

The background features three large, overlapping blue circles of varying sizes. Two thin, light blue diagonal lines intersect at the top left, extending towards the bottom right. The circles are composed of concentric layers of different shades of blue, creating a 3D effect.

Mikroskop og Stereolupe

Marie L. Krogness og Cato Tandberg

Skolelaboratoriet i biologi, Universitetet i Oslo

Innhold

Innledning.....	2
<i>Stereoluper</i>	3
<i>Mikroskoper</i>	3
<i>Tilleggsutstyr</i>	4
<i>Oppbevaring</i>	4
<i>Rensing</i>	5
<i>Service</i>	6
Lysmikroskopets oppbygning.....	8
<i>Tubus</i>	8
<i>Fokuseringsskruer</i>	11
Makro- og mikroskruer (grov- og finskruer).....	11
<i>Objektbord</i>	12
<i>Kryssbord</i>	12
<i>Belysning</i>	12
<i>Objektiver</i>	13
Mikroskopets forstørrelser og oppløsningsevne.....	23
<i>Prøvebehandling</i>	33
STEREOLUPER - STEREOMIKROSKOPER.....	34
<i>Feil som kan oppstå</i>	43

Innledning

Mikroskoper og stereoluper er kostbare og sårbare instrumenter som fortjener riktig oppbevaring og stell. Det lønner seg å gi elevene grundig instruksjon i bygning, stell og bruk. La dem selv tegne figur med betegnelser og skrive ned regler for bruk. Det tar tid, men det lønner seg. Dette er også nødvendig for at eleven skal bli fortrolig med instrumentet og at de selv kan bruke det på en forsvarlig og kunnskapssøkende måte.

En bør stille enkelte krav til mikroskoper og stereoluper som skal brukes i skolen:

- De må være enkle i bruk
- De må gi gode og klare bilder, uten at optikken blir for fin og dyr
- De må være robuste
- De må være forholdsvis rimelige i anskaffelse
- Forhandleren må kunne gi service

Stereoluper

I grunnskolen passer det best å bruke stereoluper. De er enkle å betjene og samtidig er de



spennende i bruk, det åpner seg en helt ny verden av detaljer, form og farge. Og de kan brukes av barn helt ned til de første klassene i grunnskolen. Synsfeltet er stort, dybdeskarpheten er god og det er god plass til objektet. Dessuten er alle bevegelser riktige. Skyver eleven preparatet til venstre, så beveger bildet seg i samme retning.

Ved gjennomfallende lys og forstørrelser på 20 x til 30 x kan man også fint se cellene i epidermis fra løk eller i stengeltverrsnitt. Det er også mulig å ha levende objekter noe som barn ofte setter pris på. Dermed får de en god og naturlig overgang til bruken av mikroskopet.

Mikroskoper

I naturfag i videregående skole har en bruk for begge typer instrumenter til elevene.

Elevmikroskopene må kunne gi forstørrelser opp til 400 x. Elevene i de øverste klassene i videregående skole og ved lærerskoler bør få anledning til å arbeide med mikroskop som forstørrer opp til 1000 x. Instrumentet må da være forsynt med spesielt objektiv for oljeimmersjon og med kondensor som har tilsvarende høy verdi for numerisk apertur N.A. f.eks. N.A. 1,25. Instrumentet kommer da selvsagt opp i høyere prisklasse. Mer om dette senere.



Tilleggsutstyr

Til demonstrasjons- og lærerbruk kan det være ønskelig med tilleggsutstyr for eksempel til fasekontrast, mikroprojeksjon og mikrofotografering. Et digitalt kamera kan enkelt kobles til mikroskopet eller stereolupen. Det finnes spesialiserte kamera utviklet for mikroskoper, men man kan også kjøpe universaladapter for å feste kamera (mange skoler har allerede digitale kameraer) til det optiske utstyret. De digitale bildene viser et eksakt bilde av det man observerer i mikroskopet og overføres raskt og enkelt via USB-kabel til PC. Ved hjelp av medfølgende programvare har man mulighet til å analysere og modifisere bildene, og bruke de direkte i undervisningen. Bildene kan brukes i forsøksrapporter eller i presentasjoner på storskjerm, det gir store pedagogiske muligheter. Det finnes ulike typer kamera for ulike applikasjoner og en må henvende seg til forhandlere etter brosjyrer og prislister, og så selv få instrumentene demonstrert før en velger.

Oppbevaring

Oppbevaringen av mikroskopet er helt avgjørende for dets levetid og hvor godt det vil virke for den neste elevgruppen som skal bruke dem. Igjen bør man bruke mye tid på å innarbeide gode rutiner ved bruk av mikroskopet, slik at elevene gjør dette arbeidet selv.

1. Mikroskoper og stereoluper må etter bruk dekkes med støvhetter av plast og bør oppbevares i lukkede skap eller spesielle mikroskopkasser.
2. Sett aldri bort et instrument uten at okulalet er på plass! Det kan falle støv ned på objektivenes baklinse, som kan være meget vanskelig å få fjernet.
3. Instrumentene må ikke stå i rom der det kan være fare for korrosjon, f.eks. i kjemiforberedelsesrom eller laboratorier.
4. Kontroller alltid at instrumentene er i orden før de blir satt bort! La mikroskopet stå med det svakeste objektivet ferdig til bruk.

Berør aldri linsene på objektiver eller okularer med fingrene. Det vil avsette seg faste partikler, fett og syre fra huden, og linsenes overflate vil bli risset og korrodert. Altså - Rene hender ved mikroskopering!

Rensing

Støv på linser og metalleder renses med en myk pensel. Penselen selv kan renses i bensin.

Linsepapir kan også brukes, men det bør bare brukes en gang. En ren, bløt bomullsklut, f.eks. et rent lommeterkle som har vært vasket et par ganger er også utmerket.

Men vær forsiktig med å gni. Det kan være mer til skade enn til nytte. Man bør ikke bruke noen form for blåseinnretning for å fjerne støv fra okularer og glassflater. Da risikerer man nemlig at støv trenger inn på innsiden av linsene.

Fett på de mekaniske delene og på linsene fjernes med xylol eller bensin. Bruk ikke for mye xylol ved rensning av linser, for eksempel av oljeimmersjonsobjektivet. Linser som er kittet sammen med kanadabalsam kan falle fra hverandre. Vær klar over at dette er lett antennerlige stoffer og at avgassen fra dem er helseskadelig i større doser.

Man må aldri selv skru fra hverandre et okular, objektiv eller kondensor fordi man kan ødelegge korleksjon og sentrering av enkeltlinsene når man setter dem sammen igjen.

Pass på at det ikke kommer fett på skivene i irisblenderen.

Service

Dersom det dreier seg om reparasjon av et enkelt eller noen få instrumenter, kan de sendes til forhandlerens serviceverksted. De sendes da i de isoporeskene eller trekassene som de var pakket inn i. Dersom det er snakk om reparasjon og ettersyn av samtlige instrumenter, vil forhandleren kunne sende en reparatør.

Mikroskopene leveres nå ofte i isoporesker, og ikke i trekasser som tidligere. Støvhetter av plast følger med. Emballasjen tar ganske stor plass, og man vil ofte sette det til side, men kast det altså ikke. Det kan komme til nytte ved reparasjon.

Løse okularer, objektiver, reservelamper m.m. kan med fordel oppbevares i plastesker med lokk. Husk tydelig merking! Trekassene koster ofte noe ekstra, men kan være nyttig dersom naturfaglærerne må frakte instrumentet.

Undersøk med firmaet som selger instrumentene hvilket servicetilbud det gir, og hvilken garanti det gir mot fabrikkfeil. Etter kjøpsloven skal garantien være for minst to år. Noen firmaer leverer sine instrumenter med en garanti på 30 år eller mer.

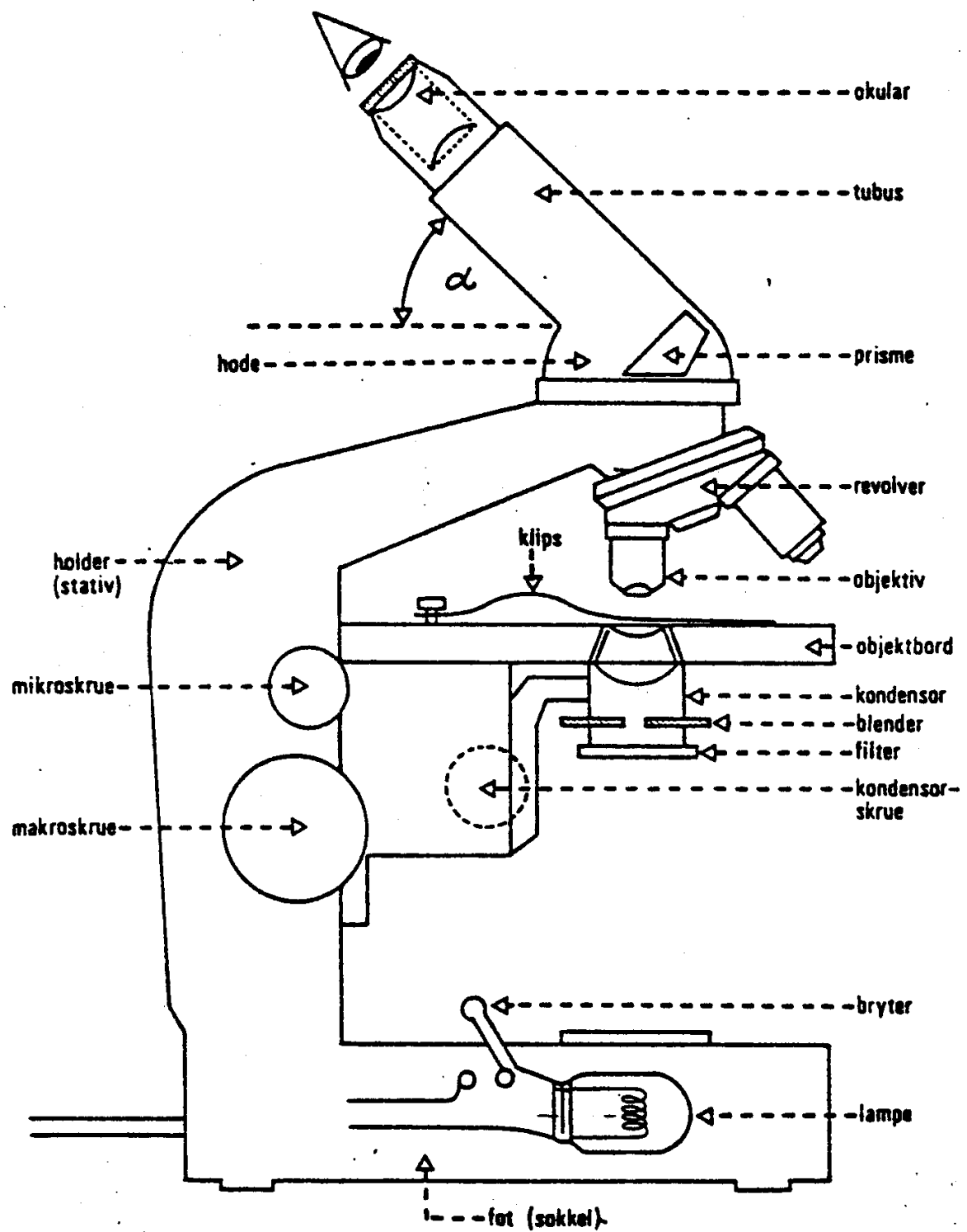
For stramming av fokuseringsskruer, prefokusering, feste av okularer m.m. leveres det spesielle skrutrekkere, unbrakonøkler eller andre instrumenter. Pass på å få disse med ved leveringen og merk dem slik at det blir enkelt å forstå hvilken nøkkel som skal brukes til hva.

Dersom "hodet" siger tiltross for at man har strammet skruene, må mikroskopet til reparasjon.

Mikroskopets mikrometerskrue og andre bevegelige deler skal ikke smøres! Hele systemet kan da bli ødelagt.

Mange firmaer gir betydelig rabatt ved levering av flere instrumenter. Gå gjerne sammen med en naboskole, eller snakk med fylkeskommunen om de har en innkjøpsordning. Undersøk dette på forhånd. Det er lov å prute på slike ting og bruk god tid.

Ikke glem å kontrollere alle instrumenter ved leveringen. Er alle deler på plass? Virker fokuseringen som den skal? Dårlig fokusering kan i noen tilfelle skyldes at objektivene ikke er skrudd like fast på plass.



Figur 1: Bygningen av et moderne skolemikroskop

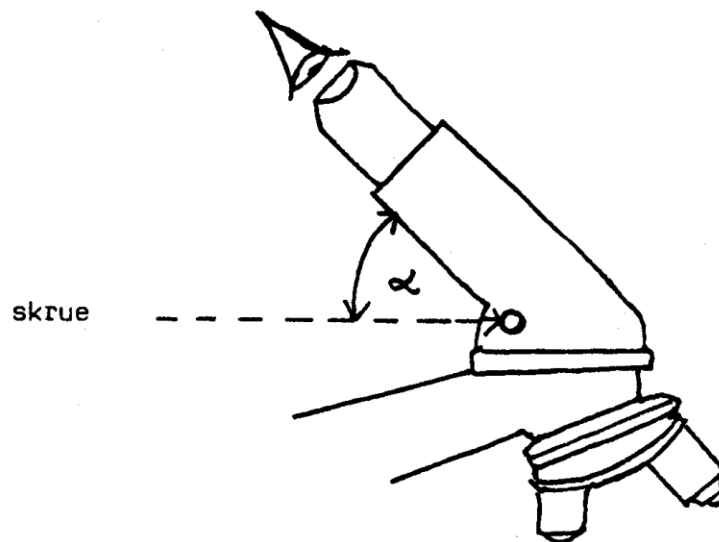
Lysmikroskopets oppbygning

Prinsippet i lysmikroskopi er at synlig lys fra en glødelampe samles i en kondensorlinse og fokuseres ned på preparatet (objektet). Det dannes et "bilde" som forstørres, først av objektivlinsen og deretter av okularet, før det projiseres inn på øyet eller et kamera.

Et lysmikroskop har en oppløsningsevne på ca 1/1000 millimeter, det er ca 1000x bedre enn øyet vårt. Mikroskopet benyttes i forbindelse med anatomiske og histologiske undersøkelser, til å studere enkeltceller og celledetninger som kloroplaster, kjerne og vakuole. Utstyret koster fra ca 1500,00 for de rimeligste utgavene opp til 300 000 for de beste forskningsinstrumentene.

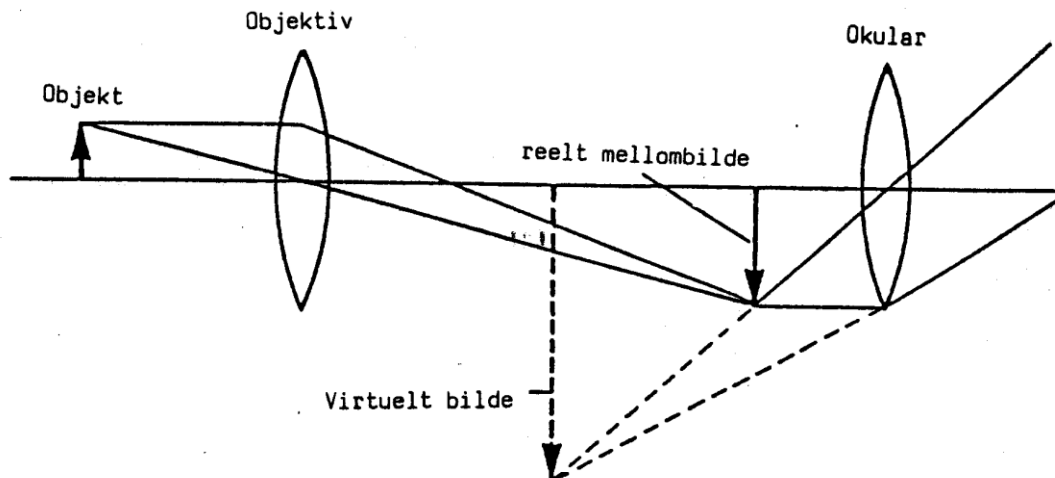
Tubus

De moderne mikroskopene er i som regel utstyrt med en vinkeltubus, med skråstilling av den øvre delen. Inne i "hodet" sitter det da et prisme eller et speil. Se figur 1. Skråstillingen av tubus gjør at de fleste mikroskoper har god arbeidsstilling. Med en vinkel på α ca 45° gir ofte god arbeidsstilling. Mer kostbare instrumenter kan leveres med binokulær tubus. Vær oppmerksom på at det da kreves spesielt god belysning fordi lyset blir fordelt på to okularer.



Figur 2

På de fleste mikroskoper av moderne type kan man dreie øverste del av hodet med tubus 180° . Det kan da være nødvendig å løsne på en skrue som er festet på siden av hodet, og hodet vil slarke ved dreiningen. Vær oppmerksom på at hodet skal slarke. Hvis en ikke løsner skruen tilstrekkelig, kan det i noen tilfelle hølles løs metallspoon som faller ned på objektivenes bakerste linse, og disse er meget vanskelig å fjerne.



Figur 3: En skjematisk, forenklet figur som viser billedannelsen i et mikroskop.

Objektivet gir et reelt, forstørret bilde av objektet, inne i tubus. Okularet gir så et virtuelt (innbilt) og forstørret bilde av dette igjen. Bildet blir altså forstørret to ganger.

Optisk tubuslengde:

Optisk tubuslengde er avstanden mellom objektivets øverste brennpunkt og okularets nederste brennpunkt, se figur 4.

Mekanisk tubuslengde:

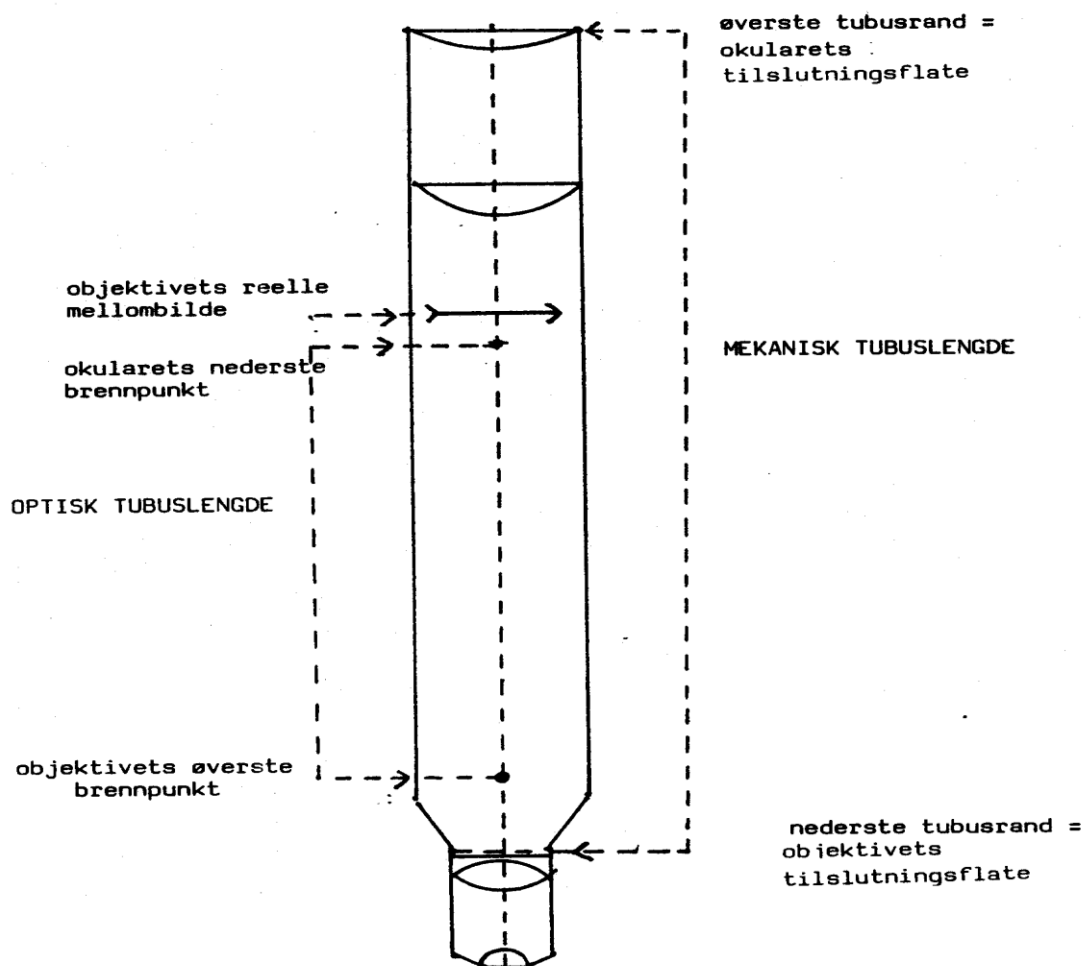
Mekanisk tubuslengde er avstanden mellom øverste tubusrand = okularets tilslutningsflate og nederste tubusrand = objektivets tilslutningsflate, se figur 4.

På de vanlige mikroskopene er den mekaniske tubus lengden 160 mm eller 170 mm. På eldre mikroskoper kunne man variere den mekaniske tubuslengden. Dette er ikke lenger vanlig.

Noen binokulære hoder er forsynt med et spesielt linsesystem som øker tubuslengden. Den økte tubuslengden gir større forstørrelse. Derfor må man huske på å multiplisere med den såkalte tubusfaktor som i regelen står avmerket på hodet. Da finner man forstørrelsen, f.eks. slik:

Okular 10 x objektiv 40 x tubusfaktor 1,25

Forstørrelse: $(10 * 40 * 1,25)x = 500 \times$



Figur 4: Tubuslengde

Fokuseringsskruer

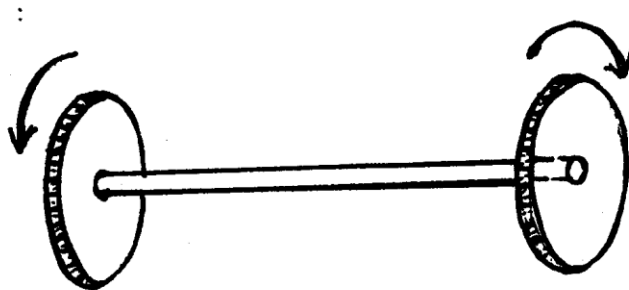
Makro- og mikroskruer (grov- og finskruer)

På eldre mikroskoper heves og senkes tubus ved hjelp av makro- og mikroskruen. På de nye modellene er det objektbordet som heves og senkes. Det kan være en fordel om skruene har frigang når objektbord eller tubus er kommet i ytterstilling. En hardhendt elev kan ellers komme til å vri forbi og ødelegge mekanismen, noe det ikke er lett å rette på. Dette må en forklare eleven på forhånd. Mikroskruen bør i alle fall ha frigang.

Hvis makroskruen går for lett, og dersom objektbordet begynner å sige, er det i regelen enkelt å stramme skruen, oftest med en sekskantnøkkel eller liten skrutrekker. På noen mikroskoper kan man stramme ved å skru høyre og venstre skruhode mot hverandre som vist på fig. 5. Dersom objektbordet begynner å sige tiltross for strammingen, må det skiftes olje i rommet mellom ”tannstangen” og tannhjulet. Det skal brukes en spesiell olje, og arbeidet må overlates til en fagmann.

Noen enkle elevmikroskoper kan mangle fokuseringsskrue for fininnstilling og kan være vanskelige å betjene ved stor forstørrelse, særlig hvis skruehodet har liten diameter.

Hvis skruene går tregt må man ikke prøve å smøre dem.



Figur 5

Objektbord

Objektbordet bør kunne senkes så mye at det kan være plass til en petriskål mellom objektbordet og for eksempel objektiv 40 x. På noen mikroskoper kan objektbordet bare senkes 10-11 mm, og dette er for lite, 18 - 20 mm er passe. På noen mikroskoper kan man foreta en justering ved hjelp av en prefokuseringsskrue. Denne prefokuseringen må ikke overlates til elevene, men foretas av læreren på forhånd. Hvis det er vanskelig å få til, spør forhandleren.

Objektbordet bør ikke kunne løftes så mye at dekkglasset slår opp i objektivets frontlinse, da kan du ødelegge både preparatet og objektivet.

Noen objektbord er så følsomme for berøring, at bildet lett kommer ut av fokus og blir uskarpt bare man flytter litt på preparatet. For objektbord som ikke er forsynt med kryssfører for preparatet, kan det være ganske sjenerende, særlig når man arbeider med store forstørrelser.

Objektbordet kan da kanskje skrues fastere ved en skrue på undersiden. Velg gjerne et objektbord som har fester til objektet, og hvor du kan flytte objektet ved hjelp av egne dreieskruer.

Kryssbord

Noen mikroskoper har kryssbord eller kan forsynes med kryssfører. Her er prisene meget varierende. På de mer kostbare mikroskopene kan et kryssbord koste like mye som et enkelt elevmikroskop. De forskjellige kryssbord og -førere er ikke like gode å betjene. Skruene bør sitte like ved siden av eller over hverandre, og de bør være lette å nå. Kryssførere er i regelen forsynt med skalainndeling, men enkelte modeller kan også leveres ugradert.

Ved små forstørrelser er det ikke særlig nødvendig med kryssfører, og på elevinstrumenter kan den godt utelates. På et lærermikroskop er kryssføreren en nødvendig del av utstyret.

Belysning

Speil

Som lyskilde kan man bruke et tosidig speil og dagslys eller en løs lampe som lyskilde. Speilet har som oftest en plan og en konkav side.

Tommelfingerregel:

Bruk den konkave siden:

- når mikroskopet er enkelt og uten kondensor
- når lyskilden står nær speilet

Bruk den plane siden:

- når mikroskopet har kondensor
- når dagslyset er lyskilde

Lampe

Oftest kan speilet fjernes og erstattes av en påstikklampe som festes på speilets plass. Ofte kan man kun benytte en type lampe til et merke mikroskopi. Ei slik lampe er forsynt med en mattskive. Da lyset fra en glødelampe inneholder mer rødt og gult og mindre blått lys enn dagslyset, kan man bruke en blå mattskive for å få en mer naturlig belysning av preparatet. En del mikroskoper har lyskilden innebygd i foten og en kan bruke vanlig støpsel beregnet på nettspenning. Mer kostbare instrumenter kan være forsynt med innbygd transformator og lavvoltage. Denne er særlig velegnet som lyskilde for mikroskopet, fordi lyset kommer fra en liten, jevnt lysende flate.

Ofte er mikroskopet bygd slik, at man må skru løs sokkelens bunnplate for å skifte lampe. Pass på okularet når du snur mikroskopet!

Til den innebygde belysningen brukes det ofte "symaskinlamper" som er å få i vanlig handel, men i mange tilfeller må en bruke spesiallamper. Pass på å få med reservelamper ved leveringen av instrumentene. Firmaet skal ha slike lamper på lager, og må kunne sende dem i posten på kort varsel. Men dette er dessverre ikke alltid praksis.

Til elevbruk bør lampen være innebygd eller festet til selve mikroskopet. Spenning og effekt for lampene står merket på påstikklampen eller på mikroskopet.

Objektiver

Objektivets oppgave er å gi et reelt, forstørret bilde av preparatet, (Se figur 3). Kvaliteten av objektivet er avgjørende for hva mikroskopet kan yte. Både bildekvalitet, lysstyrke og kontrast avhenger først og fremst av objektivet. Selv om en setter inn et meget sterkt okular, vil en aldri få se flere detaljer enn det objektivet har fått med i det reelle mellombildet. En kan riktignok få svært stor forstørrelse, men dette er en "tom" forstørrelse (se avsnitt Mikroskopets forstørrelser

og oppløsningsevne). Små hobbymikroskoper kan gi en imponerende stor forstørrelse, men som regel med meget dårlig billedkvalitet.

Merking av objekiver

Objektivene er merket med visse opplysninger, f.eks. slik: A 4/N.A. 0,12 170/0,17.

Dette betyr:

A - objektivet er akromatisk

4 - objektivet har en egenforstørrelse på 4 x

N.A. 0,12 - objektivet har en numerisk apertur på 0,12

170 - mekanisk tubus lengde er 170 mm. (Avstand fra bakkanten av objektivet til øvre kant av tubus). Objektivet er bare riktig ved denne tubuslengden 0,17 - dekkglasstykkelse 0,17 mm

Oljeimmersjonsobjektiver kan være merket: Oel, Oil eller Imm.

Fasekontrastobjektiver er merket: Ph eller Pv.

Akromatiske objektiver

De fleste objektiver er akromatiske, det vil si at de er korrigerte for fargefeil. Hvis det ikke står noe om objektivtype, kan du gå ut fra at objektivet er akromatisk. Det gir ofte skarpe bilder med god kontrast og moderat krumning av bildefeltet.

Planakromatene er korrigert for fargefeil og krumning av feltet. Disse objektivene er kostbare og ofte forsynt med opptil 14 enkeltlinser, mens akromatene i regelen inneholder fra 2 til 6 linser. Til vanlig skolebruk må man forsone seg med svake fargefeil, krumninger og noe uskarphet i bildekanten når bare de sentrale deler av bildefeltet er skarpt.

Apokromater

Dette er de mest fullkomne og selvfølgelig de dyreste objektivene. De har forsvinnende små optiske feil, er satt sammen av flere linser enn de vanlige objektivene, og kan konstrueres med større verdi for numerisk apertur enn disse. Selv et apokromat objektiv kan ikke gi det helt fullkomne resultat. Det blir en liten forstørrelsesfeil igjen, i det blått lys gir noe sterkere forstørrelse enn rødt lys.

Det blir også en svak krumning av bildefeltet. Denne kan oppheves ved å bruke spesielle kompensasjonsokularer. Noen mikroskoper kan være forsynt med en ekstra linse inne i tubus (mellom okular og objektiv), som gjør bildet plant.

Egenforstørrelse

Objektivets egenforstørrelse er det tall som angir hvor mange ganger det reelle mellombildet er forstørret i forhold til gjenstanden som betraktes. Det kalles også lineær forstørrelse.

Egenforstørrelsen er avhengig av objektivets brennvidde og den optiske tubuslengden, som er avstanden fra objektivets øverste brennpunkt til okulalets nederste brennpunkt (Se figur 4, side 10), som angitt under;

$$\text{egenforstørrelse} = \text{optisk tubuslengde} / \text{brennvidde}$$

Små linser med sterk krumning har kort brennvidde, og gir altså forstørrelse.

Numerisk apertur.

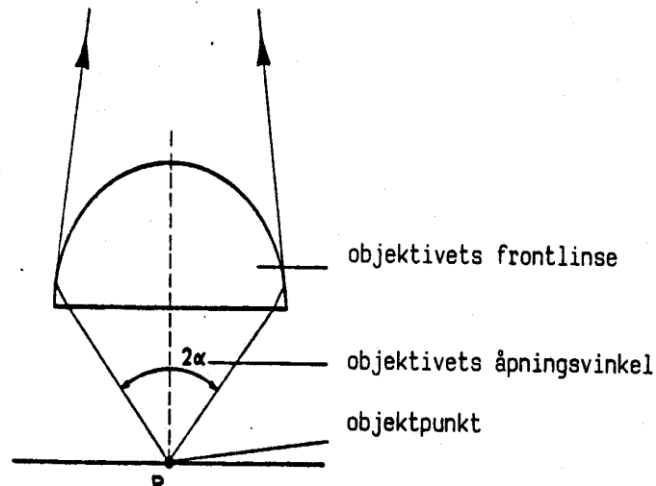
Den numeriske apertur er den viktigste tallstørrelse som er merket av på objektivet. Den er avgjørende for objektivets kvalitet, for den mengde lys som slipper gjennom objektivet, og dermed for oppløsningsevnen, det vil si evnen til å skille ut detaljer i preparatet.

Dersom to objektiver med samme forstørrelse har ulik numerisk apertur N.A., har det beste objektivet den høyeste verdien.

Objektivets numeriske apertur er definert som:

$$\text{N.A.} = n \sin \lambda$$

hvor n er brytningsindeks for mediet mellom objektiv og preparat, og λ er den halve åpningsvinkelen (se figur 6).



Figur 6

Figur 6 viser frontlinsen i et objektiv som mottar en kjegleformet strålebunt fra objektpunktet P. Åpningsvinkelen 2α er avgjørende for hvor stor del objektivet kan ta opp av det lyset som går ut fra P. Vinkelen bestemmer objektivets lysstyrke.

Hvis mellomrommet mellom objektglasset og objektivet er fylt med luft, har vi et såkalt "tørrsystem", og brytningsindeksen $n = 1$. Da forenkles denne formelen til:

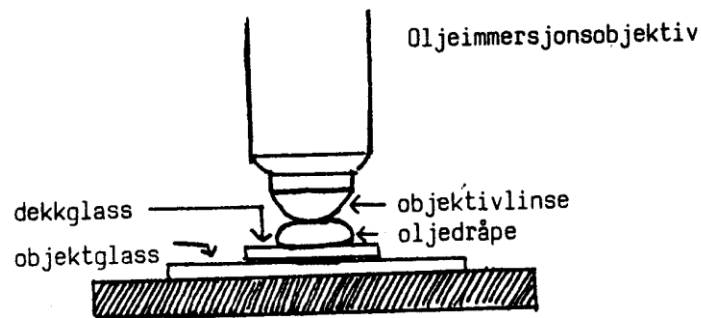
$$\text{N.A.} = \sin \lambda$$

I et "tørrsystem" kan objektivet da ha $\text{N.A. max} = 1,0$ (i praksis 0,95).

Et oljeimmersjonsobjektiv kan ha høyere verdi for N.A. fordi det er immersjonsolje mellom objektglasset og objektivet.

Oljeimmersjon

Dersom objektivet er merket slik: $100 \times / \text{N.A. } 1,25$ betyr det at det er beregnet på oljeimmersjon, og at mikroskopet kan gi forstørrelser på over 1000 x. Det vil sjelden være aktuelt med så stor forstørrelse for elever i skolen, det kan være vanskelig nok å arbeide med forstørrelser på 400 - 600 x. I den videregående skolen i programfaget biologi kan det bli aktuelt med større forstørrelser. Dersom en vil arbeide med oljeimmersjon, er det ikke nok å kjøpe et passende objektiv. Kondensoren må også ha høy verdi for N.A., (min. N.A. = 0,9).



Figur 7

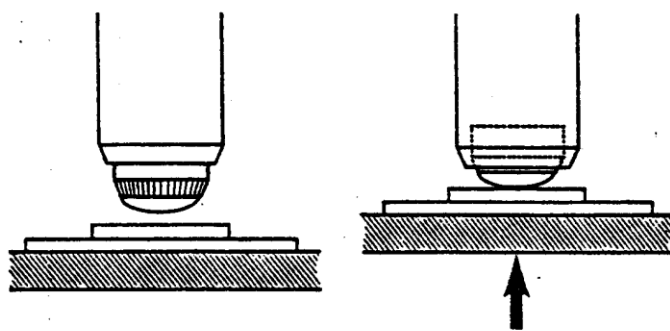
Når du bruker oljeimmersjonsobjektiv, skal kondensoren stå i høyeste stilling. Det skal legges en oljedråpe mellom dekkglass og objektivlinse. Pass på å fjerne all olje med xylol etter bruk, og tørk etter med linsepapir. Bruk ikke mer xylol enn høyst nødvendig. Det er svært brennbart og dersom objektivene er kittet sammen med kanadabalsam, kan de falle fra hverandre.

Unngå også å få olje på blenderen. Den kan bli så treg at man må bruke makt for å åpne og lukke den, og i verste fall kan skivene i en irisblender bli utsatt for så store spenninger at de faller fra hverandre i småbiter. Innstill helst selv mikroskopene om du skal bruke oljeimmersjonsobjektiver, eller gå grundig igjennom det med elevene.

For et oljeimmersjonsobjektiv kan den numeriske apertur få verdier som ligger mellom $N.A. = 1,25$ og $1,40$. Et slikt objektiv kan bare brukes med spesiell immersjonsolje. Den samme oljen kan brukes til objektiver av forskjellig fabrikat.

Preparatbeskyttelse

Dersom mikroskopet ikke har spesiell preparatbeskyttelse, kan en lett ødelegge både preparat og objektiv. Dette glemmer mange elever i sin iver etter å forstørre. På noen instrumenter består beskyttelsen i at de objektivene som gir størst forstørrelse, er fjærende (se figur 8).



Figur 8: Fjærende objektiver

Andre instrumenter er konstruert slik at objektbordet ikke kan løftes høyere enn at det så vidt er klaring mellom objektlinser og dekkglasset på et vanlig preparat. Dette skal være justert ved leveringen fra forhandler, og en må undersøke at det er i orden når en får instrumentet. På noen instrumenter er det mulig å foreta slike justeringer selv. Be om instruksjon fra service eller forhandler. Mange nyere mikroskoper har begge former for preparatbeskyttelse.

Revolver

Et mikroskop som skal brukes av elever, bør kunne gi tre ulike forstørrelser. F.eks. 60 x - 150 x - 600 x, eller det som er mer vanlig: 40 x - 100 x - 400 x. Derfor bør objektivholderen, revolveren, minst være tredelt (fig. 1). Ved dreiningen bruker man selve revolverskiven og ikke objektiven. Det er svært stor forskjell på denne delen på de forskjellige mikroskopene. I noen tilfelle er stoppfjærer slik festet og selve dreieskiven så smal, at den kan være vanskelig å dreie, og en vil sikkert komme til å bruke objektiven istedenfor.

Okularet

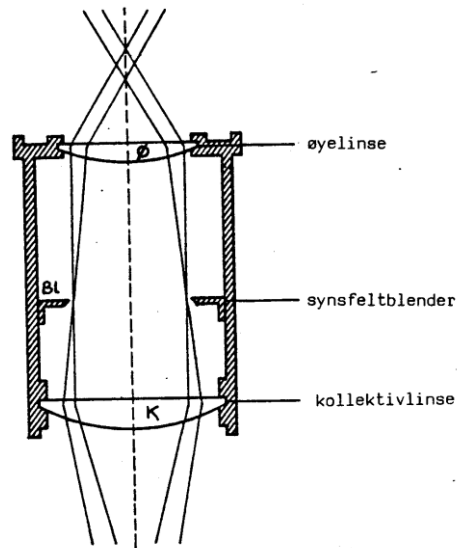
Okularet virker som en lupe og gir et forstørret, virtuelt bilde av det reelle bildet som objektivet danner inne i tubus (fig. 3). Oppgaven er enklere enn den objektivet har. Til skolebruk er det gjerne to forskjellige okulartyper som vil være aktuelle; Huygens og vidvinkelokular.

Huygens okular

Dette er det rimeligste okulalet og består av to enkle, plankonvekse linser, kollektivlinsen og øyelinsen. Mellom disse, og i øyelinsens brennplan er det plassert en synsfeltblender (se figur 9). Okulalet gir bilder som er fine og skarpe i midten og med små fargefeil, men bildekvaliteten blir dårligere mot randen. Dersom det ikke står oppgitt hva slags okular mikroskopet er forsynt med, kan du gå ut fra at det er et Huygens okular.

Det fins mange forbedrede typer av okularer:

Kompensasjons-, plan-, vidvinkel-, periplan-, ortoskopisk okular osv. Disse kan gi planere bildefelt, bedre randskarphet eller større bildefelt enn Huygensokulalet.

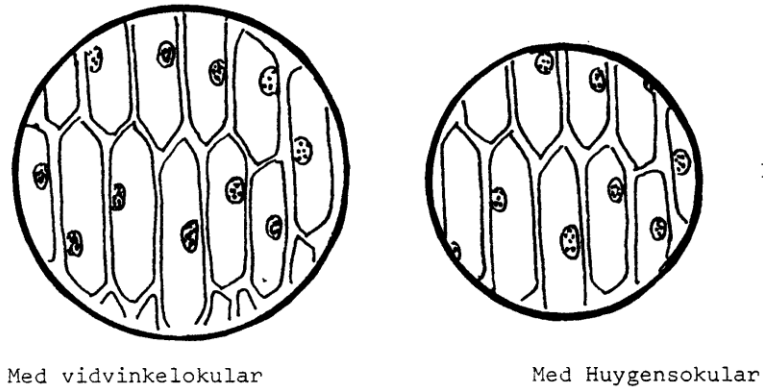


Figur 9

Vidvinkelokulalet

Vidvinkelokulalet kan være merket slik: W – 10 x eller WF - 10.

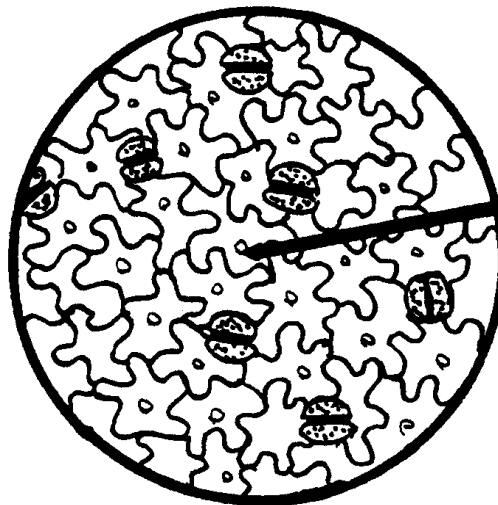
Disse gir stort synsfelt og er velegnet til skolebruk, men koster noe mer enn et vanlig Huygensokular. Dersom en sammenlikner prisene på to forskjellige instrumenter som er noenlunde like, må en ta dette med i betraktningen. Vidvinkelokulalet gir ikke større forstørrelser, men man får se en større del av det reelle mellombildet som objektivet danner (se figur 10).



Figur 10

Viserokular

Noen mikroskoper kan leveres med okular som har innebygd viser. Det kan være en stor fordel fordi en kan peke ut den delen av preparatet som en vil gjøre spesielt oppmerksom på (se figur 11).



Figur 11

Briller

Dersom en bruker svake briller, er det best å arbeide uten, og heller kompensere for synsfeilen ved innstillingen av mikroskopet. Må man mikroskopere med brillene på, er det viktig å unngå at

de støter eller skraper mot okulalet fordi både brilleglass og okulalets øyelinse kan få overflaten ødelagt. En spesiell brillebeskytter eller et lite stykke gummislange mellom brillene og okulalet kan være til hjelp. Noen firmaer kan levere spesielle brilleokularer. Disse gjør det mulig å arbeide med større avstand mellom øye og okular, så det blir plass til brillene. Synsfeltet blir da noe innsnevret.

Binokulært mikroskop

Mer kostbare instrumenter kan leveres med binokulær tubus. En binokulær tubus gir ikke et stereoskopisk bilde av preparatet. Det ene bildet fra objektivet "fordeles" på to okularer. Det er meget mer behagelig å arbeide med binokulær tubus, men prisen er høy. Den binokulære tubus koster ofte like mye som et helt elevinstrument av enklere type. Et viktig poeng en bør være oppmerksom på hvis en har tenkt å kjøpe mikroskop med binokulær tubus, er at det trenger dobbelt så stor lysstyrke som et mikroskop med monokulær tubus. Dette gjør at en større lysmengde må passere gjennom preparatet.

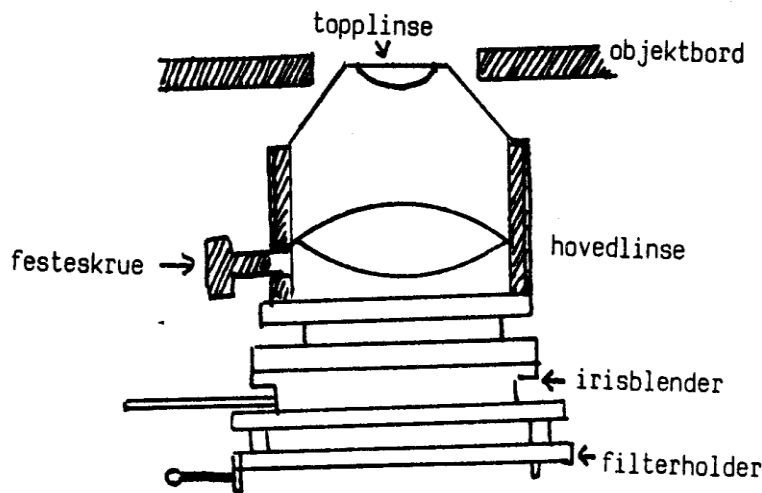
Hvis preparatet er farget, kan det få kortere levetid. Det blir varmet av den store lysmengden, og høy temperatur vil gi rask avfarging.

Kondensor

Rett under objektbordet vil vi på de fleste mikroskoper finne en kondensor. Ved å bruke kondensor oppnår man at:

- bildet blir mere lyssterkt
- bildet blir jevnt belyst
- bildet av selve lyskilden (glødetråden i lampen) ikke virker forstyrrende inn på bildet av objektet.

Når kondensoren er riktig innstilt, avbilder den lyskilden i objektplanet.



Figur 12: Enkel kondensor til et elevmikroskop

Kondensoren er som regel bygd sammen med aperaturlenderen og med en filterholder som er formet som en ring. På de enkleste mikroskopene sitter ofte kondensoren fast, mens den kan forskyves i vertikalretningen på de fleste modellene. På mange mikroskoper er kondensoren satt sammen av flere linser og har en høy verdi for numerisk aperatur, f.eks. N.A. 1,2. En slik kondensor kan forskyves og er også beregnet ved bruk av oljeimmersjon. For da å kunne utnytte kondensoren fullt ut, skal man egentlig legge en oljedråpe på kondensorens linse, slik at det ikke er noe luftrom mellom kondensorens øverste linse og objektivets nederste linse.

Dette vil vi ikke anbefale til skolebruk. Det kan føre til oljesøl som særlig kan være skadelig for blenderen. Dersom bildefeltet skulle bli ujevnt opplyst, kan det være nødvendig å anbringe en mattskive mellom lyskilden og kondensoren.

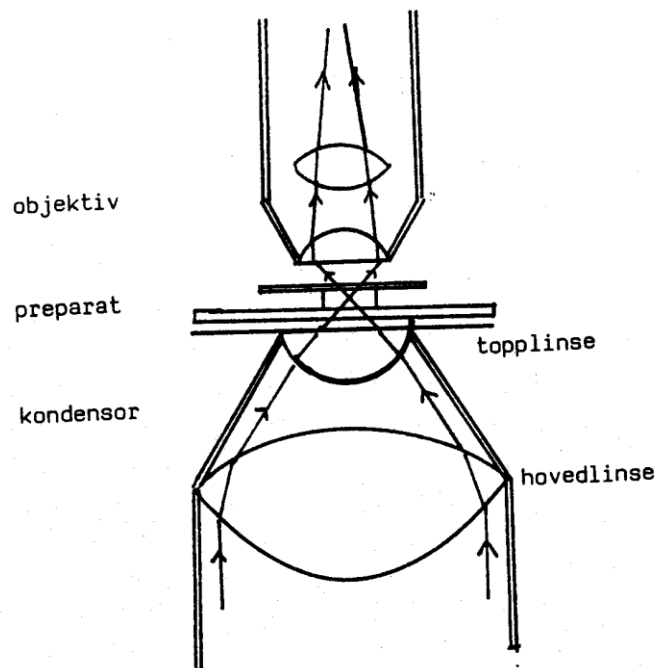
Hvis mikroskopet har en kondensor med høy verdi for numerisk apertur, N.A. 1,2 – 1,3, kan det være vanskelig å bruke med svake objektiver, det vil si med forstørrelser mindre enn 10 x.

Kondensoren kan da ikke belyse hele synsfeltet og man får se en mørk ring langs kanten av bildet. På noen mer avanserte mikroskoper kan en topplinse klappes til side eller skrues av når man skal arbeide med små forstørrelser.

Til alminnelig skolebruk kan man godt klare seg med en enkel, tolinset kondensor som har numerisk apertur N.A. 0,9, også til oljeimmersjon. Ved svake forstørrelser er denne faktisk å foretrekke.

En forskyvbar kondensor med høy verdi for numerisk apertur kan være for komplisert å bruke for elever i ungdomsskolen og i 1. klasse i videregående skole. De vil klare seg fint med en kondensor av enklere type. Ofte kan kondensoren være en enkel, fastsittende linse.

Dersom mikroskopets kondensor ikke er merket for numerisk apertur, kan man gå ut fra at verdien er lav, og at den derfor passer best for små forstørrelser, f.eks. 40 x - 100 x.



Figur 13: Lysgang gjennom kondensor, preparat og objektiv

Mikroskopets forstørrelser og oppløsningsevne

Skal man se strukturer på størrelse med instrumentenes oppløsningsevne må de avbildes med en forstørrelse som overskrider øyets oppløsningsevne, ca. 0,20 mm. For lysmikroskoper svarer dette til forstørrelser på henholdsvis 1.000X. Det er viktig at forstørrelse sees i sammenheng med oppløsningsevne. Dette kan enkelt demonstreres ved betrakte et avisbilde gjennom et forstørrelsesglass. Økes forstørrelsen gradvis får man først øye på nye detaljer, men man kommer

raskt til et punkt der en ser at bildet er rastret (dvs. bygget opp av små sorte og hvite prikker). Her definerer prikkenes størrelse bildets oppløsning idet ytterligere forstørrelser ikke gir mer detaljert informasjon men bare resulterer i at prikkene blir større ("tom" forstørrelse).

Forstørrelse

Med forstørrelse mener vi her alltid

- lineær forstørrelse
- total forstørrelse

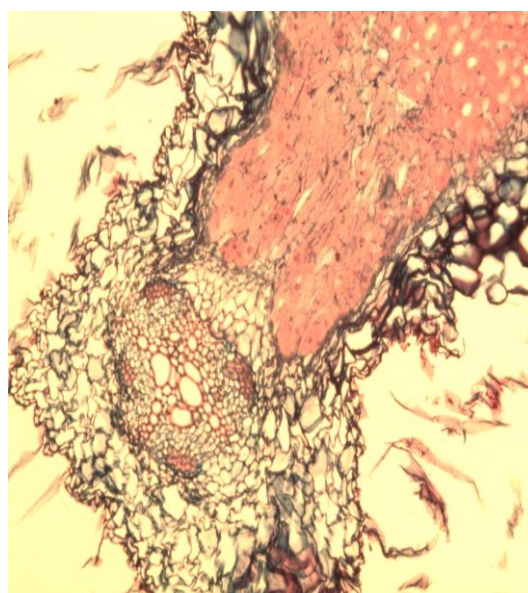
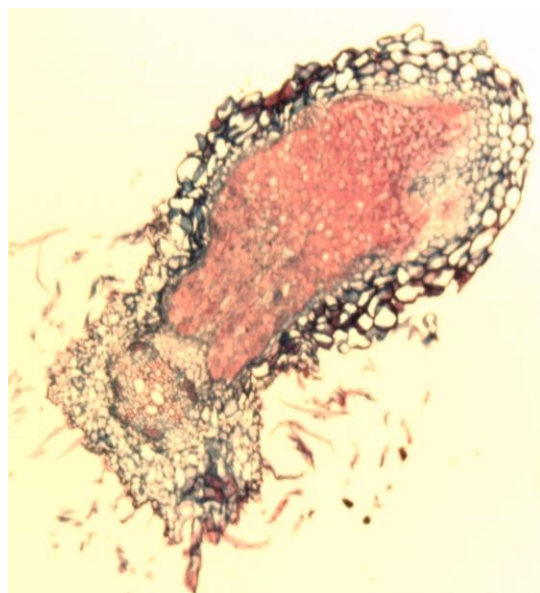
(Dersom vi skulle ta hensyn til øyets egen numeriske apertur som optisk system, ville vi få andre verdier for forstørrelse, de såkalte normalforstørrelser.)

Mikroskopets totale forstørrelse finner vi ved å multiplisere objektivets egenforstørrelse med okularets egenforstørrelse, for eksempel

Objektivet er merket 4x

Okularet er merket 10 x

Dette gir totalforstørrelsen $(4 * 10) \times = 40 \times$



Rotknoll på åkerbønne med nitrogenfikserende bakterier ved 10x og 40x forstørrelse.

På noen binokulære mikroskoper blir tubuslengden økt, og dette gjør at vi får større forstørrelse. Derfor må vi huske på å multiplisere med den såkalte tubusfaktor når vi skal finne forstørrelsen. Faktoren står i regelen merket av på det binokulære hodet, f.eks. 1,25.

Opplosningsevnen

Mikroskoper blir ofte vurdert etter evne til å forstørre, men det er lite hjelp i et stort bilde hvis man ikke kan skille ut de enkelte detaljene i bildet. Evnen til å skille ut detaljer er avhengig av optikkens oppløsningsevne. Opplosningsevnen kan defineres som:

Den minste avstand mellom to punkter når disse observeres som to adskilte punkter og ikke som ett punkt.

Jo kortere denne avstanden er, jo bedre er oppløsningsevnen.

Jo bedre oppløsningsevne, jo flere detaljer får vi se med samme forstørrelse.

Opplosningsevnen for et objektiv er avhengig av objektivets numeriske apertur, N.A., og av bølgelengden for lyset:

$$d = \lambda / N.A._{obj}$$

d = oppløsningsevnen

$N.A._{obj}$ = objektivets numeriske apertur og

λ = lysets bølgelengde

For vanlig, hvitt lys kan en sette gjennomsnittlig bølgelengde = 550 nm

For et objektiv med $N.A. = 0,65$ får en da oppløsningsevnen:

$$d = 550 \text{ nm} / 0,65 = 850 \text{ nm}$$

Jo større egenforstørrelse objektivet har, jo større er den numeriske apertur og jo bedre blir oppløsningsevnen. Den beste oppløsningsevnen for et lysmikroskop er 200 nm. Den totale forstørrelsen i mikroskopet må ikke overskride en viss verdi for å gi best mulig oppløsning. En

overskridelse gir bare "tom forstørrelse", og det kommer ikke fram flere detaljer. Denne grenseverdien er avhengig av objektivets numeriske apertur. Øvre grense er:

$$1000 \times \text{N.A.}$$

Eksempel:

Oljeimmersjonsobjektivet merket 100 x / N.A. 1,25

Øvre grenseverdi for dette objektivet er: $1000 \times 1,25 = 1250 \times$

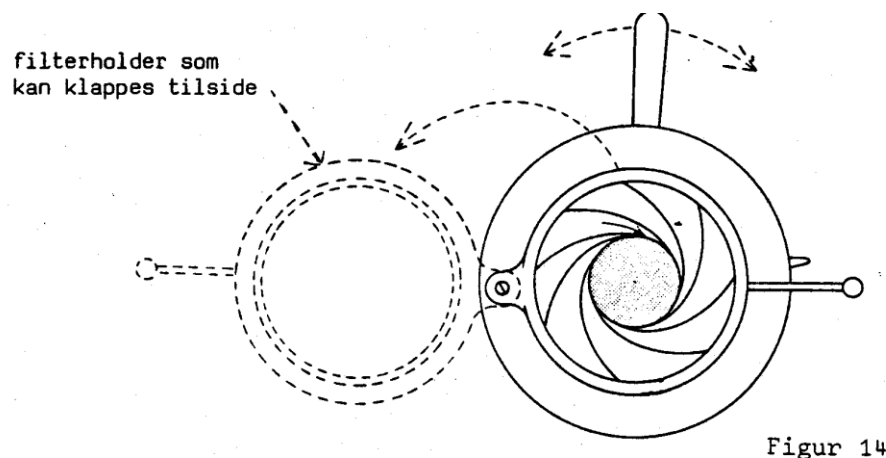
Denne forstørrelsen kan man få med okular 12,5 x.

Hvis man bruker okular 15 x, skulle man vente å få forstørrelsen 1500 x, men dette gir altså et "oppblåst" bilde som ikke gir flere detaljer.

På et vanlig elevmikroskop med ett okular er det å foretrekke 10 x eller 12 x.

For mikroskopet som helhet er oppløsningsevnen også avhengig av kondensorens numeriske apertur. En får ikke full nytte av oljeimmersjonsobjektiv med numerisk apertur på 1,25 hvis kondensorens numeriske apertur er på for eksempel 0,65.

Hvis en skal sammenlikne flere mikroskopers oppløsningsevne, kan det være en god hjelp å bruke et preparat av diatomeer.



Aperturblenderen er som regel bygd sammen med kondensoren og er en irisblender (figur 12 og figur 14), men den kan også bestå av en sirkelformet skive med hull, festet på undersiden av objektbordet. En hullblender er mer robust enn en irisblender, men den er mer tungvint i bruk, og gir ikke så gode resultater som en irisblender.

Ved liten blenderåpning:

- blir bildet av preparatet mørkere
- kontrasten økes
- men oppløsningsevnen blir dårligere og bildet blir uskarpt fordi det opptrer bøyningseffekter

Ved stor blenderåpning:

- blir bildet av preparatet lysere
- kontrasten svekkes
- men oppløsningsevnen blir bedre

Riktig bruk av blenderen er viktig for et godt resultat, og elevene må venne seg til å bruke den. Vær oppmerksom på at det ikke må komme immersjonsolje eller annet fett på skivene i en irisblender. De kan bli trege, og hvis man tilslutt må bruke makt for å få blenderen til å virke, kan skivene i verste fall bryte og hele blenderen falle fra hverandre i småbiter.

Fokusering

Fokuseringen ved skifte av forstørrelse bør være så god, at det bare er nødvendig med litt finstilling med mikrometerskruen for å få bildet skarpt igjen. Ellers kan mikroskopet bli for vanskelig å bruke for elever som har liten trening. Man bør kontrollere nye instrumenter nøye, og si fra til leverandøren hvis feilen er sjenerende.

Men husk:

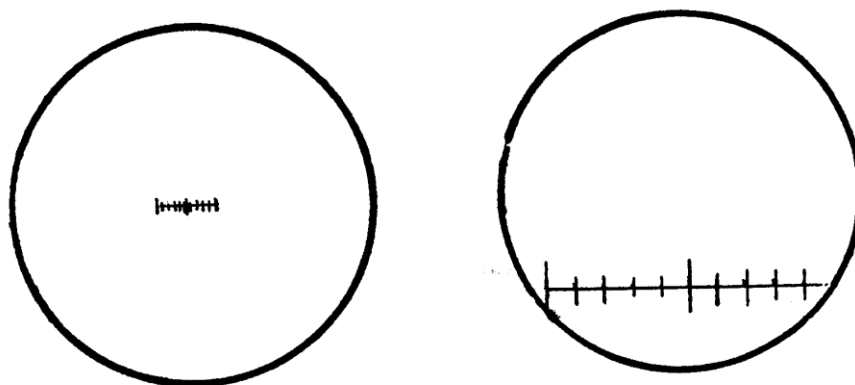
- en kan få dårlig fokusering dersom objektivene ikke er skrudd like langt inn i skruegjengene

- dybdeskarpheten er liten ved de største forstørrelsene, derfor kan fokuseringen være mindre god ved skifte f.eks. fra 100 x til 400 x, og dette må en regne som normalt
- en følsom mikrometerskrue må kanskje dreies et par omganger rundt før bildet kommer i fokus igjen.

Sentrering

Det er viktig å kontrollere sentreringen på nye mikroskoper. Spesielt er det viktig for enkle elevinstrumenter uten kryssfører. Det kan bli helt umulig for elever å "finne seg igjen" i preparatet ved skifte av forstørrelse når sentreringen er dårlig.

Bruk et prøveobjektglass med innrisset målestokk til kontroll. Dette er beregnet til bruk for å måle størrelsen på mikroskopiske objekter, men er også vel egnet til å undersøke sentrering, fokusering, fargefeil og uskarpheter.



Figur 15: Dårlig sentrering ved skifte av forstørrelse

Vanlige optiske feil

- fargefeil
- uskarphet i randen og krumning av synsfeltet
- mørk ring langs kanten av synsfeltet ved liten forstørrelse
- dårlig fokusering ved skifte av forstørrelse
- dårlig sentrering
- dårlig oppløsningsevne

Fargefeil

Fargefeil skyldes i regelen okulalet. De fleste objektiver er akromatiske. Noe fargefeil i kanten av synsfeltet må en regne med ved rimelige mikroskoper, og det virker heller ikke særlig forstyrrende.

Uskarphet i randen og krumning av synsfeltet

Dette må man også regne med som normalt for vanlige skolemikroskoper med akromatiske objektiver. Planakromatene er såpass dyre at det neppe er mulig for skolene å skaffe slike objektiver til elevbruk. Noen mikroskoper kan ha en ekstra linse mellom okular og objektiv som kompenserer for krumningsfeil, slik at det ikke er nødvendig med så kostbare objektiver for å få plant synsfelt.

Mørk ring langs kanten av synsfeltet ved liten forstørrelse

Dette kan forekomme ved mikroskoper som har en kondensor med høy verdi for numerisk apertur. Kondensoren konsentrerer lyskjeglen slik at bare midtfeltet blir belyst når en bruker et objektiv med stor diameter (stor krumningsradius og liten forstørrelse). Prøv om det hjelper å senke kondensoren. Dersom kondensoren er forsynt med topplinse som kan klappes til side eller skrues av, er det meningen den skal fjernes når man bruker det svakeste objektivet. Slike mikroskoper blir ofte levert uten objektiv 4 x eller 5 x.

Dårlig fokusering ved skifte av forstørrelse

Feilen kan skyldes at objektivene ikke er skrudd like godt på plass. Undersøk dette først. Si fra til forhandler hvis dette ikke nytter. Ofte kan det være mulig å rette feilen ved en korreksjon av skrugjengene, og dette bør forhandleren kunne påta seg.

Dårlig sentrering ved skifte av forstørrelse

Dette er en utpreget fabrikkasjonsfeil og man bør si fra med en gang til forhandler slik at man kan få byttet instrumentet, hvis feilen er så stor at det er vanskelig for elevene å bruke mikroskopet.

Dårlig oppløsningsevne

Dårlig oppløsningsevne kan skyldes at

- man bruker for svake objektiv
- objektivets numeriske apertur er for lav
- kondensorens numeriske apertur er for lav

Vanlige verdier for numerisk apertur:

For objektiver

4 x N.A. 0,12

10 x N.A. 0,25

40 x N.A. 0,65

100 x N.A. 1,25 (kan bare brukes med immersjonsolje)

For kondensor

N.A. 0,6 bare for "tørssystem"

N.A. 0,9 for tørssystem (kan også brukes for oljeimmersjon)

N.A. 1,2 - 1,3 for oljeimmersjon.

Hvis objektiv og kondensor ikke er merket for numerisk apertur, kan man gå ut fra at den er lavere enn de oppgitte verdier!

Biologisk materiale består hovedsakelig av stoffer (opp til 90 % vann) som har liten evne til å reagere med elektromagnetisk stråling. Ubehandlede celler er derfor tilnærmet usynlig i mikroskopet. Videre har elektromagnetisk stråling begrenset evne til å trenge gjennom materiale. Prøver for lysmikroskopi må derfor være svært tynne, henholdsvis 1-4 μm og så tynne skiver klarer vi sjelden å skjære av friskt materiale.

For å bedre kontrasten i studier av levende, ubehandlede celler kan man benytte seg av ulike optiske teknikker som for eksempel fasekontrast og polarisert lys.

Polarisasjonsutstyr

Polarisasjonsutstyret består av to filtre, et polarisasjons- og et analysefilter. Disse kan anbringes på et vanlig, godt mikroskop. Særskilte polarisasjonsmikroskoper leveres med spesiell og dyr optikk.

Upolarisert lys fra en vanlig mikroskoplampe sendes gjennom filter nr. 1, hvor lyset blir polarisert. Dette lyset går gjennom preparatet, hvor de optisk aktive delene dreier polarisasjonsplanet. Filter nr. 2 innstilles på mørkest mulig synsfelt. De optisk aktive delene av preparatet kan vises meget tydelig, og fremtrer sterkt lysende mot mørk bakgrunn. Preparatene kan opptre farget, fordi de forskjellige bølgelengdene av lyset kan dreies forskjellig.

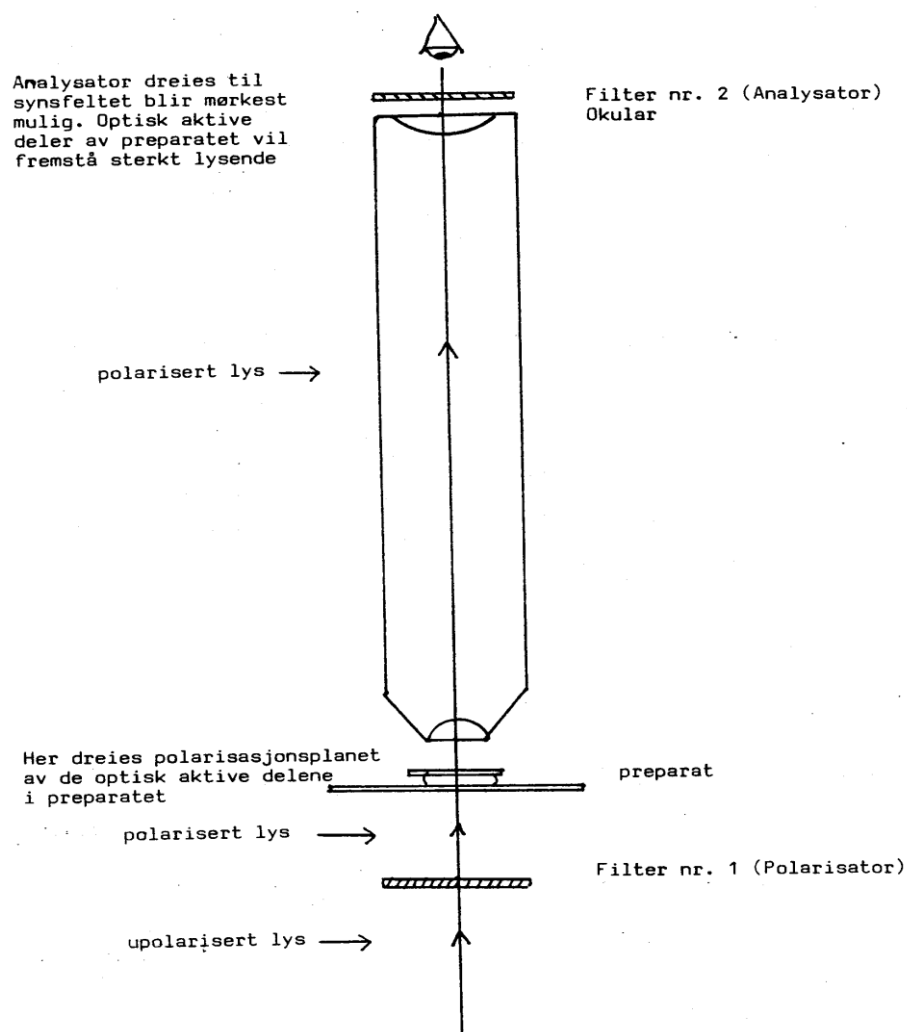
Man kan få kjøpt polarisasjonsutstyr spesielt tilpasset de enkelte mikroskopmodellene, men det er også mulig å bruke to vanlige sirkelformete polarisasjonsfiltre i fatning. Slike kan man få kjøpt rimelig i firmaer som handler med optisk utstyr.

Det er også mulig å få pent resultat med to plater polarisasjonsfilm uten fatning. Den ene legges oppå lampen og den andre holdes mellom okulalet og øyet. Analysatorplaten dreies slik at bakgrunnen blir så mørk som mulig. Vi fikk fint resultat med tverrsnitt av lindestengel og maisstengel og med kiselalger. Vi brukte et vanlig elevmikroskop med innebygd lampe i foten (220 V/25 W).

Fasekontrastutstyr

Et gjennomsiktig objekt med brytningsindeks som ligger nær omgivelsenes brytningsindeks, kan være vanskelig å se i et vanlig mikroskop. Farging av preparatet hjelper oss til å skille ut detaljer vi ellers ikke ville kunne se, men fargingen egner seg best til dødt og fiksert materiale. Ved hjelp av fasekontrastutstyr er vi istand til å skille ut detaljer også i levende celler, detaljer vi ikke ville få se med et mikroskop som har vanlig optisk utstyr.

Når lyset går gjennom forskjellige deler av et preparat, blir det noe faseforskjøvet der hvor de enkelte delene av preparatet har forskjellig brytningsindeks. Ved interferens vil dette gjennomfallende, faseforskjøvete lyset bli forsterket i noen retninger og svekket i andre. Resultatet blir at kontrastene i preparatet trer fram.



Figur 16: Polariseringsutstyr

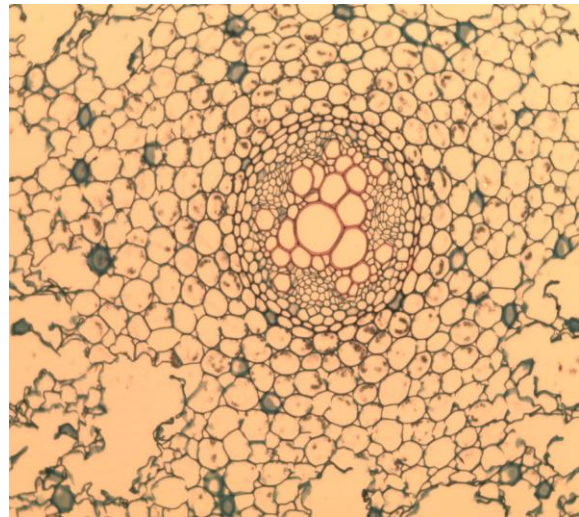
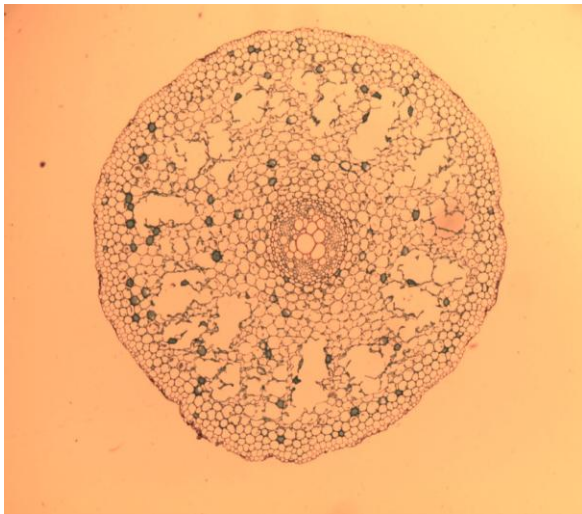
En kan få kjøpt fasekontrastutstyr til forskjellige merker og modeller av vanlig lysmikroskoper, men ikke til utpregede elevinstrumenter.

Den som skal bruke fasekontrastutstyr bør være godt fortrolig med det vanlige lysmikroskopet først.

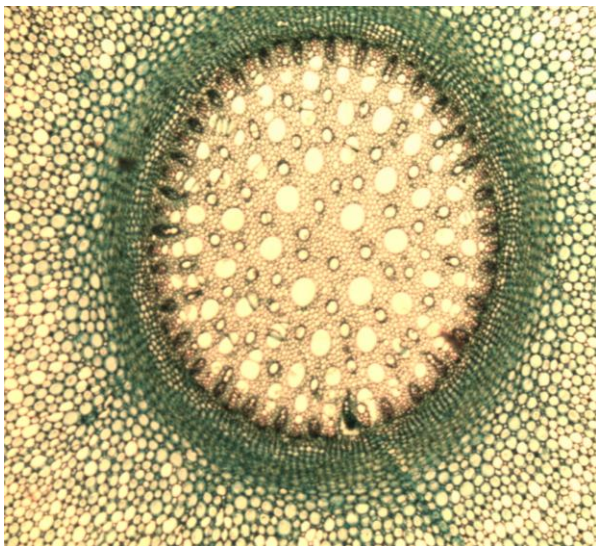
Prøvebehandling

Det finnes en rekke ulike organiske fargeløsninger som benyttes for å bedre kontrast og øke fargevariasjon i preparatene.

Fargeløsningene har spesifikk affinitet for visse cellekomponenter og brukes for å identifisere makromolekyler som DNA, RNA, proteiner, lipider, karbohydrater osv. Haematoxylin har affinitet for negativt ladede molekyler og binder til DNA og RNA i celler (gir blå farge). Dette fargestoffet benyttes ofte i kombinasjon med eosin som gir cytoplasma rosa farge. Andre eksempler er jodløsning til farging av stivelse og stivelseskorn, lysegrønn safranin til farging av planteceller, BTB til farging av bakterier, metylenblått til farging av bakterier og gjærceller.



Tverrsnitt tofrøbladet rot (Krypsoleie – *Ranunculus repens*), 10x og 40x forstørrelse.



Tverrsnitt av rot/stengel fra vannplante med luftrom 10x.

STEREOLUPER - STEREOMIKROSKOPER



Stereoluper kalles ofte for stereomikroskoper. En slik lupe er jo i virkeligheten satt sammen av to enkle mikroskoper. Her vil vi bruke betegnelsen stereolupe. (må ikke forveksles med binokulære mikroskoper som bare har ett objektiv, og som derfor ikke gir stereoskopiske, tredimensjonale, bilder.)

Ved hjelp av dobbelte okularer og dobbelte objektiver gir instrumentet stereoskopiske bilder med forstørrelser f.eks. mellom 10 x og 60 x. Med 10 x forstørrelse får man gode oversiktsbilder dersom synsfeltet er stort nok. Med 60 x forstørrelse kommer finstrukturen i objektet selvsagt tydeligere frem, men dybdeskarpheiten blir dårligere. Forstørrelser mellom 10 x og 40 x er best egnet til skolebruk.



Studier av flue og fasettøyne med stereolupe.

Det kan være vanskelig for yngre elever å forstå hva det er de ser når de bruker et vanlig lysmikroskop med stor forstørrelse. Derimot kan de ha stort utbytte av å bruke stereolupen.

Instrumentet er enklere å betjene enn mikroskopet fordi

- alle bevegelser går "riktig vei": forskyves preparatet f.eks. til høyre, så går også bildet til høyre
- det er bare en fokuseringsskrue
- det er ikke nødvendig med noen spesiell behandling av preparatet, og eleven kan lage det istand selv

Stereolupen kan med fordel brukes av elever på alle klassetrinn. Det er ikke bare enkelt å betjene, men også et spennende instrument å bruke, for eksempel for å studere detaljene i en insektvinge eller et fasettøye. Bruk det ved studier av innsamlet materiale fra nærmiljø og ekskursjoner. Det er et helt nødvendig hjelpemiddel i systematikk. De fine og ofte vakre detaljbildene en stereolupe kan gi, vil også være med til å gi elevene en større respekt for og glede over variasjon og mangfold i naturen.

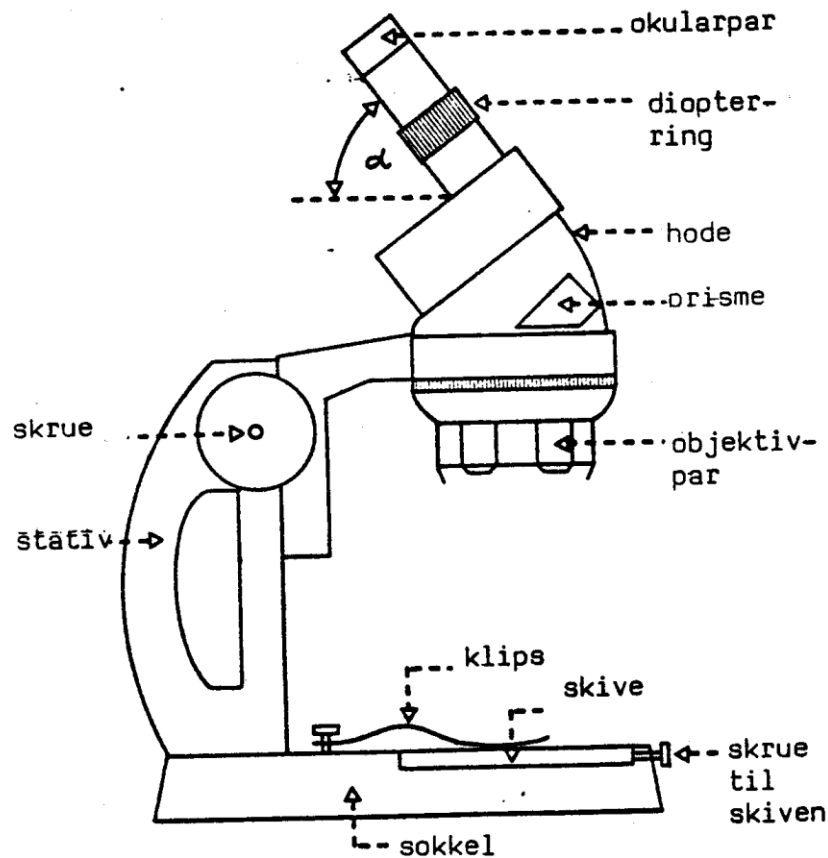
Kombinert med bruk av lupe og mikroskop kan man oppnå en god forståelse av hvordan en levende celle er bygd. Da kan man med fordel gå trinnvis fram til større forstørrelse, bruk lupe, stereolupe og mikroskop til slutt. Stereolupen vil da tydelig vise at cellene ikke er små flate skiver. Cellene fra huden på innsiden av et løkskjell er for eksempel godt egnet. Hvis man legger et stykke av hudvevet på et tørt objektglass, vil cellevevet se ut som et stykke stoff fra en boblejakke.

Stereoluper må finnes til elevbruk både i hele skoleløpet. Men det er ikke nødvendig med fulle klassesett, og man kan skaffe seg noen få til å begynne med og så bygge ut etter hvert. I den videregående skolen må en ha elevmikroskoper fra vg1 slik at alle elevene får anledning til å sette seg inn i bruken av instrumentet. I vg2 er det nødvendig at man også har tilstrekkelig med stereoluper. I ungdomsskolen er stereolupen det viktigste instrumentet. Instrumentet er også godt egnet til bruk i andre fag enn biologi:

Geologi: (bergarter og mineraler)

Kjemi: (krystallinske stoffer)

Tekstilaktivitet: (garn og stoffer) m.m.



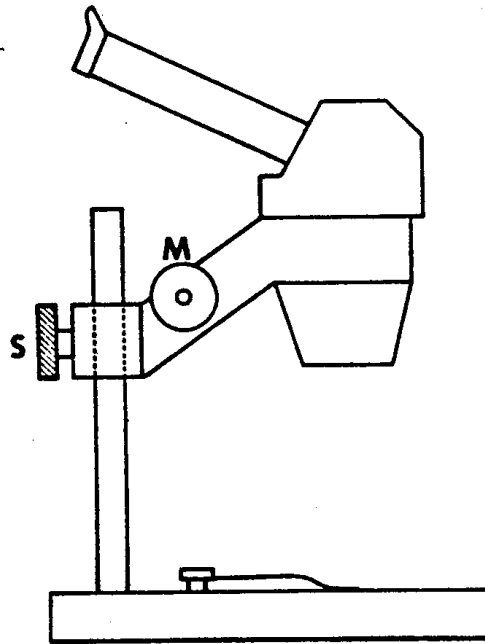
Figur 17: Enkel stereolupe uten belysning

Stereolupens oppbygning

Stereolupen bør ha en slik form at den er lett å hente fram fra et skap eller en hylle, og den bør ikke ta for stor plass. Den må være stødig og ha god arbeidshøyde. Skråstilt tubus med innebygd prisme gir god arbeidsstilling.

Noen instrumenter har et håndtak i ryggen og er spesielt gode å håndtere.

Noen stereoluper er i prinsippet bygd som på fig. 18. Her er hodet festet til en stang ved hjelp av en skrue, S. Da må du foreta en grovinstilling med denne skruen før du begynner fininnstillingen med skruen M. Er en litt uforsiktig, vil skruen på stanga løsne, og hele hodet kan falle ned på bunnplaten hvis det ikke er noen stoppanordning. Slike instrumenter bør med fordels unngås i skolen, dersom det skal kjøpes inn nytt utstyr.



Figur 18: Stereolupe, eldre type

Tubus

De fleste instrumenter leveres nå med skrå tubus, 45° gir bekvem arbeidsstilling. Vanlig høyde på hele instrumentet ved normal arbeidsstilling er da 35 - 40 cm. Noen instrumenter leveres med rett tubus, og bør da være noe lavere, slik at arbeidsstillingen likevel blir god. Helst bør da høyden være under 30 cm ved normal arbeidsstilling.

Sokkel ("fot")

Et instrument med smal fot tar liten hylleplass, men kan bli noe ustabilt. Dersom det er innebygd transformator for lavvoltbelysning i sokkelen, er denne så tung at det ikke blir noe problem.

Hvis instrumentet har innebygd lys med lampe i sokkelen, er denne forsynt med en sirkelformet glasskive. Denne bør være av matt glass, ellers kan underlyset bli sjenerende sterkt.

På instrumenter uten underlys er denne skiven gjerne svart på den ene siden og hvit på den andre.

En får prøve seg frem til hva som passer best til det enkelte preparat.

Dersom en ser på f.eks. plankton eller cellevev, kan det gi fin virkning hvis en legger et alminnelig lommespeil under preparatet og skaffer seg underlys på den måten. Hvis det er en

mattskive i foten, kan speilet også plasseres under denne. Det gir best virkning ved tynne preparater.

Fokuseringsskruer

Her er bare en fokuseringsskrue, og den hever og senker hele hodet med tubus. Skruen kan på noen instrumenter ha frigang i ytterstillingene. Dette kan være en fordel. Dersom frigang mangler og det er full stopp i ytterstillingene, kan man komme til å vri for hardt slik at man kommer forbi ytterstillingen og dermed ødelegge mekanismen. I regelen er imidlertid stoppanordningen god, og ved vanlig bruk skulle det ikke by på noe problem.

Hvis fokuseringsskruen er løsnet og hodet siger ned, kan dette, i regelen rettes ved å skru den fast igjen, enten med en skrutrekker eller en spesialnøkkel. I noen tilfelle kan man stramme fokuseringsskruen ved å vri skruehodene innover mot hverandre som vist på fig. 5. Dersom hodet siger tiltross for strammingen, må instrumentet til reparasjon.

På instrumenter av den typen som er avbildet på fig. 18, må en først foreta en grovjustering med den skruen som fester hodet til stangen. Dette bør være gjort før elevene skal ta instrumentet i bruk, ihvertfall for elever i grunnskolen.

Belysning

Stereolupene kan deles i fire hovedgrupper:

- Enkle luper hvor man må ha ekstra lyskilde for påfallende lys, enten frittstående eller med lampe festet på instrumentet
- Luper med innebygd belysning for påfallende lys
- Luper med innebygd belysning for påfallende og gjennomfallende lys
- Luper med innebygd belysning og med zoomlinser

De siste er kostbare instrumenter som er egnet til lærer- og demonstrasjonsinstrumenter.

Vi skal se her litt på belysningen for de tre første gruppene.

Ofte kan en klare seg uten ekstra lampe, godt dagslys fra et vindu eller god rombelysning kan være tilstrekkelig for noen objekter. Ellers er det best med en liten ekstra lampe som kan kobles direkte til lysnettet og er bevegelig.

De instrumentene som ikke har innebygd lys er enklere, lettere å håndtere og en kan ta dem med ut ved feltundersøkelser. Noen stereoluper har spesiallamper som er festet utenpå selve instrumentet. De kan gi meget god skrå belysning, hvor lys- og skyggevirking gjør at detaljene trer tydelig frem. Men det kan være litt av et problem når slike instrument skal settes inn i skap. Lampen stikker ut på siden, og kan være temmelig sårbar.

Luper med innebygd belysning for påfallende lys. De har gjerne en sirkelformet svart/hvit skive festet i foten med en enkel skrue, slik at det er lett å skifte side. (Pass på at skiven er skikkelig festet) Dersom skiven er en mattskive, kan en skyve et lommespeil mellom denne og bordplaten, og på denne måten skaffe seg et ganske godt underlys. Noen instrumenter kan leveres med begge skivetyper.

Luper med innebygd belysning for både gjennomfallende og påfallende lys. Dette er den typen som er mest vanlig til skolebruk. Instrumentet kan kobles direkte til lysnettet og kan ha innebygd transformator. Disse instrumentene er enkle å arbeide med i klasserom, og er godt egnet til elevbruk. Flere modeller har trippelbelysning, dvs. påfallende, gjennomfallende og både påfallende og gjennomfallende lys samtidig. Undersøk hva slags lamper som brukes på instrumentet, det er ikke sikkert de er å få i vanlig handel. Sørg for å få reservelamper med ved kjøp av instrumentet. Ved flere av instrumentene må en bunnplate skrues av når man skal skifte lampe. Pass på så okularet ikke faller av! De fleste stereoluper har løstsittende okularer. Bryterne kan være noe sårbare og lette for eleven å plukke fra hverandre. Innebygd overlys kan ofte gi noe kort arbeidsavstand, slik at det kan være vanskelig å få plassert et større objekt under lampen.

Optikken

For å kunne gi et stereoskopisk (tredimensjonalt) bilde av et objekt er det nødvendig at instrumentet er forsynt med to objektiver og to okularer. Stereolupen består egentlig av to helt adskilte mikroskoper som danner en vinkel på ca 15° med hverandre. Objektet blir derfor

sett fra litt forskjellig retning med høyre og med venstre øye, slik at bildene får litt forskjellig perspektiv. Dette blir så av hjernen oppfattet som et tredimensjonalt bilde av objektet. Ved hjelp av to innebygde prismepar blir bildet rettvendt på samme måte som i en prismekikkert. Dette gjør instrumentet enkelt i bruk.

Okularer

Huygensokularer

Dersom okularene ikke er merket med noen andre opplysninger enn egenforstørrelsen, kan man gå ut fra at det er Huygensokular. Disse har ofte bra optikk, men forholdsvis lite synsfelt.

Vidvinkelokularer

Disse er merket W eller WF og gir stort synsfelt, og er noe dyrere. Det vanlige er okularer med egenforstørrelse 10 x. På noen instrumenter må man skifte ut okularene når man skal skifte forstørrelse. Dette er nokså upraktisk, og løse linser har lett for å "bli borte". Hvis man må kjøpe okularpar ekstra kan det komme til å fordyre instrumentet vesentlig. Unngå slike ved nyinnkjøp

Øyeskjerm = kappe

På de fleste stereolupene finnes det en skjerm (eller kappe) som kan festes på hvert okular. Denne sørger for riktig avstand mellom okular og øye, og skjermer godt slik at man ikke blir forstyrret av lys fra siden. Den insnevrer imidlertid synsfeltet noe og den kan gjøre det vanskelig å se detaljer i kanten av bildet. Med litt trening kan man klare seg bra uten øyeskjermene.

Diopterring

På de fleste stereoluper er det mulig å forskyve det ene eller begge okularene ved hjelp av en gradert diopterring.

Objektiver

Trommel

Objektivene sitter i regelen festet parvis inne i en trommel, og man kan enkelt skifte forstørrelse ved å dreie på trommelen. Som oftest er den forsynt med to objektivpar, f.eks. med egenforstørrelse 1 x og 3 x eller 2 x og 4 x.

Slæde

På noen instrumenter er objektivparene festet på små sleder som skal skyves på plass. I regelen må man da fjerne det ene objektivparet helt før man setter inn det andre. På denne måten kan man få hele sett med løse linsepar. Disse bør man samle i esker og bare dele dem ut til elevene når det er bruk for dem. Dette er ikke særlig praktisk. Men dersom linseparene skulle bli borte, kan man jo alltid få kjøpt nye. Dette bør unngås ved nyinnkjøp av instrumenter

Forsatslinse

Andre instrumenter kan leveres med store, løse linser som kan festes under objektivparet, slik at man kan skifte forstørrelse på denne måten. Da kan det bli liten avstand mellom linsen og foten, slik at det blir dårlig plass til et større objekt. Hvis instrumentet er av den typen som er avbildet på figur 18, kan det også bli nødvendig med en grovinnstilling først ved å flytte hele hodet på stangen for å få bildet i fokus.

Zooming

Ved zooming skjer en forskyvning av et ekstra linsepar mellom objektiver og okularer. For å få et godt resultat ved zoomingen, må en først stille skarpt ved største forstørrelse, så skru tilbake til minste forstørrelse, og så begynne selve zoomingen. Det skal ikke være nødvendig å bruke fokuseringsskruen noe særlig ved zooming opp til største forstørrelse.

Forstørrelser

Instrumentet bør kunne gi to forskjellige forstørrelser, f.eks. 10 x og 30 x, eller 20 x og 40 x. Mange foretrekker å ha minsteforstørrelsen på 10 x, fordi en da får gode oversiktsbilder med stort

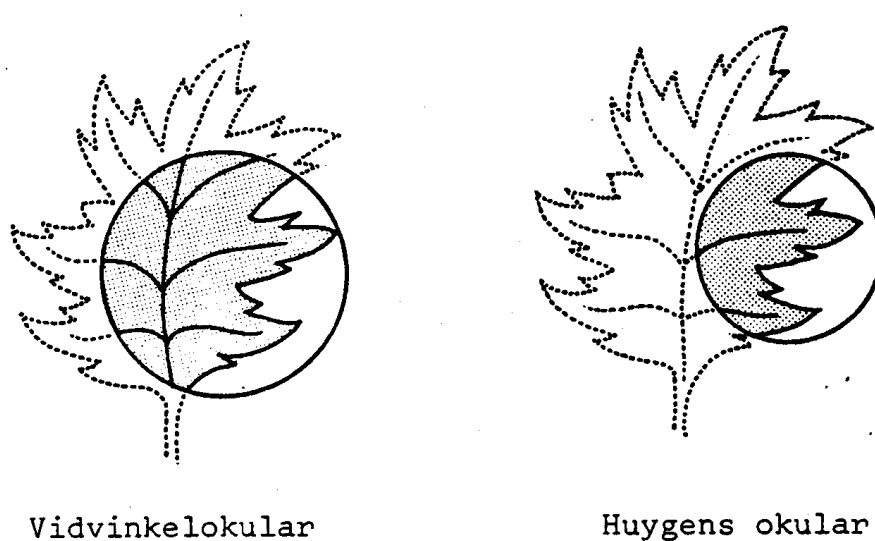
synsfelt. Største forstørrelse bør ikke være mer enn ca. 40 x, fordi bildet da får mindre dybdeskarpheit.

Synsfelt

Det er viktig at synsfeltet er forholdsvis stort. Med vanlige skoleinstrumenter er dette gode størrelser på synsfeltets diameter:

Forstørrelse	Synsfelt
10 x	20 mm
20 x	10 mm
30 x	7,5 mm
40 x	5 mm

Forskjellen på stort og lite synsfelt ved samme forstørrelse, fremgår av figuren:



Figur 19

Det kan være stor forskjell på diameteren i synsfeltet for samme forstørrelse på de forskjellige instrumentene.

Selv ganske unge elever i de første klassene i grunnskolen kan ha stor glede av å bruke stereolupen. Men de kan selvsagt ikke klare innstillingen med diopterring, så der må læreren først ha innstilt begge okularene likt. Det går i regelen bra, selv om det skulle være litt forskjell på synet på høyre og venstre øye.

Barn som bruker forholdsvis svake briller, kan med fordel legge dem til side og arbeide uten.

Feil som kan oppstå

Vanlige feil ved optikken kan være:

- uskarphet
- fargefeil
- fortegning
- liten dybde skarphet

Alle disse feilene kan du enkelt kontrollere ved f.eks. å bruke et kronestykke som objekt.

Uskarpheten i kanten av bildet kan komme av at man bruker øyeskjermer på okularene. Prøv uten!

Fargefeil og fortegning av bildet vil som regel bety lite ved så små forstørrelser som det her er tale om. De vanlige instrumentene som er i handelen til skolebruk, har minimale feil.

Liten dybdeskarphet. Jo større forstørrelse man velger, jo mindre dybdeskarphet får man. Til elevbruk har det liten hensikt å bruke forstørrelser over 40 x. Belysning ovenfra og på skrå gir best resultat.

I grunnskolen vil elevene ha størst utbytte av stereolupen, mens mikroskopet kan vente til videregående skole. Dette avhenger jo av hvilke mål eleven skal nå. I kunnskapsløfte (K06) skal eleven kunne en del cytologi i 10. Klasse. Til demonstrasjon bør en likevel ha et vanlig lysmikroskop ved siden av stereolupene.

LITTERATURLISTE

Morten Motzfeldt Laane og Thore Lie : *Moderne mikroskopi med enkel måte*, Unipub 2007

Allan Jones med flere: *Practical skills in Biology*, Pearson education limited, 4 utgave 2007

NETTSIDE

<http://microscopy.fsu.edu>

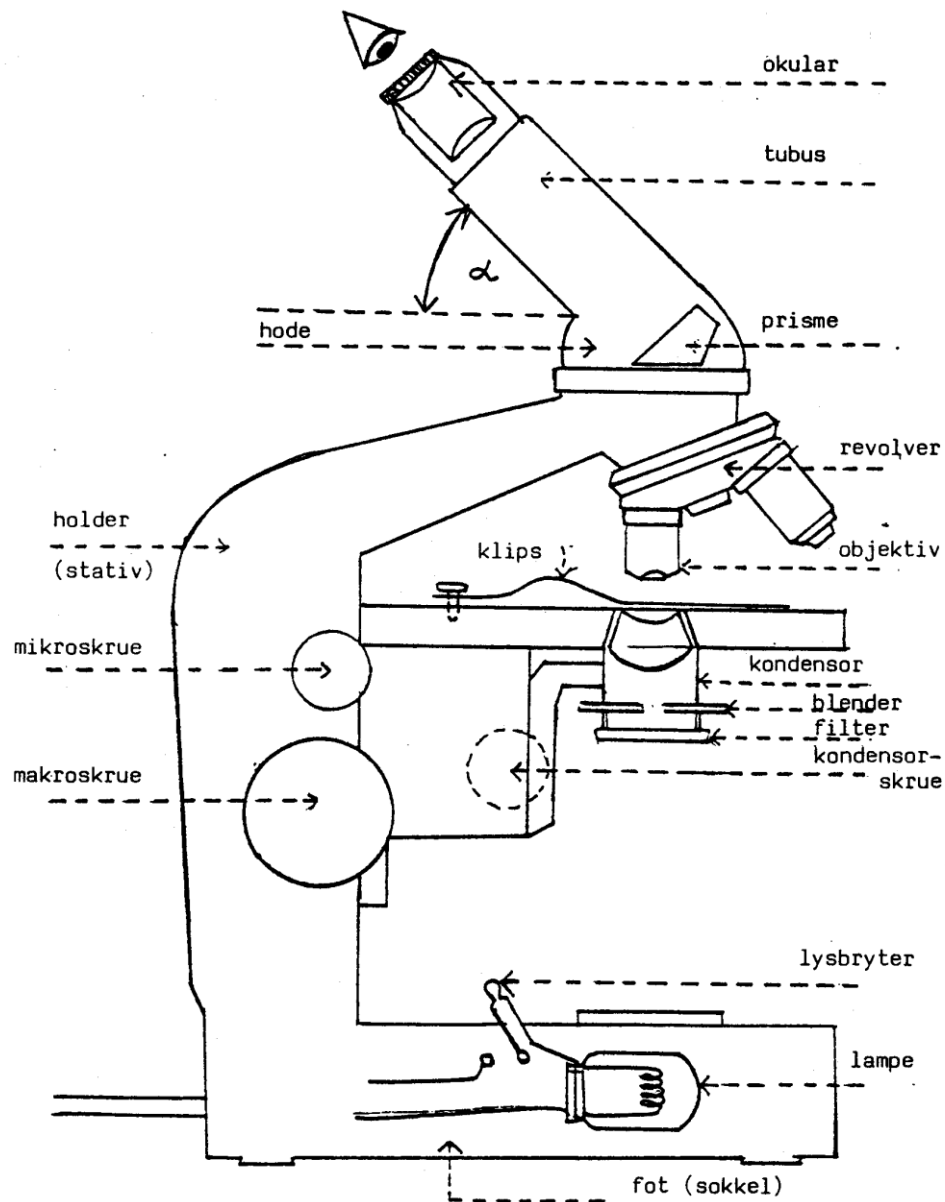
TILLEGG

Det kan være nyttig å ha en skriftlig instruks når man skal lære elevene å behandle mikroskoper og stereoluper riktig. Disse siste sidene er ment som et forslag til en slik instruks.

Man bør også forklare elevene hvor kostbare slike instrumenter er. Og man bør selv kontrollere at instrumentene er i orden før de blir satt bort etter bruken.

De to siste figurene er uten tekst, og de kan kopieres slik at elevene selv kan sette inn den manglende teksten.

Det lønner seg å bruke litt god tid på selve innlæringen i bruk.



Figur 20: Mikroskop

Innstilling og bruk av mikroskopet

1. Kontroller at instrumentet er i orden når du skal bruke det. Si fra til lærer med en gang hvis noe er galt.
2. Tenn lyset.

3. Drei revolveren slik at du får innstilt med minste forstørrelse først (svakeste objektiv). Du skal høre et lite knepp når objektivet er på plass. Bruk helst selve skiven når du skal dreie, ikke objektivene.
4. Legg objektglasset med preparatet på objektbordet og fest det med klipsene. Forskyv objektglasset slik at lyset fra mikroskoplampen treffer selve preparatet.
5. Løft objektbordet ved hjelp av makroskruen til det står i øverste stilling.
6. Se ned i okulalet og innstill med fokuseringsskruene til du får et skarpt bilde av preparatet. Bruk makro skruen først og finstill til slutt med mikroskruen.
7. Du bør venne deg til å ha begge øynene åpne samtidig. Ikke knip igjen det øyet du ikke bruker, selv om du bare har ett okular.
7. Forskyv preparatet til du får den viktigste delen i sentrum N.B. Når du skyver preparatet, så forskyves alltid bildet i motsatt retning. Trening: Skriv bokstaven h på et stykke papir og legg det inn under objektivet. Skyv det frem og tilbake mens du ser ned i okulalet og gi deg ikke før du får det til å bevege seg slik du vil.
8. Prøv deg frem med blenderen til du får størst mulig kontrast i bildet.
9. Hvis mikroskopet har kondensor som kan forskyves, skal du sette den i lav stilling ved minste forstørrelse og så forskyve den oppover når du skifter over til større forstørrelse. Hvis du får se en svart ring langs randen av synsfeltet, skal kondensoren ned i laveste stilling, og du må åpne blenderen godt. Skift over til neste størrelse, så forsvinner ringen. Ved største forstørrelse skal kondensoren stå høyt oppe. Prøv deg fram!
10. Skift over til neste forstørrelse, f.eks. fra objektiv 4 x til 10 x og skarpstill med mikroskruen. Det skal ikke være nødvendig å bruke makroskruen nå. Må du likevel gjøre det, så arbeid forsiktig så du ikke presser objektivet ned på dekkglasset!

11. Bruk blender og kondensor så du får skarpest mulig bilde og størst mulig kontrast. Det skal litt øvelse til. Ikke glem å bruke blenderen.

12. Forskyv preparatet til du får den viktigste delen i sentrum av synsfeltet og skift over til største forstørrelse.

NB! Når du arbeider med de sterkeste objektivene må du passe på ikke å presse objektivet ned på dekkglasset! Både objektivlinsen og preparatet kan bli ødelagt! Løft objektbordet forsiktig så det står i øverste stilling. Bruk makroskruen og se på objektivet fra siden. Senk objektbordet langsomt mens du ser i okulalet. Bruk mikroskruen til siste fininnstilling.

13. Skal du bruke objektiv 100 x, må du bruke immersjonsolje. Dette må kun gjøres i samarbeid med læreren.

14. Når du er ferdig med mikroskopet skal du sette det tilbake på plass:

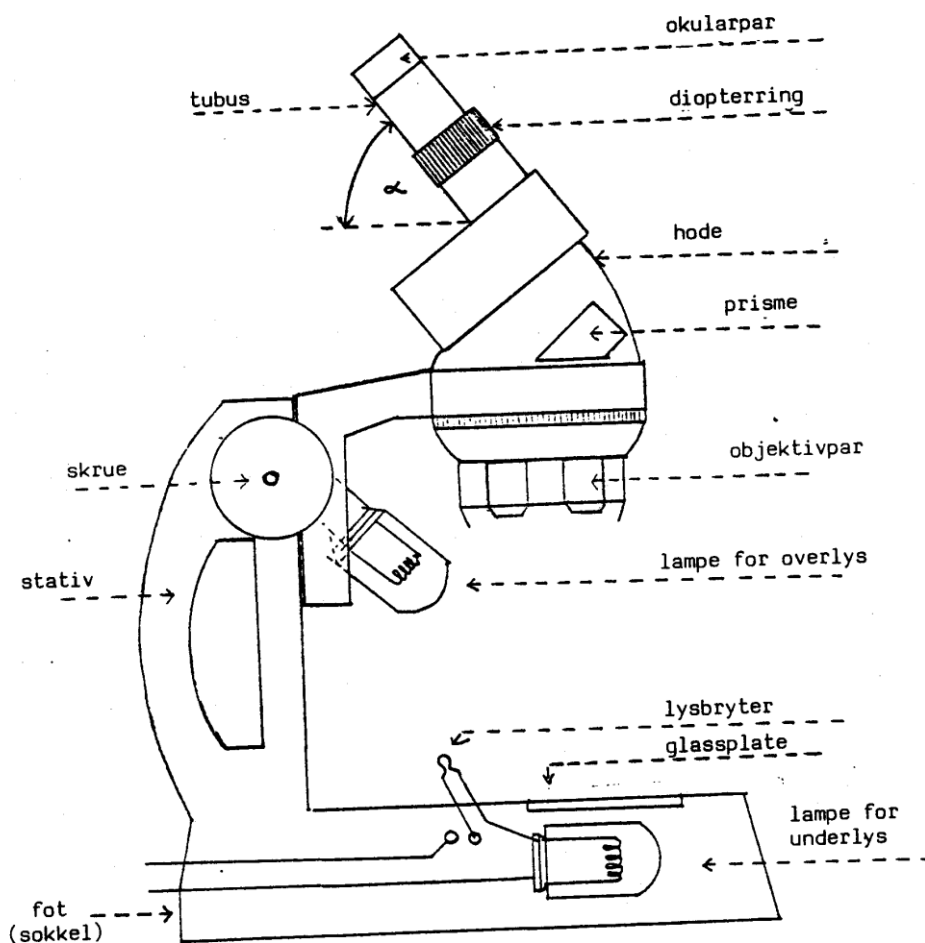
- innstilt med svakeste objektiv på plass
- med objektbordet i laveste stilling
- med støvhetten på

NB! Husk:

- å fjerne preparatet
- tørke bort vannsøl med filterpapir - tørk bort oljesøl

Linsene må pusses med spesielt linsepapir eller et helt rent lommestørkle

Du må aldri ta direkte på linsene med fingrene. Arbeid alltid med rene hender.



Figur 21: Stereolupe

Innstilling og bruk av stereolupen

1. Kontroller at instrumentet er i orden når du skal bruke det. Si fra til lærer med en gang hvis noe er i veien.
2. Tenn lyset. Bruk overlys og minste forstørrelse først.
3. Legg f.eks. en femti- øring på platen under objektivene.
4. Bruk fokuseringsskruen og still hodet med okularene i laveste stilling.
5. Se ned i okularene og løft okularhodet inntil du får se mynten. Nå skal du finstille:
6. Først skal du innstille slik at okularavstanden passer til avstanden mellom dine øyne, og slik at du får se et tredimensjonalt bilde av mynten. Bruk bare høyre øye først, og innstill slik at du får se et tydelig bilde. Så lukker du høyre øye og bruker bare det venstre.

Forskyv venstre okular i horisontal retning til du får se et tydelig bilde bare med venstre øye. Hvis du har gjort dette riktig, og du har likt syn på begge øynene, skal du nå få se et tredimensjonalt bilde av mynten når du bruker begge øynene samtidig.

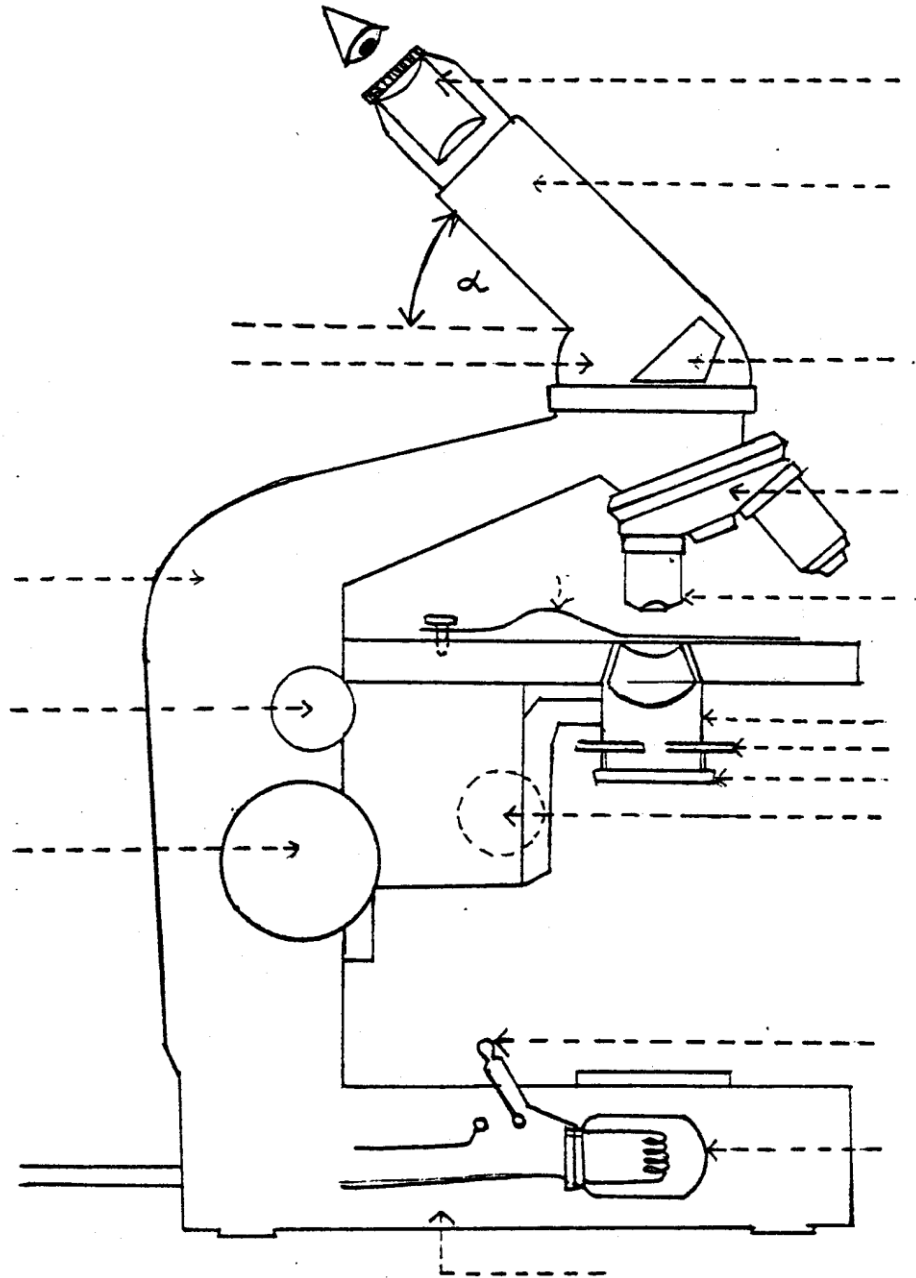
7. Hvis bildet ikke blir like skarpt for begge øynene, må du bruke diopterreringen til fininnstilling. Dette gjør du slik:
 - hvis det venstre okularet har diopterreringen, begynner du med det høyre øyet
 - lukk det venstre øyet og bruk skruen til du får et helt skarpt bilde av mynten med det høyre øyet
 - lukk det høyre øyet og reguler med diopterreringen til du får se et helt skarpt bilde med det venstre øyet
 - bruk nå begge øynene
8. Hvis du har innstilt riktig både for øyeavstand og med diopterreringen, skal du se et skarpt, tredimensjonalt bilde av mynten.
9. Nå kan du skifte forstørrelse ved å skifte objektpar som sitter i tromlen nederst på hodet. Drei på tromlen til du hører et lite knepp. Nå skal det bildet du ser være forstørret, men det er kanskje ikke like skarpt over det hele, derfor må du nå bruke skruen litt.
10. Hvis du ser på mer eller mindre gjennomsiktige preparater, kan du bruke underlyset. På noen stereoluper er det mulig å bruke over- og underlys samtidig.
11. Preparatene kan legges direkte på glasskiven i foten, på et filterpapir eller i en petriskål. Du kan også se på vanlige mikroskopiske preparater, men du får jo ikke så stor forstørrelse med en stereolupe, bare 20 x - 40 x.

Med et elevmikroskop kan du få forstørrelser fra 40 x - 400 x.

Når du er ferdig med stereolupen, skal du sette den tilbake på plass med støvhetten på.

NB!

- husk å fjerne preparatet
- tørke bort vannsøl med filterpapir
- ta aldri direkte på linsene med fingrene, de skal pusses med et helt rent lommestørkle eller spesielt linsepapir
- arbeid alltid med rene hender



Figur 22

