

MICROSCOPE

(株) 澤 産 商 易 技 術 部

2003.12.08

대 리 진 재 환

배율에 의한 구분

구 분	배율
광학현미경	~ 삼천배
전자현미경	~수십만배
원자현미경	~수천만배

레이리

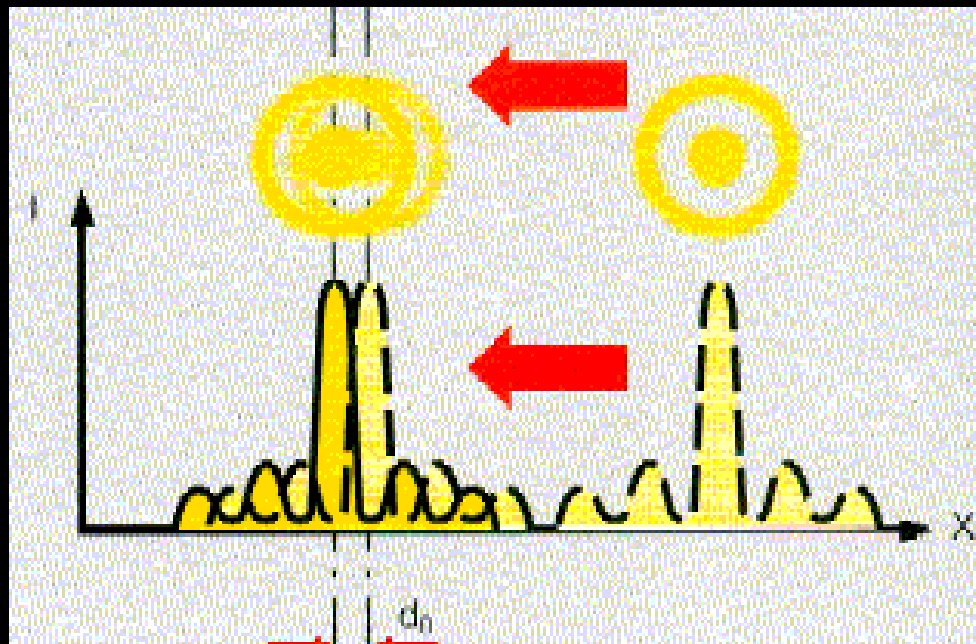
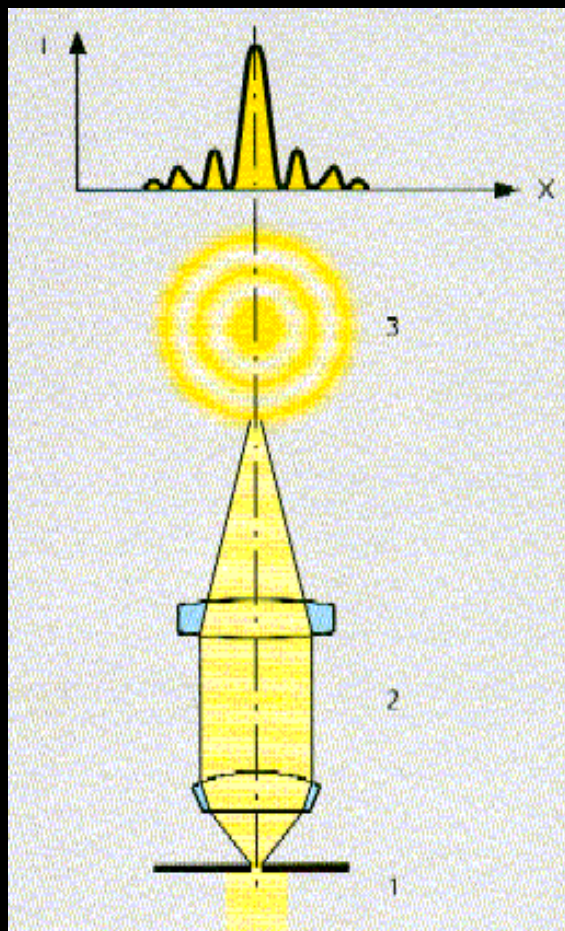
(John William Strutt Rayleigh, 1842 ~ 1919)



- 영국의 물리학자
- 1894년 W.램지와 함께 아르곤을 발견, 그 공로로 1904년 노벨물리학상을 받았다.
- 초기 연구는 광학 및 진동계에 관한 수리적인 것이었으나, 후에는 물리학 거의 전반에 걸친 이론적·실험적 연구로 나아가, 음향학·파동론·색채론·전기역학·전자기학·빛의 산란·유체역학·기체의 밀도와 점성, 모세관현상·탄성·사진술 등을 연구했다.

Rayleigh's Law

- 분해능은 관찰 파장의 반보다 작을 수 없다.



$$d_0 = \frac{1.22\lambda}{N.A.obj. + N.A.cond.}$$

$$d = \frac{\lambda}{2N.A.}$$

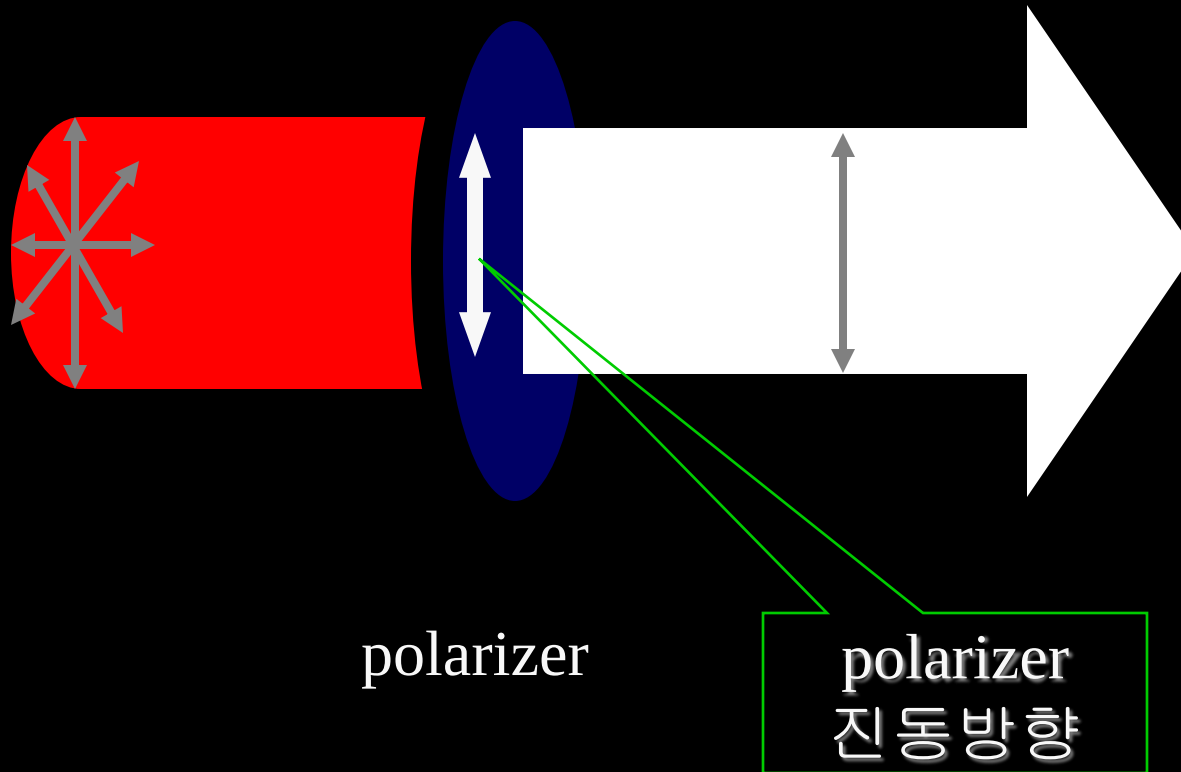
광학 현미경의 관찰방법

Simple Polarizing(간이편광)

광학원리

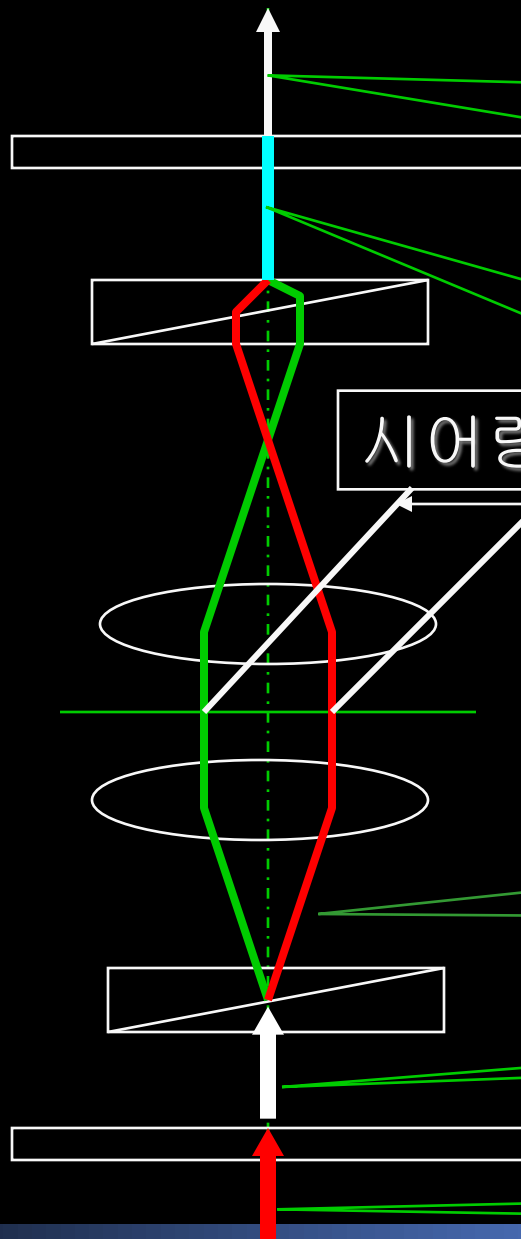
- 직선편광 (평면편광)

자연광(무편광상태) → polarizer → 직선편광



광학원리

AN
DIC Pr
OB
표본 면
CD
DIC Pr
PO



2개光의
합성과
진동방향
동일

2개광의
합성과
진동방향
직교

진동방향이 직교하는
2개의 직선편광

직선편광

자연광

대물렌즈



현미경 광학 성능의 Main은 대물렌즈

[W.D.-작동거리]

Working Distance

- Sample에 초점(focus)을 맞추고 난후 Revolving Nosepiece와 대물렌즈가 닿는 부분에서 Sample(Cover glass를 이용하는 대물렌즈의 경우에는 cover glass 윗면)까지의 거리를 가르킨다.

[N.A.-개구수]

Numerical Aperture

- 개구수는 현미경 대물렌즈의 성능(분해능, 초점심도, 밝기 등)을 판단하기 위한 중요한 수치이다.
- 현미경의 밝기는 B, 대물렌즈의 배율을 M이라고 하면, 이하의 관계식으로 표현된다. N.A.가 큰 만큼 그것의 2제곱으로 밝게 된다.
- 공식 : $B \propto \text{SQU}(\text{N.A.}) / \text{SQU}(M)$

Numerical Aperture

$$NA_1 = 1 \times \sin \alpha_1$$

$$NA_2 = 1.5 \sin \alpha_2$$

Air $n=1$



Oil $n=1.5$

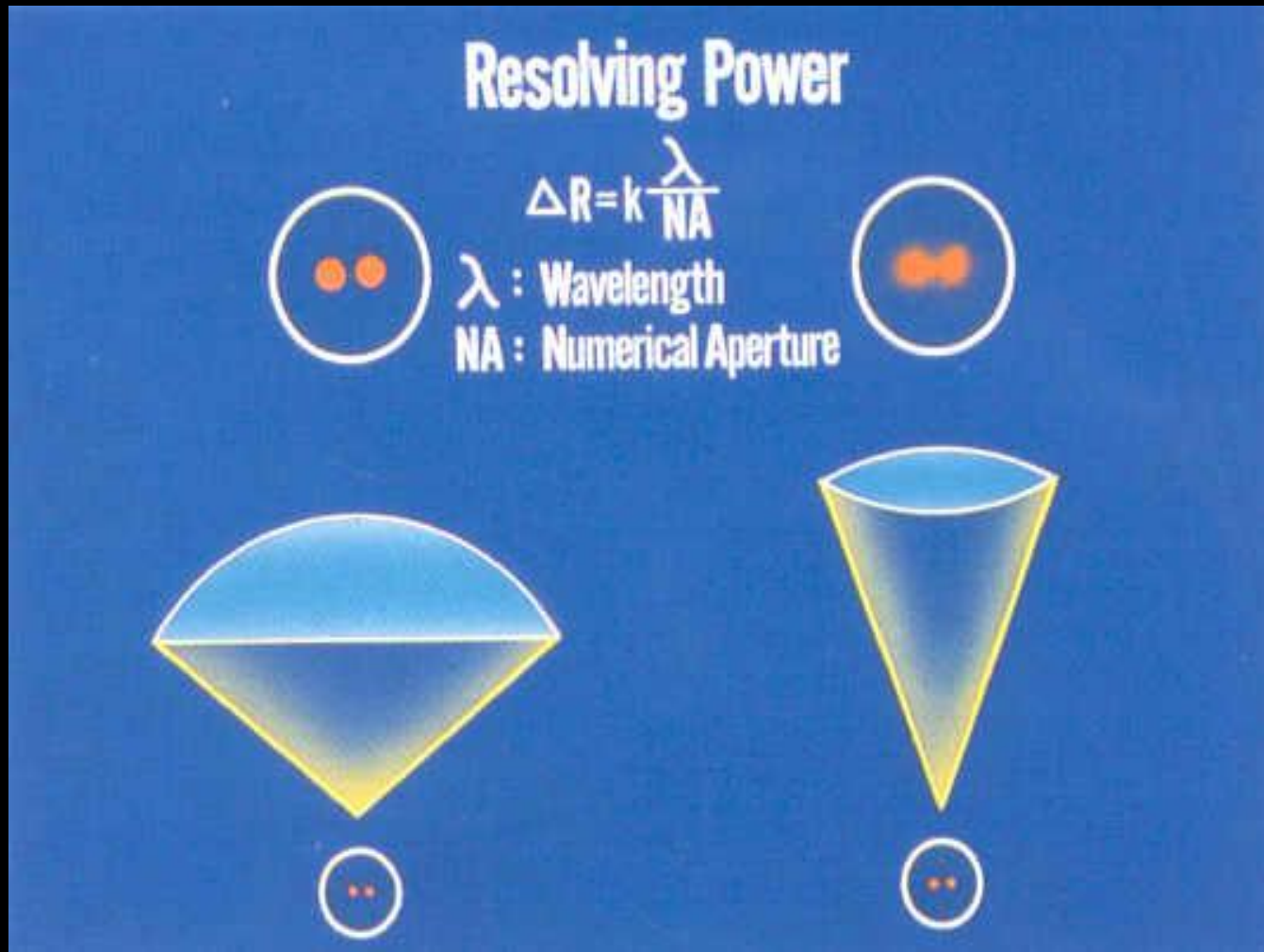
[분해능]

Resolving Power

- 두 개의 점이 가까이 있을 때, 그 두 점을 두 점으로 인식이 가능한 최소의 간격이며, N.A.가 큰 만큼, 좋은 분해능을 얻을 수 있다.
- 분해능의 식
- $\varepsilon = 0.61 * \lambda / \text{N.A.}$ (Reyleigh fomula)
- λ : 사용파장이며 가시광의 경우에는 일반적으로 $0.55\mu\text{m}$ 파장을 갖는다.
- ex.
- UMPLFL100x(N.A.=0.95), $\lambda = 0.55\mu\text{m}$
- $\varepsilon = 0.61 * 0.55\mu\text{m} / 0.95 = 0.35\mu\text{m}$

[분해능]

Resolving Power



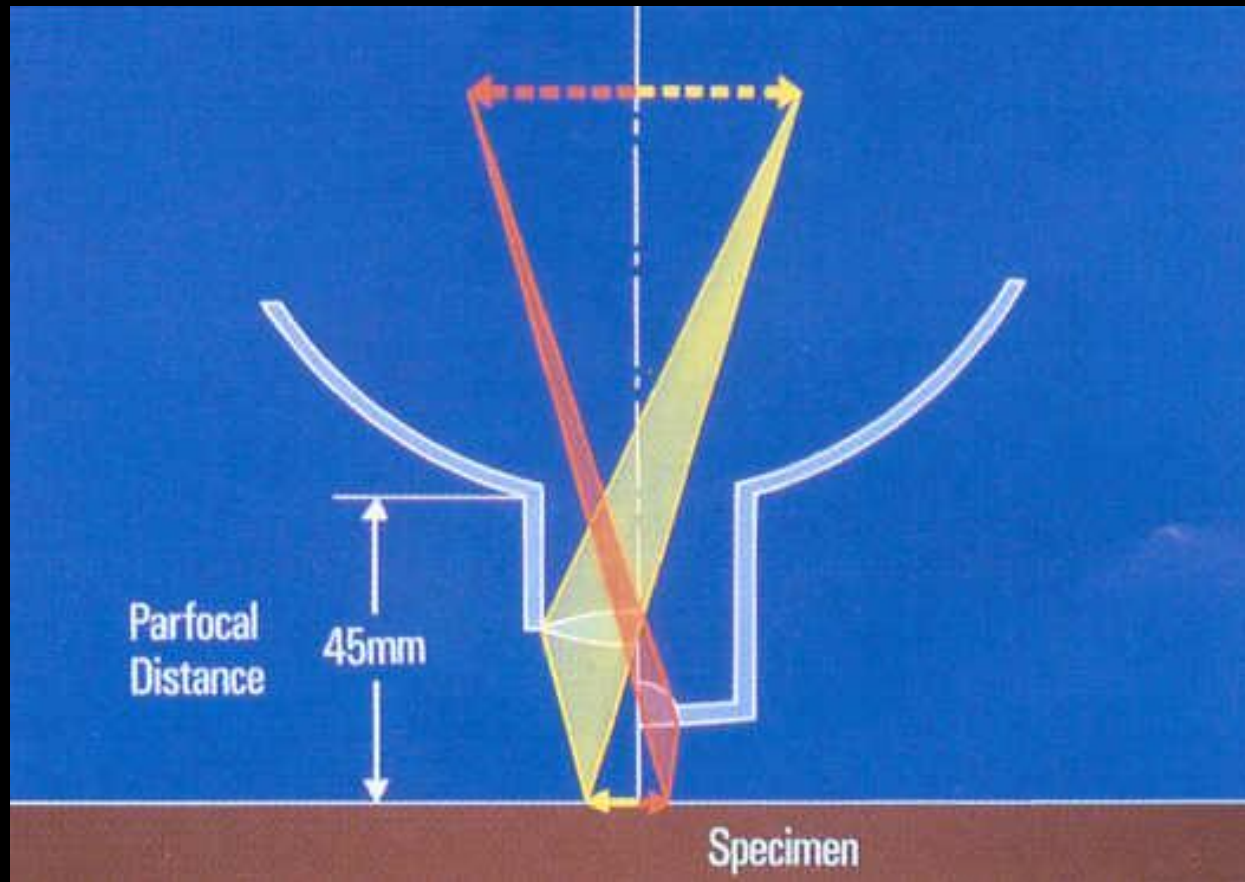
[초점심도]

Focal Depth

- 현미경에서 초점이 맞추어진 위치에서 대물렌즈와 sample과의 거리를 변화시켜도 일정 범위안에서는 상이 선명하게 보인다. 이러한 일정 범위를 초점심도(focal depth)라고 말한다. 인간의 눈 또한 개개인에 따라 초점을 맞추는 능력에 차이가 있다.
- 현재, 초점 심도를 계산하기 위해서는 일반적으로 Berek 의 공식이 사용되어 지고 있다.
- 초점심도의 식 - 육안관찰의 경우 (Berek의 식)
- $$\Delta = (\omega * 250,000) / (N.A. * M) + \lambda / (2 N.A.^2)$$

ω : 눈의 분해능 0.0014(광학 각도가 0.5도 일 경우)
 M : 종합배율 (대물렌즈 * 접안렌즈배율)
- ex. UMPLFL100*, WH10*;
- $$\Delta = 350 / (0.95 * 1000) + 0.275 / 0.9 = 0.35 + 0.3 = 0.67 \mu m$$

[동초점]
ParFocal



[초점심도]

Focal Depth

- 현미경에서 초점이 맞추어진 위치에서 대물렌즈와 sample과의 거리를 변화시켜도 일정 범위안에서는 상이 선명하게 보인다. 이러한 일정 범위를 초점심도(focal depth)라고 말한다. 인간의 눈 또한 개개인에 따라 초점을 맞추는 능력에 차이가 있다.
- 현재, 초점 심도를 계산하기 위해서는 일반적으로 Berek 의 공식이 사용되어 지고 있다.
- 초점심도의 식 - 육안관찰의 경우 (Berek의 식)
- $$\Delta = (\omega * 250,000) / (N.A. * M) + \lambda / (2 N.A.^2)$$

ω : 눈의 분해능 0.0014(광학 각도가 0.5도 일 경우)
 M : 종합배율 (대물렌즈 * 접안렌즈배율)
- ex. UMPLFL100*, WH10*;
- $$\Delta = 350 / (0.95 * 1000) + 0.275 / 0.9 = 0.35 + 0.3 = 0.67 \mu m$$

The Depth of Focus

Low Power Objective

High Power Objective

Area in Focus {

} Area in Focus

