

Mikroskopie

Lidské oko má rozlišovací schopnost 0,07 mm.

Pro mikroskopii lze využít jakékoli vlnění s vlnovou délkou kratší než jsou rozměry objektu.

•Pojmy a schémata mikroskopie

•A) Optická - zobrazení struktur lišících se vzájemně absorbcí viditelného světla

1) Varianty optického mikroskopu

2) Speciální optické mikroskopy

zobrazení struktur lišících se vzájemně
absorbací UV i IR světla

•B) Elektronová

•C) Akustická

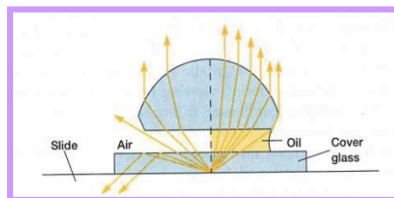
Optická (světelná) mikroskopie

Max. zvětšení 1500 X, max. rozlišení 200 nm

Výsledkem je neskutečný, zvětšený a převrácený obraz.

Suchý objektiv:

Paprsek vystupující z preparátu pod úhlem α se na rozhraní mezi krycím sklíčkem a vzduchem láme od kolmice a nemůže se již podílet na tvorbě obrazu.



Imerzní objektiv:

Paprsek přecházející ze skla do imerzního prostředí svůj směr nemění a může se podílet na tvorbě obrazu.

Imerzní prostředí - kapalina o stejném n jako krycí sklíčko.

Často cedrový olej ($n = 1,52$).

Imerze umožňuje korigovat některé opt. vady mikroskopu.

Varianty optického mikroskopu

Mikroskopie v temném poli

- preparát je silný pro průchod paprsků
- předmět pozorujeme v odražených paprcích
- upravený kondenzor osvětluje preparát zespodu pod určitým úhlem – bez paprsků jdoucích podél osy mikroskopu

metoda na pozorování velmi malých objektů (prvoci, bakterie) a jejich struktur zaživa

Speciální optické mikroskopy

zobrazení struktur lišících se vzájemně absorbcí UV i IR světla

Fázový kontrast

Různé části preparátu však vykazují různý index lomu – ohyb paprsků

možnost pozorování živých objektů v nativním stavu bez barvení

•Při průchodu světelné vlny fázovým objektem se tato zpozdí, nedochází však ke změně její intenzity, ale k posunu její fáze, a to v závislosti na rozdílu indexu lomu dané struktury a okolí, na délce optické dráhy a na vlnové délce světla.

Složením přímé a procházející vlny dojde k vzájemnému vyrušení se a to, co pozorujeme je tmavé

□ rozdíly ve fázi světla jsou převedeny na pozorovatelné rozdíly kontrastu

Interferenční mikroskop

•Pracuje se dvěma koherentními (interference schopnými) paprsky, jeden prochází objektem, druhý mimo objekt. Výhodou je možnost přímého měření indexu lomu mikroskopovaných objektů.

Mikroskopy s diferenčním interferenčním kontrastem dle Nomarského (DIC):

Polarizátor srovnává vlny, jež jsou v různých rovinách; Nomarského destička v kondenzoru je hranol, jež zpracovává polarizované světlo tak, že na preparát jdou dva paprsky souběžně vedle sebe. V analyzátoru vidíme 3D obraz v závislosti na rozdílu n různých částí buňky. Zvýrazněním i malých rozdílů vznikne plastický obraz povrchu buňky.