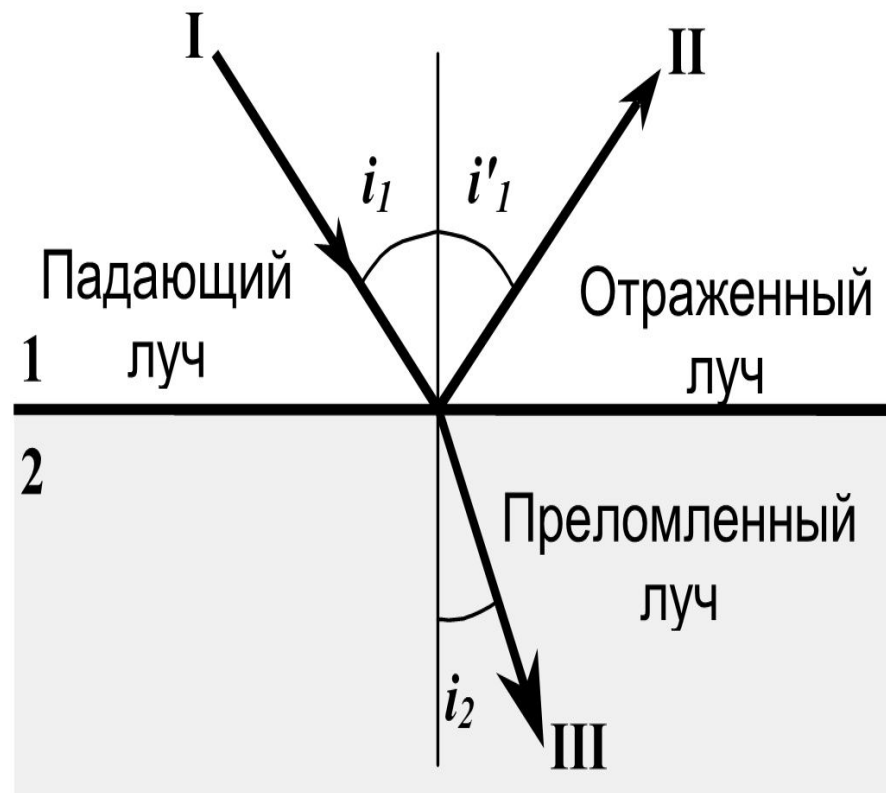
где угол падения (i_1) является углом между направлением распространения волны и нормальню к границе; угол отражения (i'_1) является углом между направлением распространения отраженной волны и нормалью к границе.

ЗАКОН ПРЕЛОМЛЕНИЯ

3. Отношения между синусом угла падения (i_1) и синусом угла преломления (i_2) являются постоянной величиной для двух данных сред:

$$\frac{\sin i_1}{\sin i_2} = n_{21}$$

где n_{21} - **относительный показатель преломления** второй среды относительно первой



ПОКАЗАТЕЛЬ ПРЕЛОМЛЕНИЯ

Преломление света происходит из-за **изменения фазовой скорости v** распространения света при переходе от одной среды к другому, и относительный показатель n_{21} преломления равен обратному отношению скоростей:

$$n_{21} = \frac{v_1}{v_2} \text{ ЭТИХ}$$

Абсолютным показателем преломления среды называется величина n , равная отношению скорости электромагнитных волн в вакууме c к их фазовой скорости v в среде.

$$n = \frac{c}{v}$$

ПОКАЗАТЕЛЬ ПРЕЛОМЛЕНИЯ

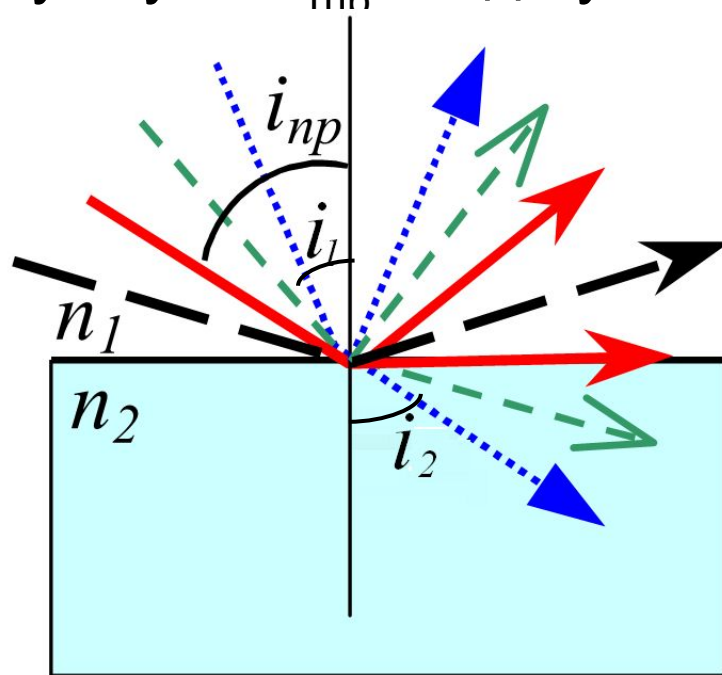
Относительный показатель преломления второй среды относительно первой равен отношению абсолютных показателей преломления двух сред:

$$n_{21} = \frac{n_2}{n_1}$$

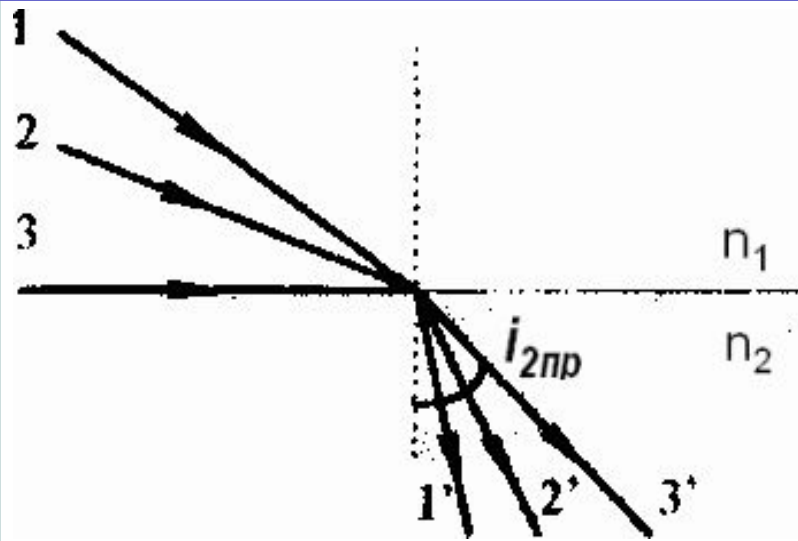
где $n_1 = c/v_1$ и $n_2 = c/v_2$ - абсолютные показатели преломления первой и второй среды. Если $n_{21} > 1$ ($n_2 > n_1$), вторая среда считается **оптически более плотной**, чем первая.

ПОЛНОЕ ВНУТРЕННЕЕ ОТРАЖЕНИЕ

Если свет из среды 1 с бóльшим показателем преломления падает на границу со средой с мёньшим показателем преломления 2 ($n_1 > n_2$), то угол $i_2 > i_1$ и $n_{21} < 1$. Существует угол $i_{1пр}$ когда угол отражения $i_2 = \pi/2$. При углах падения $i \geq i_{пр}$ ($\sin(i_{lim}) = n_{21}$) не будет преломленных волн и весь падающий свет **полностью отражается** оптически менее плотной средой



ПОЛНОЕ ВНУТРЕННЕЕ ОТРАЖЕНИЕ



называется

отражением света.

твующий угол $i_{1пр}$

УГЛОМ ПОЛНОГО

ражения.

вет из оптически менее

на границу раздела с

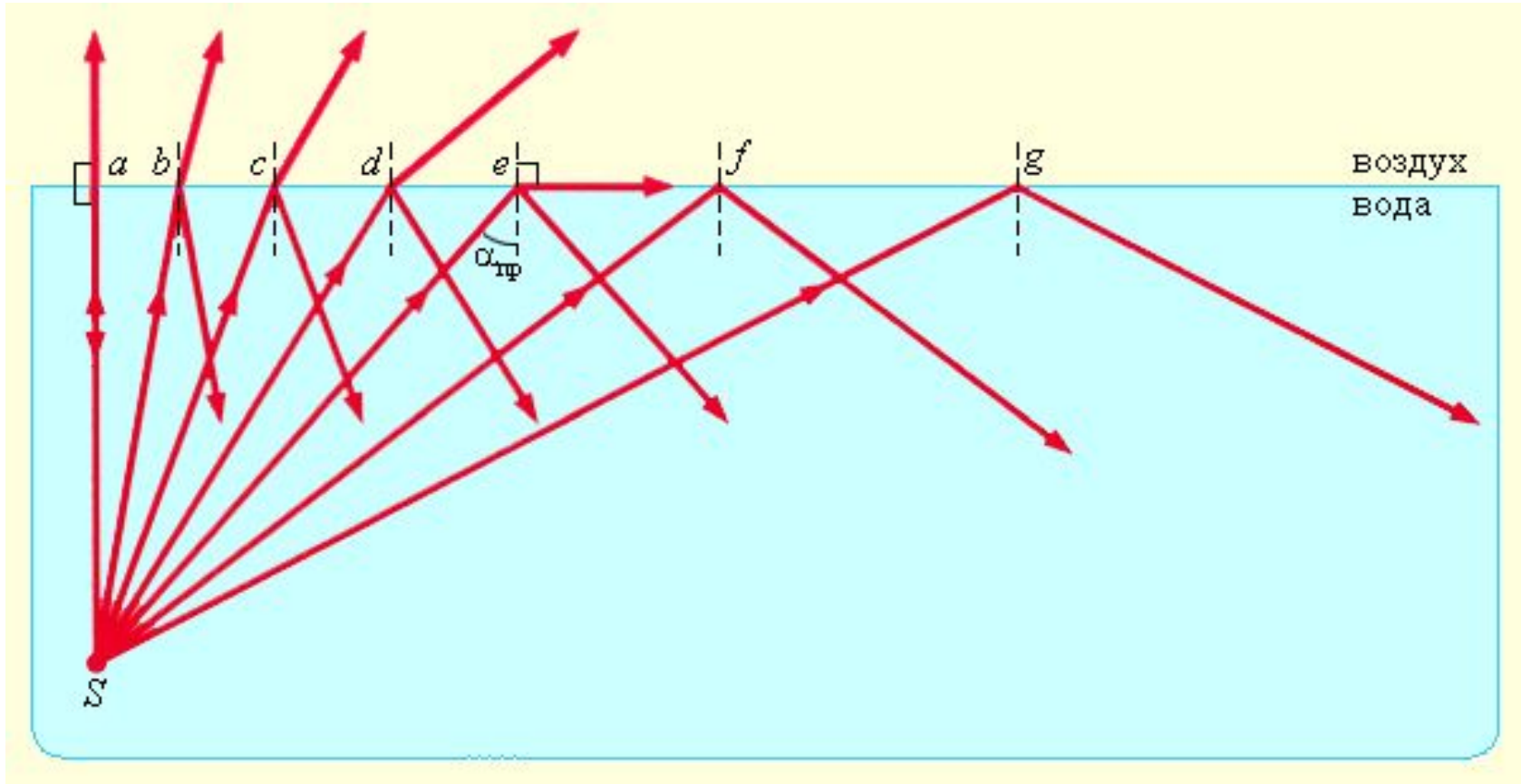
оптически более плотной средой 2 ($n_1 < n_2$),

существует максимальный угол ($i_2 \leq i_{2пр}$ и $\sin(i_{2lim}) = 1/n_{21}$)

преломления называемый предельным углом

преломления

ОТРАЖЕНИЕ И ПРЕЛОМЛЕНИЕ СВЕТА НА ГРАНИЦЕ ВОЗДУХА С ВОДОЙ



РЕФРАКТОМЕТРИЯ

Предельные углы преломления $i_{2\text{пр}}$ и полного внутреннего отражения $i_{\text{пр}}$ для данных сред зависят от их показателей преломления. Данное свойство применяется в устройствах для измерения показателей преломления веществ - **рефрактометрах**. Их используют в медицине для определения концентрации веществ в растворе (например, содержания белка в сыворотке крови и т. п.), что основано на зависимости показателя преломления раствора от концентрации растворенного вещества.

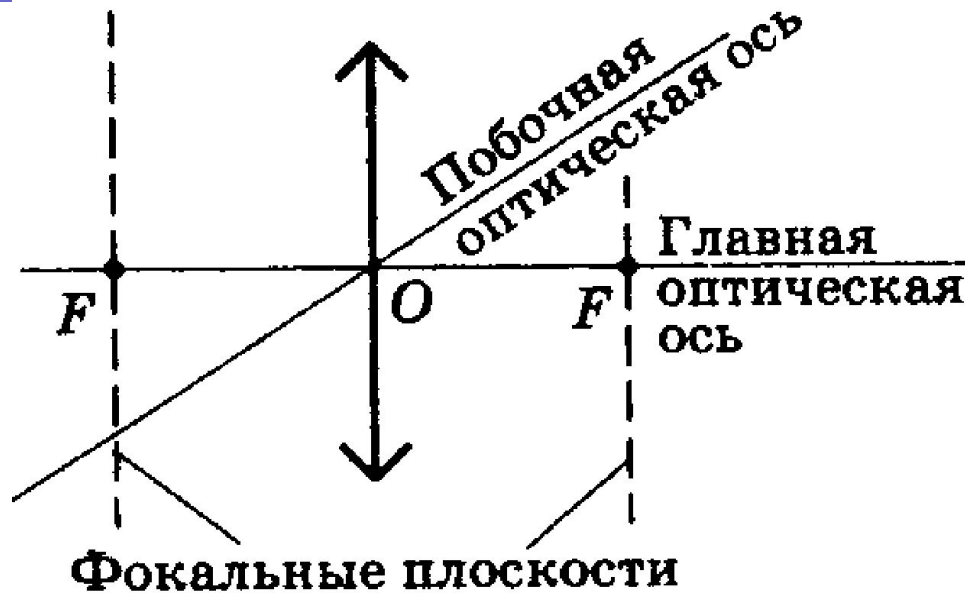
ТОНКИЕ ЛИНЗЫ

Линзой называется прозрачное тело, ограниченное с двух сторон криволинейной поверхностью. (В частном случае одна из поверхностей может быть плоской). Чаще всего, линзы имеют сферические поверхности.

Линза называется **тонкой**, если ее толщина значительно меньше, чем радиусы кривизны R_1 и R_2 обеих поверхностей. В противном случае она считается **толстой**. На оптических схемах линзы обычно обозначают двунаправленной стрелкой.

Прямая, проходящая через центры кривизны поверхностей линзы, называется **главной оптической осью**.

ТОНКИЕ ЛИНЗЫ



Точка "O" - **оптический центр линзы**. Главная плоскость линзы проходит через ее оптический центр перпендикулярно главной оси. Лучи проходят вдоль главных и побочных оптических осей линзы, не преломляясь.

ТОНКИЕ ЛИНЗЫ

$$\frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_2} = (n_{21} - 1) \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right),$$

где $n_{21} = n_2/n_1$; n_2 и n_1 - абсолютные показатели преломления материала линзы и окружающей среды; R_1 и R_2 - радиусы кривизны передней и задней поверхностей; a_1 и a_2 - расстояния до объекта и его изображение, измеренные от центра линзы вдоль ее главной оси.

ФОКУСНОЕ РАССТОЯНИЕ ТОНКОЙ ЛИНЗЫ

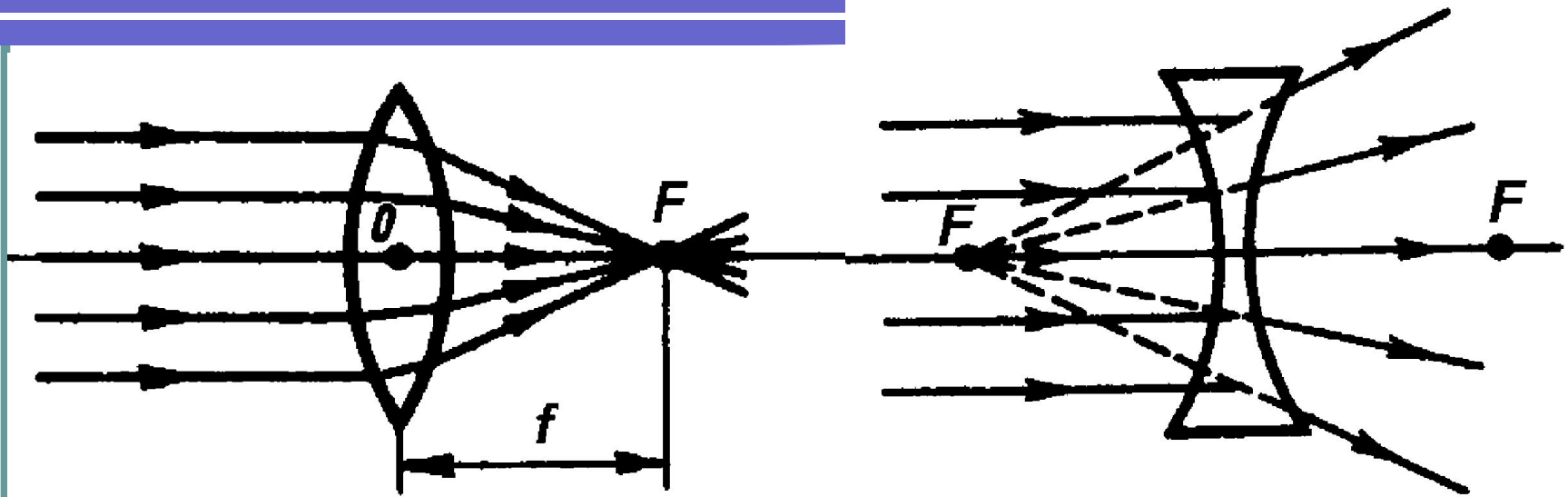
$$f = \frac{1}{(n_{21} - 1) \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)}$$

$$\frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_2} = \frac{1}{f},$$

Линза называется **собирающей** (положительной), если фокусное расстояние $f > 0$, **рассеивающей** (отрицательной) если $f < 0$.

Главными фокусами линзы F_1 и F_2 называются точки, лежащие на главной оптической оси, на расстоянии f по обе стороны от оптического центра линзы.

ОПТИЧЕСКАЯ СИЛА ЛИНЗЫ



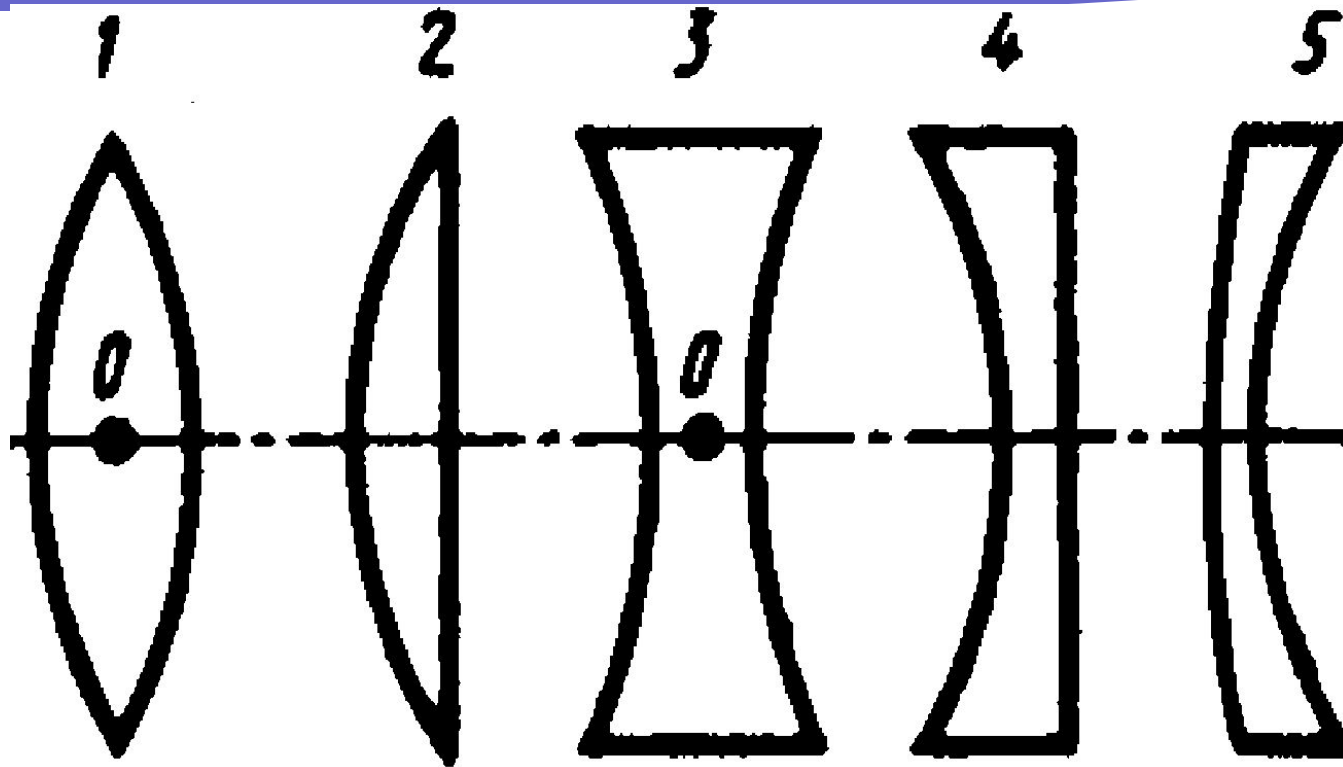
Величина $\Phi = 1/f$ называется **оптической силой линзы**. Ее единица — диоптрия (дптр) — оптическая сила линзы с фокусным расстоянием 1 м.

Следовательно,

$$[\Phi] = \text{дптр}; \quad 1 \text{ дптр} = 1/\text{м} = \text{м}^{-1}.$$

Для собирающих линз $\Phi > 0$; для рассеивающих $\Phi < 0$.

ТИПЫ ТОНКИХ ЛИНЗ



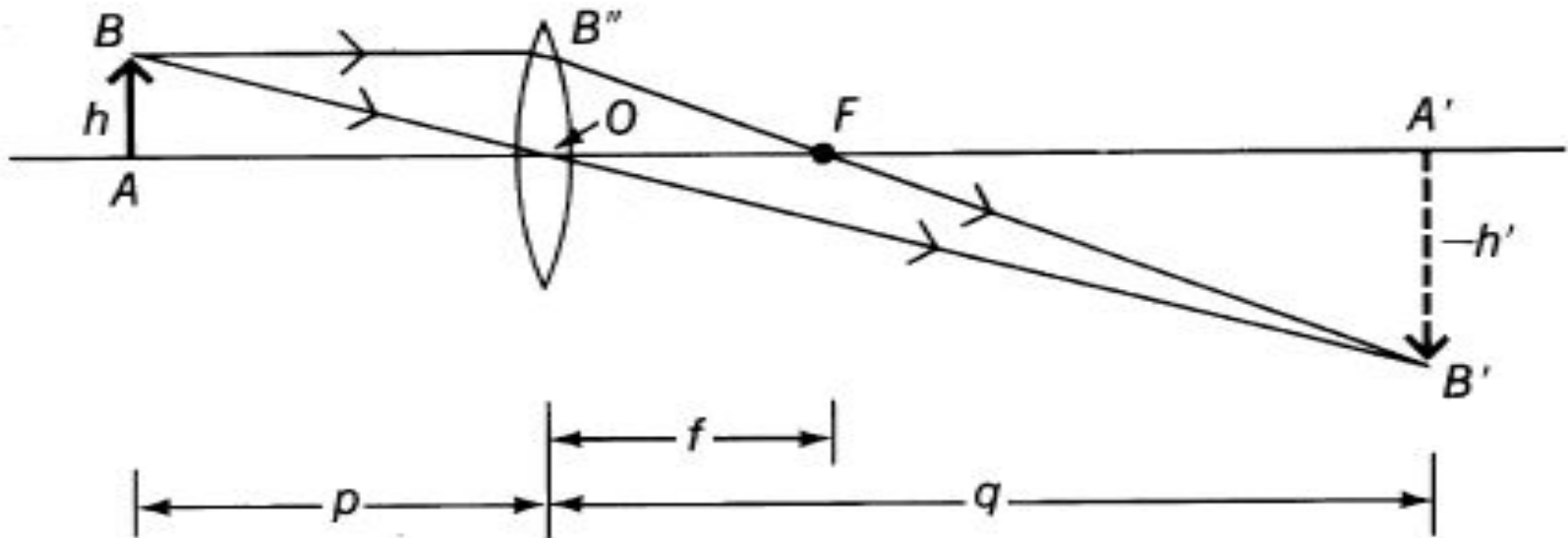
Типы линз: 1) двояковыпуклые; 2) плосковыпуклые; 3) двояковогнутые; 4) плосковогнутые; 5) выпукло-вогнутые.

ОСНОВЫ МИКРОСКОПИИ

Систему линз, помещенных один за другим, называют **составными линзами** или **оптической системой**. Оптическая система **сосредоточена**, если центры кривизны всех ее преломляющих поверхностей лежат на единственной прямой линии, названной основной оптической осью системы.

Элементарное оптическое устройство – **лупа**, собирающая линза или система линз с небольшим фокусным расстоянием (10-100 мм). Увеличение лупы от 2 до 50. Наблюдаемый объект (АВ) помещают в переднюю фокальную плоскость линзы или немного ближе.

ОСНОВЫ МИКРОСКОПИИ



$$m = \frac{h'}{h} = -\frac{q}{p}$$

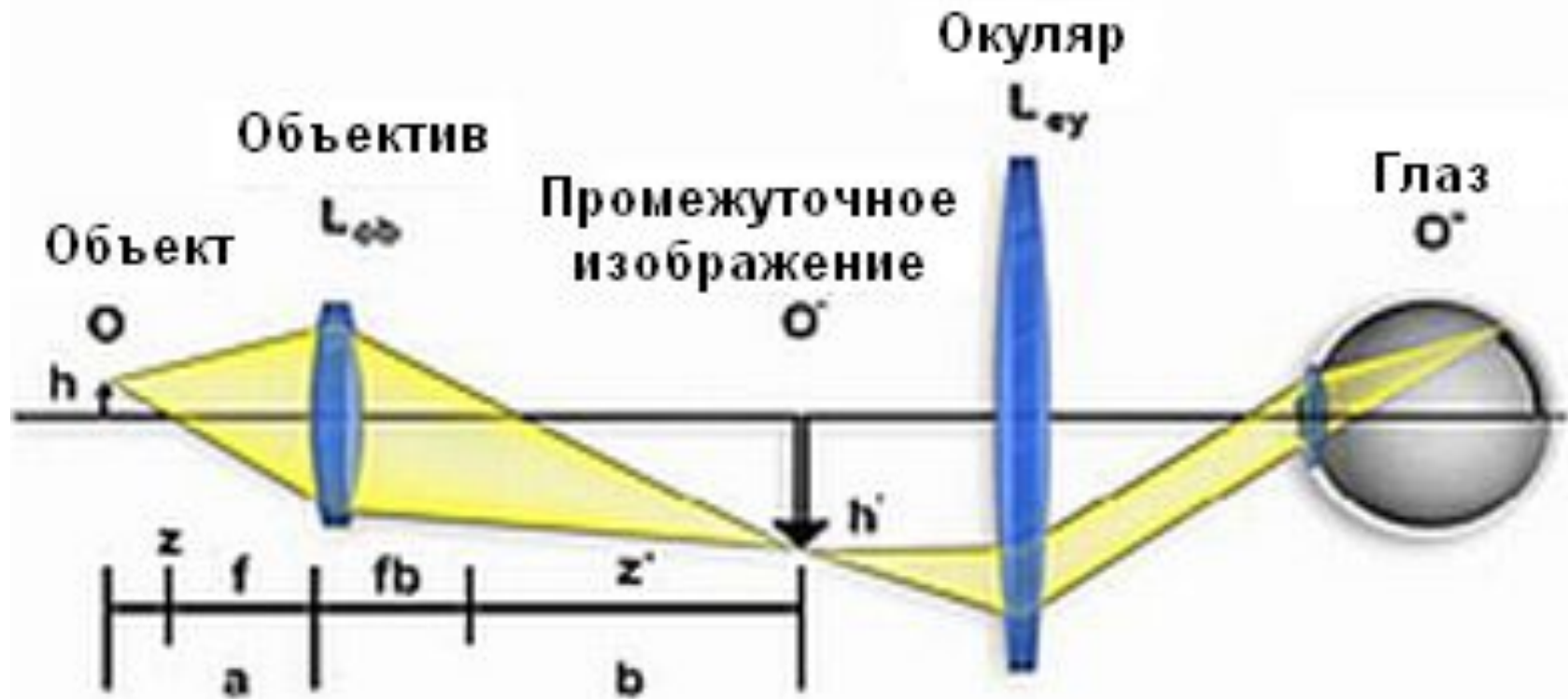
ОСНОВЫ МИКРОСКОПИИ

Одна из особенностей лупы - **увеличение** (Γ).
увеличение лупы - отношение визуальной высоты h' ,
когда объект наблюдается с помощью лупы к
визуальной высоте h , когда тот же самый объект
наблюдается глазом на расстоянии наилучшего
зрения ($q = 25$ см):

$$\Gamma = h' / h = q / p.$$

Увеличение показывает, во сколько раз размер изображения на сетчатке глаза в первом случае больше, чем во втором.

ОСНОВЫ МИКРОСКОПИИ



ОСНОВЫ МИКРОСКОПИИ

- Объект (O) высоты h преобразуется на сетчатке глаза в объект O'' . Линза объектива (L_{ob}) проецирует реальное и перевернутое изображение O , увеличенное до размера изображения O' в промежуточной плоскости микроскопа. Это происходит в диафрагме окуляра на фиксированном расстоянии ($f_b + z'$) позади цели. На этой диаграмме f_b представляет заднее фокусное расстояние цели, и z' является оптической длиной тубуса микроскопа. Промежуточное изображение O' далее увеличивается окуляром микроскопа (L_{ey}) и образует вертикальное изображение объекта O'' на сетчатке, которое кажется наблюдателю перевернутым.

ОСНОВЫ МИКРОСКОПИИ

- Увеличение микроскопа – произведение увеличения объектива на увеличение окуляра

$$\Gamma_M = \Gamma_{ob} \cdot \Gamma_{ey} \approx \frac{z' \cdot D}{f_{ob} \cdot f_{ey}}$$

z' – длина тубуса

f_{ob} – фокусное расстояние объектива

f_{ey} – фокусное расстояние окуляра

D - расстояние наилучшего зрения нормального глаза. $D = 25$ см

ПОЛЯРИЗАЦИЯ СВЕТА

В волновой оптике световые волны рассматриваются как электромагнитные волны.

Согласно **теории Максвелла**,

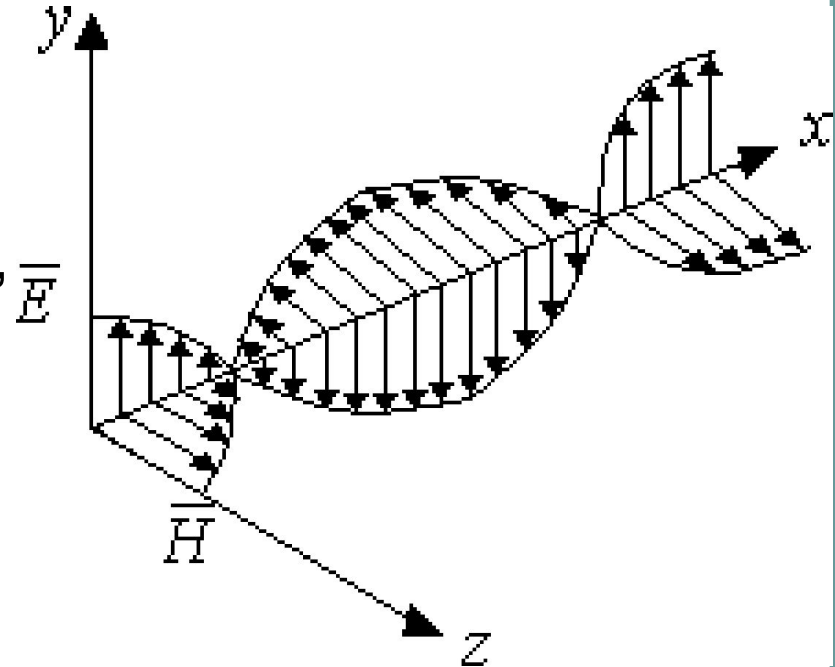
в электромагнитной волне синхронно колеблются

векторы \mathbf{E} (напряженность электрического поля) и \mathbf{H}

(напряженность магнитного

поля) Электромагнитные волны являются **поперечными**,

т.е. векторы \mathbf{E} , \mathbf{H} перпендикулярны направлению распространения волны \mathbf{v} и образуют с ним правовинтовую систему.

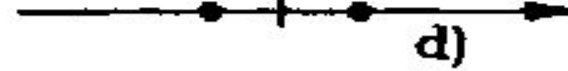
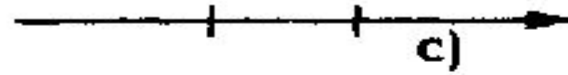
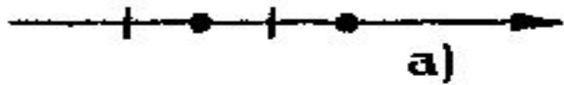


ПОЛЯРИЗАЦИЯ СВЕТА

Плоскость, где векторы \mathbf{E} и \mathbf{v} расположены, называют **плоскостью поляризации света**. И сам свет (излучение) называют **плоско поляризованным**, в более сложном случае, в электромагнитной волне, которую вектор \mathbf{E} (\mathbf{H} - соответственно) может вращаться однородно, при распространении света. Тогда такое излучение называют **циркулярно поляризованным**.

Свет представляет собой суммарное электромагнитное излучение множества атомов. Именно поэтому обычный свет не поляризован: направление вектора \mathbf{E} изменяется беспорядочно.

ПОЛЯРИЗАЦИЯ СВЕТА



Удобно показать обычный луч света (неполяризованный) как прямую линию, имеющую равное количество проекций в форме черточек и точек (a). Прямая линия с точками или чертами означает луч **плоско поляризованного** света (b, c). Свет, имеющий и обычные и поляризованные компоненты, называют **частично поляризованным**. Луч частично поляризованного света показывает различное число точек и черточек (d), их отношение отражает **степень поляризации**.

ПОЛЯРИЗАТОР

Устройство, позволяющее получить поляризованный свет из обычного, называют **поляризатором**.

Поляризатор пропускает только компонент вектора E (и соответственно H), который совпадает с некоторой плоскостью, названной главной плоскостью поляризатора. Поляризатор может также использоваться для анализа поляризованного света. В этом случае он называют **анализатором**.

Если обычный свет падает на поляризатор, то интенсивность плоско поляризованного света, проходящего через поляризатор, будет равна половине интенсивности падающего света.

ПОЛЯРИЗАТОР

Во время вращения главной плоскости поляризатора плоскость поляризации света, прошедшего через поляризатор, также вращается, но его интенсивность **постоянна** и равна половине интенсивности обычного падающего света.

Когда плоско поляризованный свет с амплитудой электрического вектора E_0 падает на поляризатор, только компонент вектора, E_0 , который параллелен плоскости поляризатора (E), проходит через него:

$$E = E_0 \cos \varphi$$

где φ - угол между плоскостью поляризации и плоскостью поляризатора.

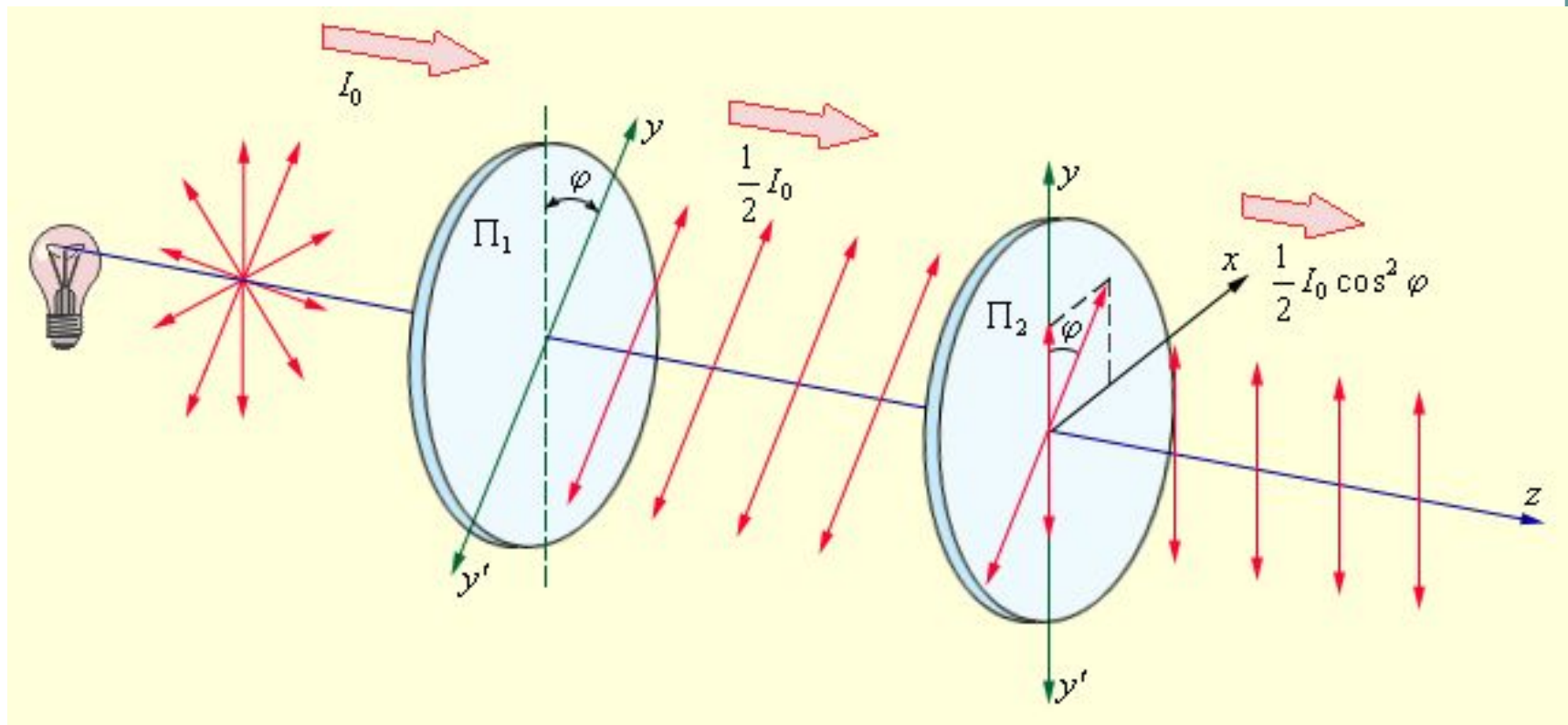
ЗАКОН МАЛЮСА

Поскольку интенсивность света пропорциональна квадрату амплитуды колебания,

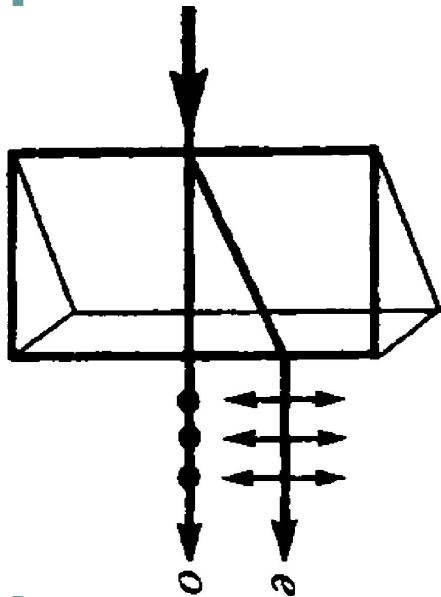
$$I = I_0 \cos^2 \varphi$$

где I_0 - интенсивность плоско поляризованных волн на входе ; I - интенсивность света после поляризатора.

ПОЛЯРИЗАЦИЯ СВЕТА

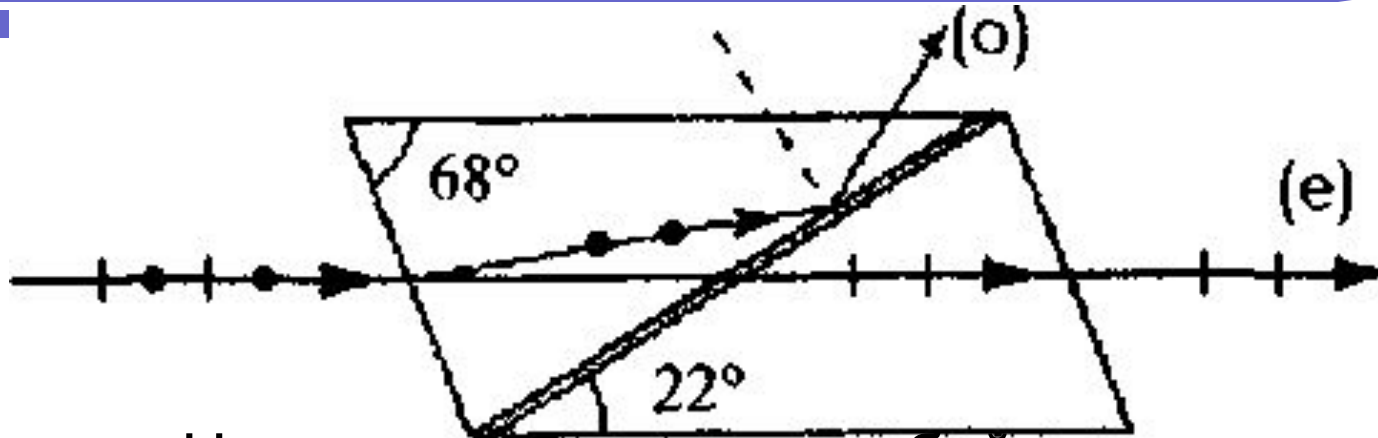


ДВОЙНОЕ ЛУЧЕПРЕЛОМЛЕНИЕ



Некоторые прозрачные кристаллы обладают свойством **двойного лучепреломления**: когда на такой кристалл падает свет, он разделяется внутри кристалла на два луча, распространяющихся с разными скоростями и в различных направлениях. Один из лучей удовлетворяет закону преломления и лежит в одной плоскости с падающим лучом и нормалью, и называется **обыкновенным** (o). Его показатель преломления не зависит от направления распространения луча. Показатель преломления **необыкновенного** луча (e) зависит от направления распространения луча, т.е. он не подчиняется закону преломления.

ПРИЗМА НИКОЛЯ



Призма Николя представляет собой две одинаковые треугольные призмы из исландского шпата, склеенные тонким слоем канадского бальзама. Призма Николя дает полностью поляризованный свет, его плоскость поляризации, находится в главной плоскости призмы.

Поляризаторы, произведенные из турмалина, герпатита и других кристаллов, основаны на некоторых других принципах.

ПОЛЯРИМЕТРИЯ

- Плоско поляризованный свет более упорядочен в пространстве по сравнению с обычным светом. У плоско поляризованного света есть постоянное положение плоскости поляризации. Некоторые вещества могут вращать плоскость поляризации проходящего через них света, в результате взаимодействия поляризованного света с веществом. Такие вещества называют **ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ**.

ПОЛЯРИМЕТРИЯ

- угол поворота **оптически активными** растворами:

$$\alpha = \alpha_0 \cdot C \cdot l$$

- где α - угол поворота плоскости поляризации, C – концентрация оптически активного вещества в растворе, l - толщина слоя раствора (длина кюветки), α_0 - постоянная вращения.
- Формула может использоваться и для идентификации молекул посредством определения α_0 для растворов известной концентрации (качественный анализ), и для определения концентрации известных веществ в растворах (количественный анализ).

ЗАКОН БИО

- Постоянная вращения α_0 оптически активного вещества зависит от температуры, свойств растворителя и длины волны света
- Зависимость α_0 от длины волны света называется **законом Био**

$$\alpha_0 \sim \frac{1}{\lambda^2}$$

- Зависимость $\alpha_0(\lambda)$ называется **дисперсией оптического вращения** и используется для исследования структуры нуклеиновых кислот и белка.
- Устройства для измерения дисперсии оптического вращения называют **спектрополяриметрами**.