

# MODERNIE OPTISKIE MIKROSKOPI

**ALEKSEJS KUZMINS**



Cilvēku acis var izšķirt tikai mazākais 0,1 mm sīkus objektus. Taču mūsu pasaulē ir lietas, kuru izmēri ir daudz mazāki, piemēram, organisma šūnas, baktērijas, šķiedras un mikrokristāli. Šādā gadījumā palīgā nāk mikroskopi. Vārds “mikroskops” ir cēlies no grieķu valodas – *mikros* nozīmē “mazs”, bet *skopeo* – “redzu”. Pirmais, tā saucamais “parastais mikroskops”, kas sastāv no vienas lēcas, ir zināms kopš 15.gadsimta. Holandiešu zinātnieks Antonijs Lēvenhūks (1632–1723) uzlaboja parastā mikroskopa palielinājumu līdz 300 reizēm un ar tā palīdzību 1683. gadā atklāja viensūņus un mikroorganismus.

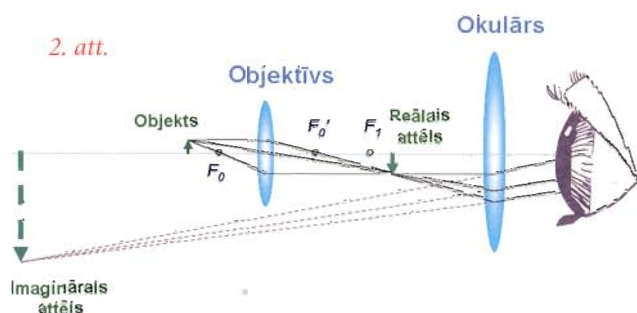
Mūsdienu mikroskopi ir kombinēti un parasti sastāv no divām pamatdaļām – objektīva un okulāra, kas kopā nodrošina optisko palielinājumu līdz 1500 reizēm. Diemžēl optisko attēlu kvalitāte pie lieliem palielinājumiem samazinās, to izraisa ar gaismas īpašībām saistītie optiskie efekti. Tāpēc mikroskopā grūti saskatīt mazus objektus, kuru izmēri ir  $\lambda/2$  diapazonā ( $\lambda$  ir gaismas avota gaismas viļņa garums, kas redzamajai gaismai vienāds ar 400–700 nanometriem). Lai uzlabotu attēlu kvalitāti un iegūtu citu informāciju par pētāmo objektu, zinātnieki izstrādāja dažādus mikroskopa tipus.

Mūsdienu mikroskopijas attīstības tendence parādīta 1. attēlā. Kā redzam, kļuvušas iespējamas divas relatīvi jaunas pieejas – fluorescences un konfokālā mikroskopija. Fluorescences mikroskops darbojas tāpat kā parastais optiskais mikroskops, bet reģistrē paraugā ierosināto “gaismu” – fotoluminiscenci. Konfokālajā mikroskopā izmanto specifisku optisko shēmu, kas ļauj vienlaikus apgaismot un attēlot vienu un to pašu parauga punktu mikroskopa fokusā: tādējādi “konfokāls” nozīmē “vienā fokusā”.

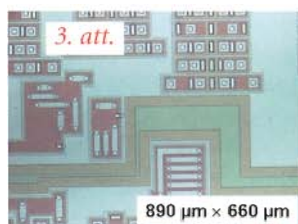


Lai labāk izprastu fluorescences un konfokālā mikroskopa darbību, vispirms atgādināsim, kā darbojas optiskais mikroskops (2. att.). Pētāmais objekts atrodas mikroskopa objektīva priekšā. Objektīvs veido objekta palielinātu reālu attēlu, kas vēlreiz tiek palielināts okulārā un pārvēršas lielā imaginārā (šķietamā) attēlā, kas redzams ar aci. Mikroskopa palielinājums ir vienāds ar objektīva un okulāra palielinājumu reizinājumu. Piemēram, ja mikroskops ir apgādāts ar

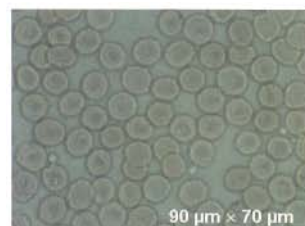
100× objektīvu un 10× okulāru, tad mikroskopa palielinājums ir  $100 \times 10 = 1000$  reizes.



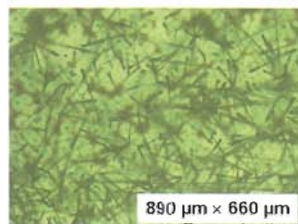
3. attēlā varam aplūkot dažus piemērus, kas demonstrē optisko mikroskopa izmantošanu mikroelektronikā, medicīnā un materiālu zinātnē. Apakšējie attēli rāda, ka apjomīgāka parauga gadījumā, kā, piemēram, aplūkojot cinka oksīda un rēnija hidroksīda kristālus, ne visas parauga daļas ir labi saskatāmas, jo neatrodas objektīva fokālajā plaknē. Attēla kvalitāte samazinās arī tāpēc, ka optiskā lēca fokusē dažāda viļņu garuma gaismu dažādās vietās, un objektu daļām ārpus optiskās ass rodas attēla izkropļojumi. Tas nozīmē, ka mikroskopa attēla kvalitāti var uzlabot, strādājot ar monohromatisku (viena noteikta viļņa garuma) gaismu.



Mikroschéma



Eritrocīti

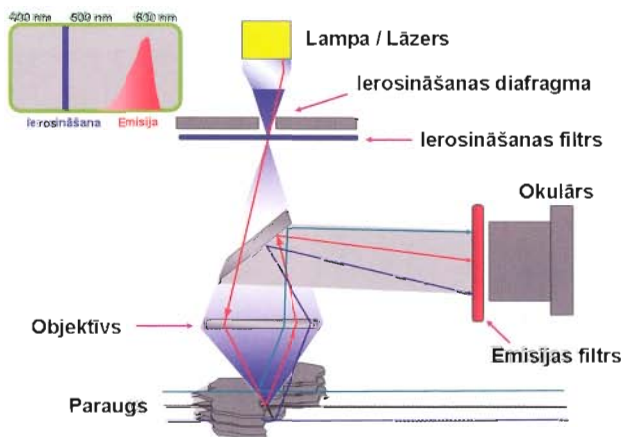


ZnO kristālisks “adatas”



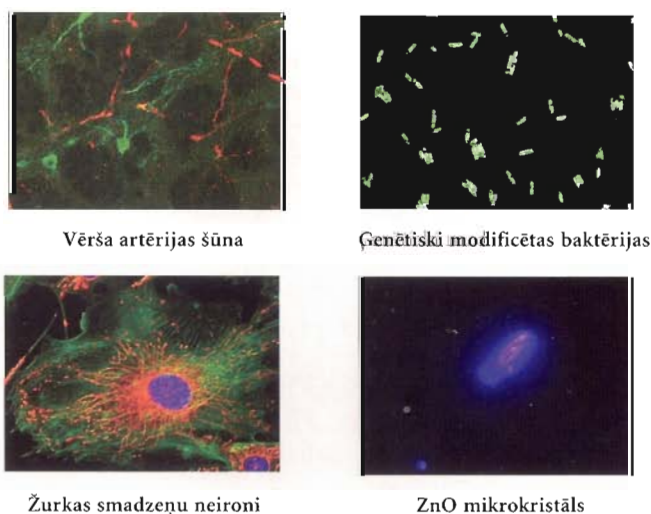
Rēnija hidroksīda kristāls

Fluorescences mikroskopā (4. att.) izmanto fotoluminiscences parādību – objekta mirdzēšanu, ja to apstaro ar gaismu. Šajā mikroskopā paraugu apstaro ar monohromatisku lāzera gaismu vai filtrētu lampas gaismu (piemēram, caur zilu jeb ierosināšanas filtru). Apgaismojums tiek fokusēts caur objektīvu uz parauga virsmas, bet atstarotā gaisma iet atpakaļ caur objektīvu un nonāk okulārā. Parauga fluores-



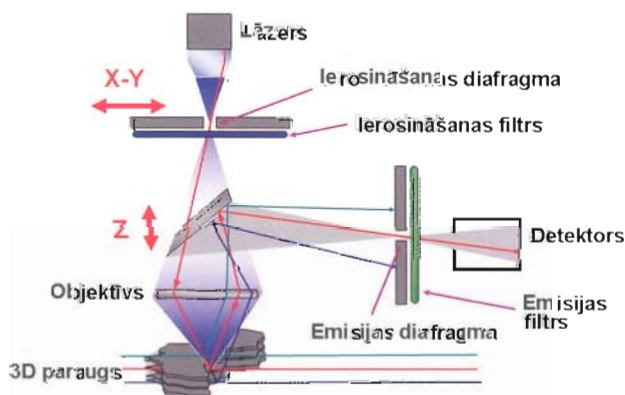
4. att. Fluorescences mikroskopijas princips.

cence (fotoluminiscence) ar lielāku viļņa garumu tiek novērota caur emisijas filtru, kas ir, piemēram, zaļā vai sarkanā krāsā. Svarīgi ir tas, ka fluorescences mikroskops rada iespēju redzēt tikai tās parauga daļas, kas fluorescē izvēlētajā viļņu garumu diapazonā. Praksē šī metode noder objektiem vai savienojumiem, kas paši rada luminescenci, vai kurus var nokrāsot ar speciālām luminescējošām krāsvielām (5. att.). Otro variantu plaši izmanto bioloģisku objektu izpētē.



5. att. Mikroobjektu fluorescences.

Konfokālais mikroskops (6. att.) ir vismodernākā iekārta, kas ļauj būtiski uzlabot attēlu kvalitāti un iegūt ne tikai optisko, bet arī spektrālo informāciju, ja vien mikroskopam ir pievienots spektrometrs. Konfokālā mikroskopa vispārējā shēma

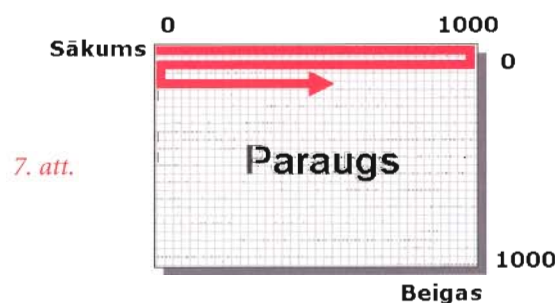


6. att. Konfokālās mikroskopijas princips.

līdzinās fluorescences mikroskopa shēmai, taču ir arī principiālas atšķirības. Par gaismas avotu tiek izmantots lāzers ar relatīvi lielu jaudu, apmēram 20–70 mW. Salīdzinājumā – parasta lāzera rādāmkociņa jauda ir tikai 0,5–1,0 mW.

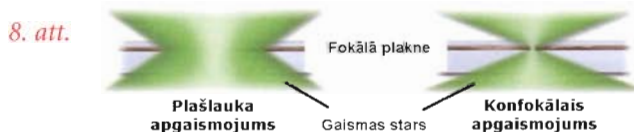
Lāzera stars vispirms iet caur ierosināšanas diafragma, kas var ļoti precīzi mainīt savu novietojumu un tādā veidā nodrošina parauga skenēšanu (pārlūkošanu) horizontālā X–Y plaknē. Parasti stara pārvietošanai tiek izmantoti divi kustīgi spoguļi, kas atrodas perpendikulāri viens otram un atļauj pārvietot lāzera staru ar aptuveni 150 nm precizitāti. Vertikālā virzienā skenēšana notiek ar objektīva palīdzību, ko precīzi pārvieto ar pjezoelementa palīdzību. Tādā veidā konfokālais mikroskops ļauj iegūt telpiskus (3D) attēlus.

No parauga atstarotā gaisma iet atpakaļ caur objektīvu un ļoti mazu (ap 100 μm) emisijas diafragma, kas izdala tikai no fokusa plaknes nākošo optisko signālu. Tālāk optiskais signāls iet caur filtru vai monohromatoru un beigās tiek reģistrēts ar fotoskaitītāju, fotodiodei vai CCD tipa detektoru. Attēla reģistrācija notiek punktu pēc punkta (7. att.), mai-



7. att.

not ierosināšanas diafragmas un objektīva pozīciju. Pilns rastra tipa attēls (1000×1000 punktu) var tikt rekonstruēts ar datora palīdzību. Atšķirībā no parasta optiskā mikroskopa ar plašu lauka apgaismojumu, konfokālais apgaismojums ar diafragma būtiski samazina fokusa izmērus (8. att.) un tāpēc palielina mikroskopa izšķirtspēju. Piemēram, izmantojot He–Cd lāzera ar 442 nm viļņa garumu, konfokālā režīmā var iegūt izšķirtspēju ap 250 nm.

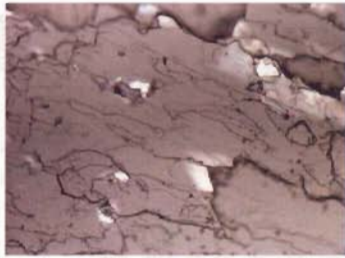


8. att.

Salīdzinot ar citiem mikroskopu tipiem, piemēram, elektronmikroskopu, konfokālais mikroskops ir relatīvi vienkāršs un lēts lietošanā, tas strādā kā gaisā, tā arī vakuumā, var pētīt praktiski jebkuru paraugu, ieskaitot šķidrumus. Ja tas ir savienots ar spektrometru, tad var iegūt papildu informāciju par materiāla struktūru.

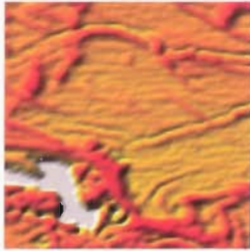
Tālāk aplūkosim dažus konfokālā mikroskopa izmantošanas piemērus. Monokristālisku kadmija volframātu izmanto kā rentgenstaru un gamma staru uztvērēju datortomogrāfijā, kodolu spektroskopijā un radiācijas detektoros, tāpēc tā optiskās īpašības un virsmas kvalitāte ir svarīgi parametri. 9. attēlā parādīts, kā izskatās monokristāliska kadmija volframāta virsma parastā optiskā mikroskopa attēlā un divdimensiju (2D) konfokālā režīmā. Parastajā attēlā var redzēt virsmas neviendabīgumu. Konfokālais attēls ir detalizētāks – tajā redzams virsmas reljefs ar lūzumiem un pakāpieniem. Mainot skenēšanas soli, var iegūt ļoti precīzu vajadzīgā parauga apgabala virsmas atainojumu.

9. att.

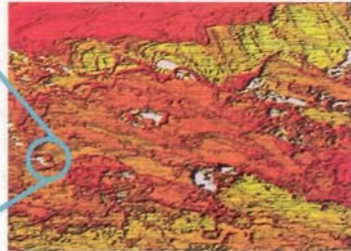


CdWO<sub>4</sub> monokristāls.

Attēls parastajā mikroskopā 89×66 μm



Konfokālais attēls 11×13 μm

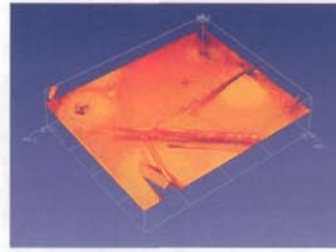


Konfokālais attēls 89×66 μm

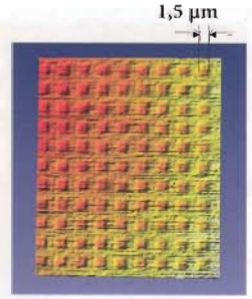
Nākamajā piemērā (10. att.) ir parādīti silīcija režģa un cinka oksīda mikrokristālu konfokālie trīsdimensiju (3D) attēli. Silīcija režģis ir precīza periodiska struktūra, kas noderīga dažu mikroskopu kalibrēšanai. Konfokālajā attēlā ir labi redzams režģa periods.

Cinka oksīdu plaši lieto elektronikā, optikā un fotonikā. Šodien tas ir viens no kandidātiem kompakta un lēta zilā lāzera izgatavošanai, kas nepieciešams, piemēram, "Blue-

10. att.



ZnO mikrokristāliskās adatas.  
3D konfokālais attēls  
110×132×30 μm



Silīcija režģis.  
3D konfokālais attēls  
27×35 μm

Ray" tipa DVD disku lasītājos. 10. attēlā (3D konfokālais attēls) redzamas cinka oksīda mikrokristāliskās adatas silīcija virsmā. Te jau var runāt par optisko tomogrāfiju, par detalizēta virsmas reljefa vai telpiska caurspīdīga objekta vizualizēšanu.

Kopumā var secināt, ka konfokālais režīms būtiski paplašina optiskās mikroskopijas pētījumu iespējas, ieskaitot optiskā attēla dziļuma regulēšanu, ārpusfokusa gaismas novēršanu un iespēju iegūt bieža parauga kvalitatīvus optiskus attēlus. Arī Latvijas Universitātes Cietvielu fizikas institūtā atrodas 3D konfokālais mikroskops, kas aprīkots ar spektrometru "Nanofinder-S". Šodien tā pielietošana galvenokārt saistīta ar materiālu zinātnei, kas lielā mērā aptver jaunu nanomateriālu un nanotehnoloģiju izstrādāšanu un pētniecību, kā arī jaunas eksperimentālas metodikas attīstību.

## Habla teleskops apstiprina informāciju par tuvāko citplanētu

Eridānas zvaigznājā, apmēram 10,5 gaismas gadu attālumā no Saules, atrodas zvaigzne Eridānas Epsilons, ap kuru riņķo gāzveida planēta. Jau 2000. gadā tika atklātas sīkas zvaigznes nobīdes, ko izraisīja Jupiteram līdzīgā planēta. Tagad pēc rūpīgas zvaigznes novērošanas ir iegūta precīza informācija par mums tuvāko zināmo citplanētu.

Habla teleskops apmēram trīs gadus novēroja zvaigznes "zvāļošanos", ko izraisīja planēta. Šie dati tika kombinēti ar datiem, kas iegūti, izmantojot teleskopus uz Zemes. Zvaigznes novirzes ir tik mazas, ka ar aci tās nav iespējams novērot, un tikai ļoti jutīgie Habla teleskopa sensori spēja reģistrēt izmaiņas. Kā salīdzinājumu var minēt šādu situāciju – pamēģiniet saskatīt kāda objekta, kas atrodas 1500 kilometru attālumā no jums, nobīdi par nepilnu centimetru.

Planētas masa ir 1,5 Jupitera masas, savu zvaigzni tā apriņķo nepilnos septiņos gados. Planētas orbītas slīpums pret skata līniju ir apmēram 30 grādi un sakrīt ar putekļu un gāzu disku, kas atrodas ap zvaigzni. Tās ir pirmais tiešais pierādījums tam, ka planētas veidojas putekļu diskos, kas atrodas ap zvaigznēm. Saule, kuras vecums ir apmēram 4,5 miljardi gadu, jau sen ir zaudējusi savu putekļu disku, bet Eridānas Epsilons ir tikai 800 miljonus gadu veca zvaigzne, un tās putekļu disks ir labi novērojams.

Planēta atrodas tik tuvu, ka 2007. gadā varbūt būs iespējams to nofotografēt tieši, kad tā atstaros saimniekzvaigznes gaismu.

Krišjānis Punculis



Eridānas Epsilon planēta mākslinieka skatījumā.