

# 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

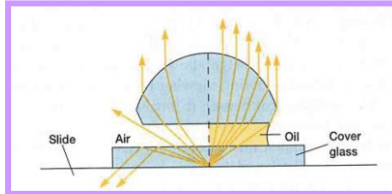
## Optická (světelná) mikroskopie

Max. zvětšení 1500 X, max. rozlišení 200 nm

Výsledkem je neskutečný, zvětšený a převrácený obraz.

### Suchý objektiv:

Paprsek vystupující z preparátu pod úhlem  $\alpha$  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.