

Vývoj a současnost světelné mikroskopie

úvod do kurzu Bi1301
Botanická mikrotechnika

„Nejlepší způsob jak předpovědět budoucnost je začít v minulosti“

(McCrone 1988)

- Začátky světelné mikroskopie - asi před 400 lety
- 1595 - Hans a Zachariáš Janssenovi
- Anthony van Leeuwenhoek (1632 - 1723)
- F. W. Schiek (Berlín), G. Simon Plösl (Vídeň)
- 1829 - J.J. Lister - konstrukce achromatického objektivu (kombinace čoček) - rozšíření použití mikroskopů v biologii, medicíně, mineralogii, chemii
- 1828 - William Nicol - hranol z islandského vápence slepený kanadským balzámem = polarizační mikroskopie - využití v mineralogii, průmyslu i biologii

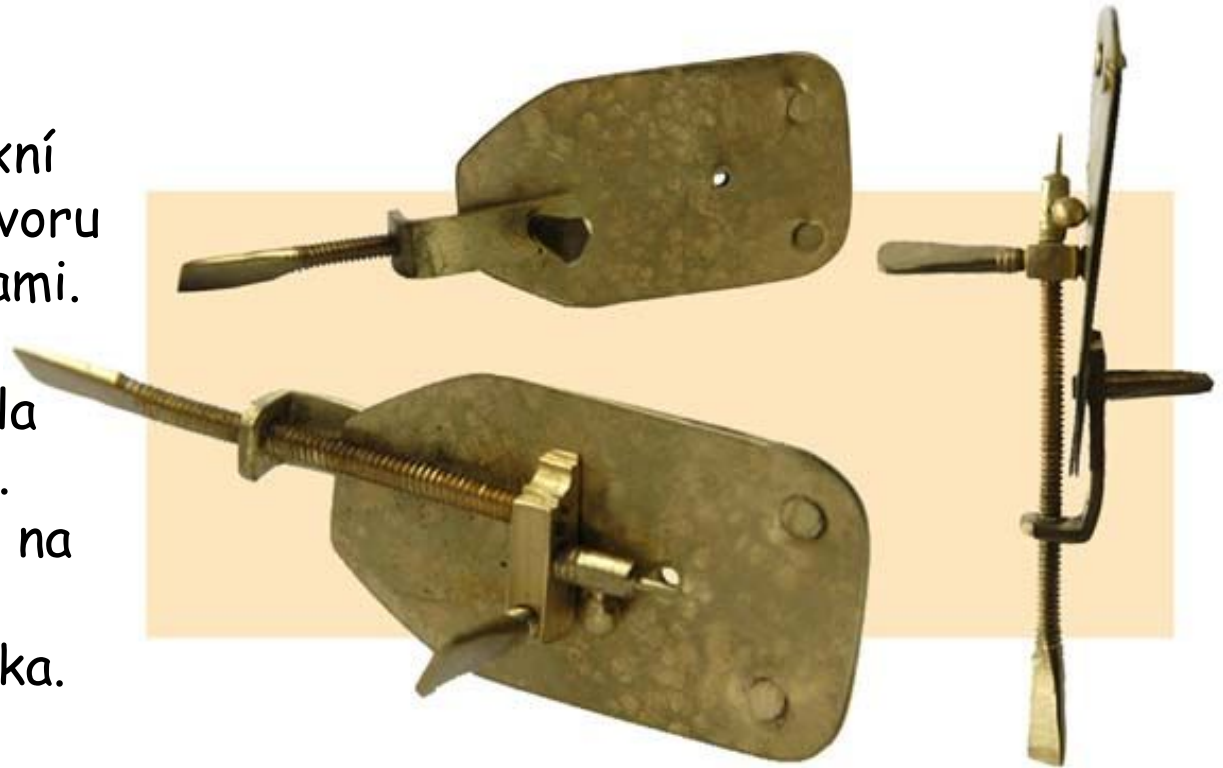
Zlepšování rozlišovací schopnosti

- definice rozlišovací schopnosti:
$$a = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha}$$
- počátek 19. století asi **0,5 μm**
- s Köhlerovým osvětlením a lepšími čočkami (Abbeův kondenzor) se limit zmenšil na $\lambda/2 =$ **0,3 μm**
- s použitím UV ($\lambda = 254 \mu\text{m}$) = rozlišení **0,1 μm**
- od poloviny 20. století - rozvoj elektronové mikroskopie
 - **SEM 3 nm**
 - **TEM 0,2 nm**

Anthony van Leeuwenhoek - mikroskop

Optiku tvořily jednoduché bikonvexní čočky umístěné v otvoru mezi dvěma destičkami.

Velikost zvětšení byla dána velikostí čočky. Objekt se umísťoval na bodec. Mikroskop se přidržel blízko u oka.



Mikroskopy 16. a 17. století

Hans a Zachariáš Janssenovi



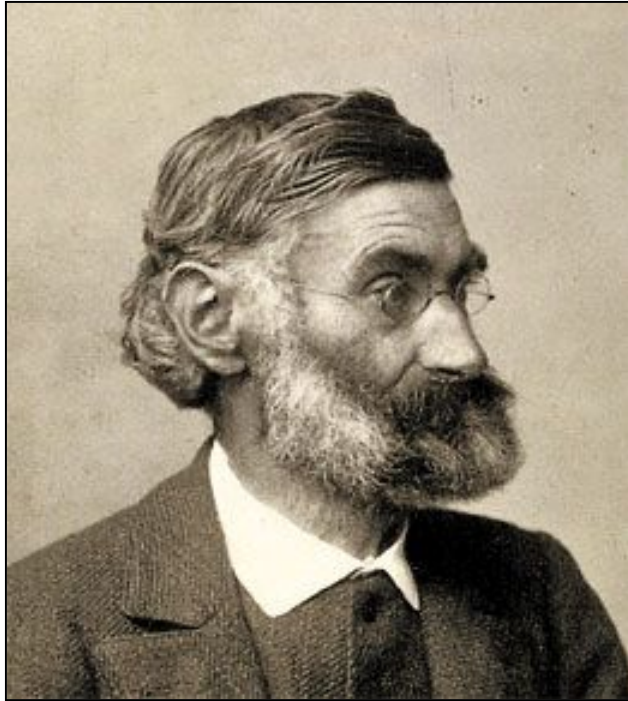
**The First
Compound
Microscope
(circa 1595)**

John Yarwell

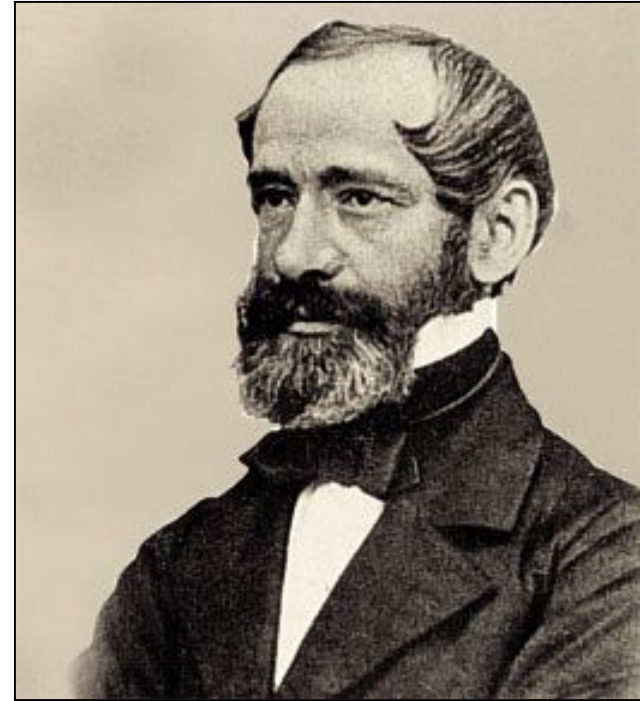


**English Tripod Microscope
made and sold by
John Yarwell in the 1680s.
The microscope is con-
structed of lignum vitae,
pasteboard, and gold-
tooled leather.**

Zakladatelé firmy Carl Zeiss Jena



Ernst Abbe (1840 - 1905)

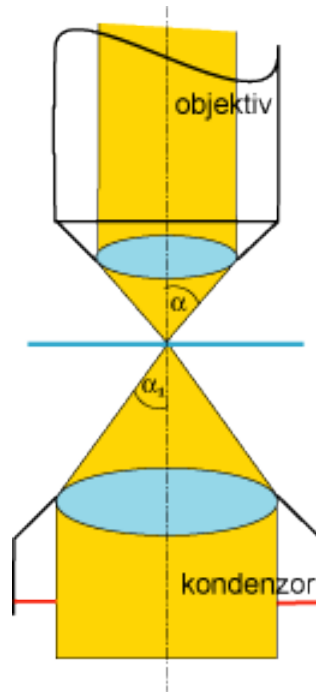


Carl Zeiss (1816 - 1888)

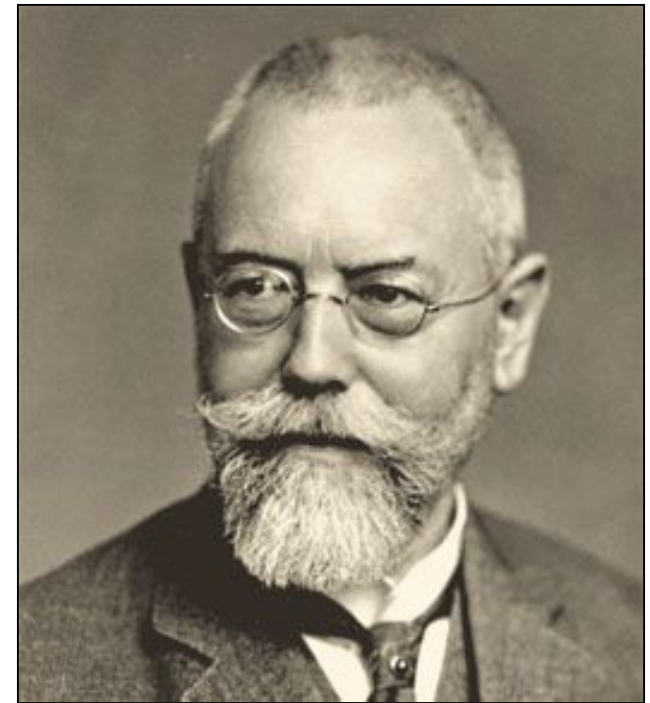
August Köhler - otec správného nastavení osvětlení mikroskopu

Předpokladem pro plné využití NA objektivu je, že kužel paprsků vycházejících z kondenzoru a osvětlujících preparát odpovídá numerické apertuře objektivu.

Kondenzor, objektiv a preparát musí být vůči sobě umístěny tak, aby preparát ležel ve společném ohnisku kondenzoru a objektivu



Köhlerův princip



August Köhler (1866 - 1948)

<http://www.microscopystore.com/antiques.asp?c=109>

„Mikroskop Dr. Quinové“

Celomosazný mikroskop - známý ze seriálu Dr. Quinn Medicine Women

WRAP Productions

The microscope stands approx. 20" high and has the ability to tilt to about a 45 degree angle. The three brass legs are approx. 5 1/4" long. The stage platform is approx. 4" square. Included with the microscope is a brass Spencer 44x objective with serial #107412 inscribed on it, brass swing out condenser and mirror. There is also a coarse & fine adjustment mechanism.

The age and authenticity of the microscope is not known.

Cena asi 2000 dolarů



Celomosazný petrografický mikroskop

The microscope stands approx. 12 1/2" high, 4" wide and 7" long with a 4" body tube. There are two lenses that are affixed to one another. One optic is marked C Zeiss Jena 160 mm 0.95 N.A. The other objective just unscrews from the Zeiss to offer additional magnification. There is no mirror however there is a mirror assembly. This is microscope in a good condition. The microscope is estimated to be in excess of 100 years old.

cena asi 900 dolarů



<http://www.microscopestore.com/antiques.asp?c=109>

Ernest Leitz Wetzlar microscope

The serial # is 260710. Fully extended the microscope measures approx. 14" high. All original parts are included with this microscope.

There are three brass Leitz objectives 10x, 45x, 100x oil with a 1.30 N.A. Also included is a mechanical stage and condenser with brass knobs. The microscope is in very good condition and a rare find.

Estimated vintage of this microscope is early 1900's.

Cena asi 1000 dolarů



Mikroskopy ústavu experimentální biologie

oddělení fyziologie a anatomie
rostlin

Mikroskop „von Schick“

Celomosazný mikroskop vyrobený ve Vídni ve firmě Schiek.

Monokulární mikroskop

Objektiv je složen z kroužků s čočkami = tzv. **sádkový objektiv**
Stativ má tvar podkovy = evropský typ

Mikroskop **nemá kondenzor**, je vybaven jednoduchou **aperturní clonou** = otočný disk s otvory různého průměru, **zrcátkem**, **křížovým posunem stolku**, **perem na tušové značky preparátů**.

Má pouze jeden ostřicí šroub
Možnost sklopení ramene

Odhadovaná doba výroby před r. 1850

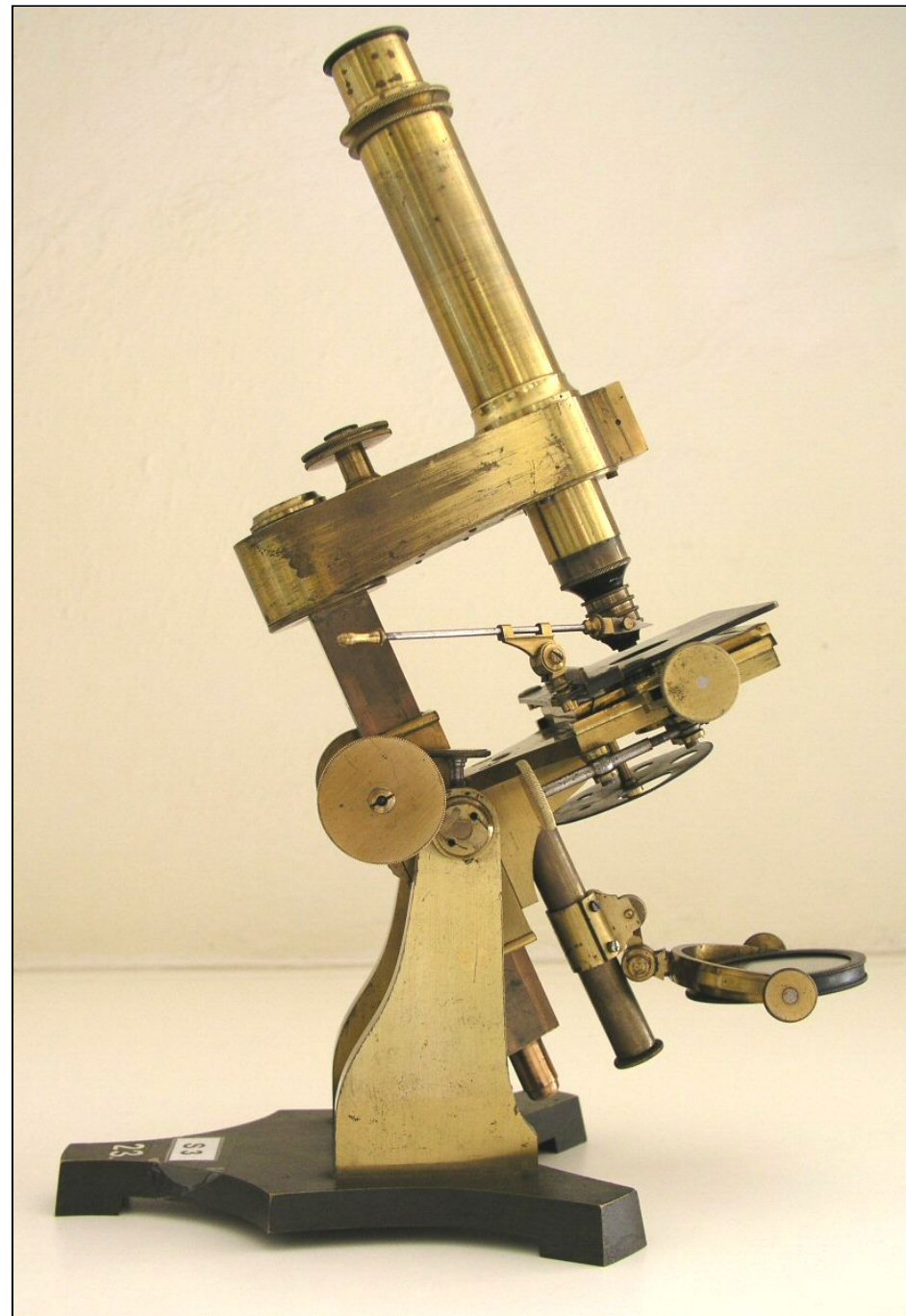


Historie mikroskopu „von Schiek“

1850 J.E. Purkyně jej přivezl
z Wroclawi do Prahy

Mikroskop později přešel
do vlastnictví Klubu
přírodovědeckého v Praze

Po založení **Katedry fyziologie
rostlin** Přírodovědecké fakulty
Masarykovy univerzity 1921 jej
prof. Ulehla převzal a přivezl
do Brna



Mikroskop Zeiss

monokulární mikroskop

objektivy na revolverovém měniči
stativ má tvar podkovy = evropský
typ

Abbeův kondenzor

s vysunovatelnou aperturní clonou
(šikmé osvětlení), zrcátko,
křížový posun a otáčení kruhového
stolku

hrubý i jemný posun ramene
možnost sklopení ramene

odhadovaný rok výroby 1910



Mikroskop Watson, UK

monokulární mikroskop

objektivy na revolverovém měniči
stativ má tvar podkovy = evropský
typ

Abbeův kondenzor s aperturní
clonou, zrcátko,
křížový posun stolku,
hrubý i jemný posun ramene,
možnost sklopení ramene

odhadovaná doba výroby
polovina 20. stol.



Bauch & Lomb, USA

binokulární mikroskop

objektivy na revolverovém měniči
stativ má tvar podkovy = evropský
typ

mikroskop má kondenzor s
vysunovatelnou aperturní clonou,
zrcátko,
křížový posun stolku
hrubý i jemný posun ramene
možnost sklopení ramene

odhadovaná doba výroby polovina
20.stol.



DN 816 Bi

+ mikrolampa DN
+ transformátor
Meopta Praha

binokulární badatelský mikroskop +
monokulární tubus
objektivy na revolverovém měniči
stativ má tvar podkovy

mikroskop má kondenzor s
vysunovatelnou aperturní clonou a
nosičem filtru
křížový posun stolku
hrubý i jemný posun stolku
zrcátko lze nahradit DN lampou
(možné další doplňky)

doba výroby 60. léta 20. stol.

Pořizovací cena:

5.615,- Kč

+ 1.072,69 Kč (DN lampa)



Lug Zeiss Jena

Mikroskop pro práci
v **dopadajícím** světle

speciální konstrukce
objektivu, který
štěrbinou ve vnějším
plášti osvětluje
objekt shora

rok výroby asi
1960

Pořizovací cena
8.402,- Kč



Mikroskop Reichert

**Studentský monokulární
mikroskop**
se zrcátkem
pod kondenzorem
revolverový měnič objektivů

ostření pomocí šroubu hrubého
a jemného posunu
křížový posun stolku

výroba: polovina 20. století

**v praktiku cytologie a anatomie rostlin a
fyziologie rostlin používaný do roku 1984**



Laboval 3 Zeiss Jena

Studentský mikroskop

s vestavěným halogenovým osvětlením, transformátorem a potenciometrem
pod kondenzorem vysunovatelná spojná čočka (šikmé osvětlení) a nosič filtru (ochrana zraku)

Unikátní konstrukce systému ostření,
zvláštní způsob centrování obrazu zdroje světla - centrační destičky

rok výroby asi 1980

v praktiku cytologie a anatomie rostlin a fyziologie rostlin v letech 1984-2002

pořizovací cena v roce 1984 = 12.020,- Kč



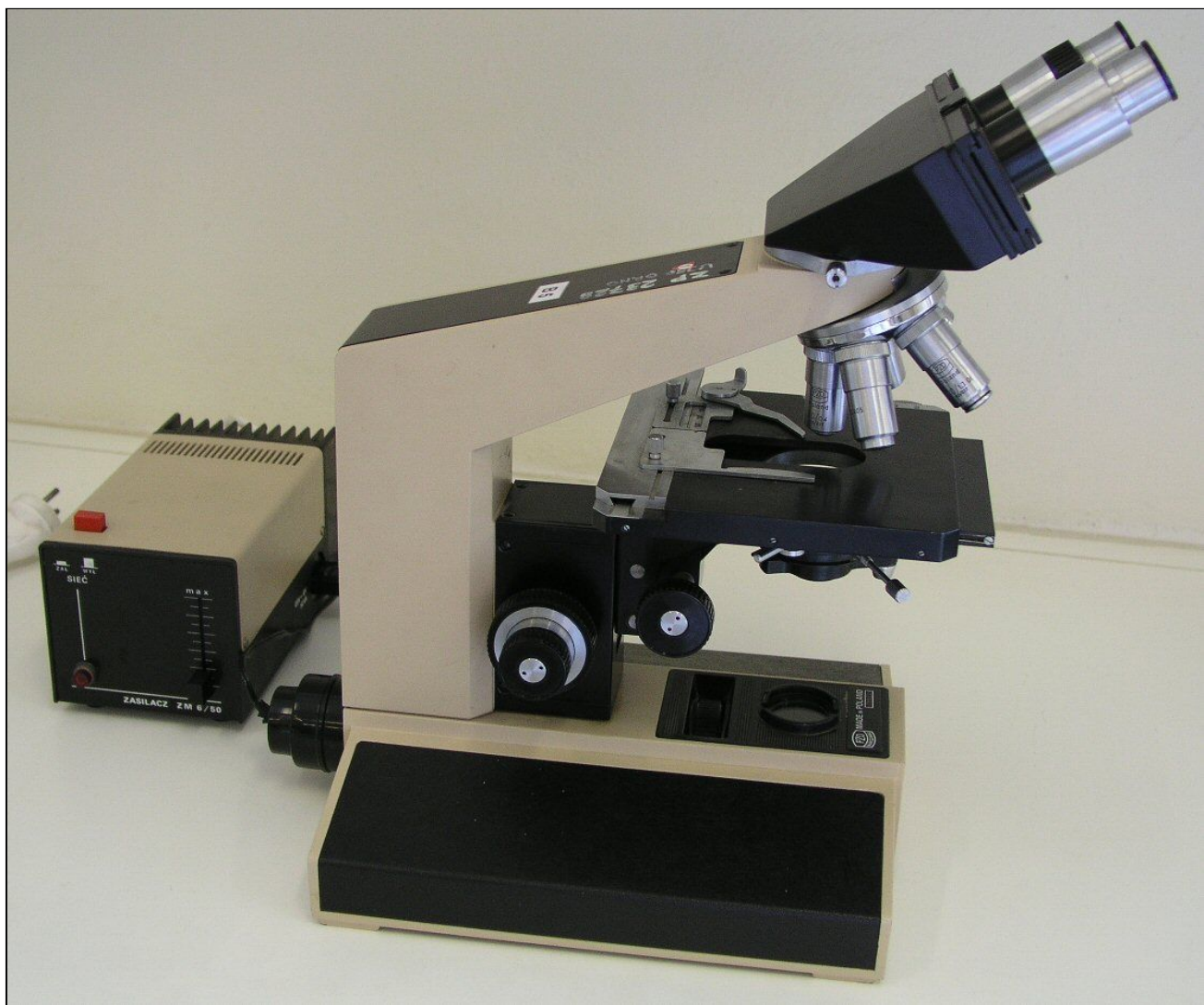
Biolar PZO Warszawa

Badatelský mikroskop
s vestavěným
osvětlením

Zařízení pro fázový
kontrast

rok výroby asi 1980

pořizovací cena
v roce 1984
19.500,- Kč



Amplival Zeiss Jena

Badatelský mikroskop
s vestavěným
osvětlením

Tři vyměnitelné
kondenzory

Poloautomatické
zařízení pro
mikrofotografii
(v TM Brno)

Výroba 1970 - 72

pořizovací cena
38.270,- Kč



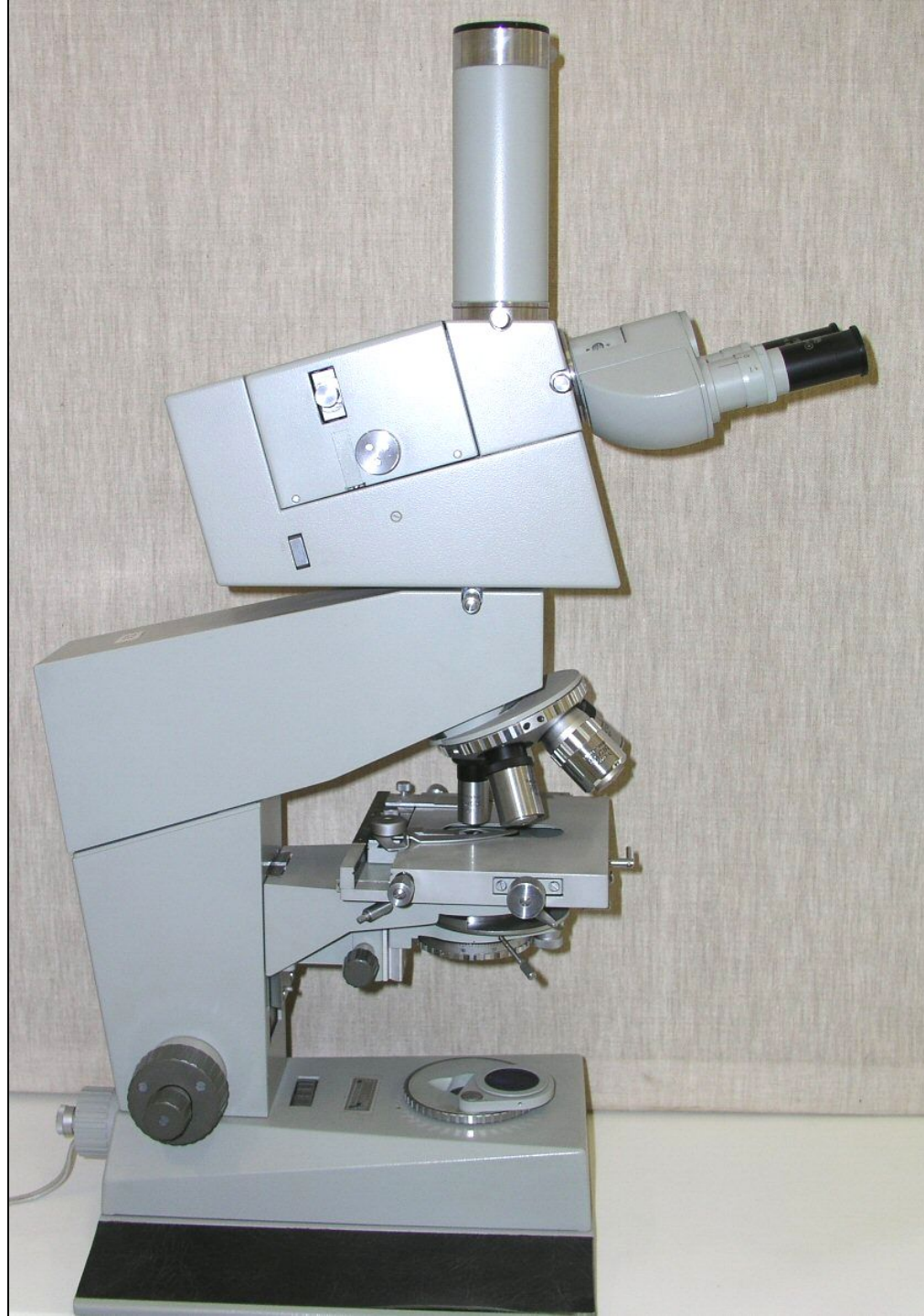
Peraval Zeiss Jena

Badatelský **interferenční
mikroskop** s vestavěným
osvětlením a bohatým
příslušenstvím

trinokulár

Výroba 1976 - 78

pořizovací cena
80.741,- Kč



Olympus CX-31

Tokio, Japonsko

Kompaktní studentský mikroskop s vestavěným osvětlením, transformátorem a potenciometrem

Výborná optika a snadná manipulace

rok výroby 2000 - 2002

pořizovací cena
v roce 2002
53.720,- Kč



Olympus BX-51

Tokio, Japonsko

Badatelský mikroskop
s vestavěným osvětlením

Epifluorescence ve 3
oblastech spektra

**Nomarského diferenciální
interferenční kontrast**
(DIC)

Mikrofotografické
automatické zařízení

Možnost připojení
digitálního fotoaparátu
nebo CCD kamery

Pořizovací cena
přes 1 milion Kč



Desatero světelné mikroskopie

J. James (1990)

1. čisté krycí sklo
2. čistá frontální čočka objektivu
3. správně nastavená aperturní clona
4. správně nastavená kolektorová (polní) clona
5. správná intenzita světla
6. vhodná vlnová délka světla
7. vhodný výběr objektivů
8. vhodný výběr okuláru
9. pozorování virtuálního obrazu
10. mikrofotografie je vždy horší kvality než vizuální obraz

Metody zvyšování kontrastu mikroskopického obrazu (McCrone 1988)

- Mikroskopie v polarizovaném světle
- Köhlerův princip osvětlení
- Mikroskopie v tmavém poli (zástin)
- Chemické barvení struktur
- Interferenční mikroskopie
- Pokovování objektů (stínování)
- Fázový kontrast (F. Zernike)
- Šikmé osvětlení
- Osvětlování X-paprsky
- Nomarského diferenciální interferenční kontrast (DIC)
- Hofmanův modulační kontrast
- Video-mikroskopie
- Digitální záznam a automatická analýza obrazu
- Použití laseru = konfokální mikroskopie