

Vývoj a budoucnost světelné mikroskopie

úvod do kurzu Bi1301

Botanická mikrotechnika

Jaroslava Dubová

„Nejlepší způsob jak předpovědět budoucnost je začít v minulosti“

(McCrone 1988)

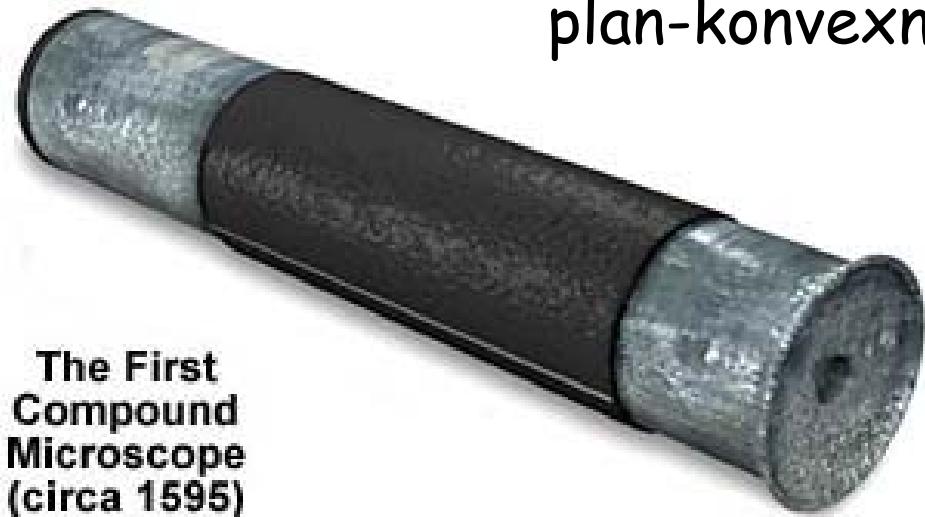
- začátky světelné mikroskopie - asi před 400 lety
- 1590 (1595?) - Hans a Zacharias Janssenovi první složený mikroskop
- 1653 - Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723)
- F.W. von Schiek (Berlín) a G. Simon Plösl (Vídeň)
- 1829 - J.J.Lister - konstrukce achromatického objektivu (kombinace čoček) - rozšíření použití mikroskopů v biologii, medicíně, mineralogii, chemii
- 1828 - William Nicol - hranol z islandského vápence slepený kanadským balzámem = Nicolův hranol - polarizační mikroskopie - využití v mineralogii, průmyslu i biologii



První složený mikroskop

výrobce brýlí
Zacharias Janssen
a otec Hans

okulárová čočka
bi-konvexní
objektivová čočka
plan-konvexní



podle některých pramenů
je datum 1595 sporné,
protože Zacharias Janssen
se narodil roku 1580

rozsah zvětšení 3 - 10x

<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/museum/janssen.html>

1609 „Occhiolino“
Galileův mikroskop



vyrobený podle principu Janssenova
mikroskopu =zaostřování výsuvem tubusu

<http://www.library.ethz.ch/exhibit/galilei/galileod6.html>

„Galileův“ mikroskop



tento mikroskop ze
17. století přisuzován
Galileovi byl vyroben
asi až 50 let po jeho
smrti

Galileo
Microscope
(circa late 1600s)

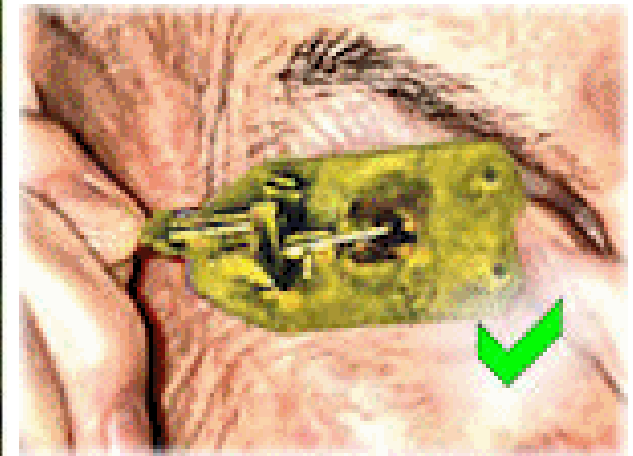
micro.magnet.fsu.edu/primer/museum/galileo.html

Anthony van Leeuwenhoek jednoduchý mikroskop



Thonis Philipszoon (1632-1723)
"Anthony from the Lion's Corner"

<http://www.arsmachina.com/loeuwenhoek.htm>



Mikroskopy 18. století



tubus z mahagonu

**John Marshall
Compound
English
Microscope
(circa 1720)**

stativ z ořechu



**Benjamin Martin
Drum Microscope
(circa 1760)**

Mikroskopy v expozici muzea v klášteře Zlatá Koruna

mechanické části
mosazné a dřevěné



<http://www.microscopestore.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.

stativ ve tvaru trojnožky
= americký typ

cena asi 2000 dolarů



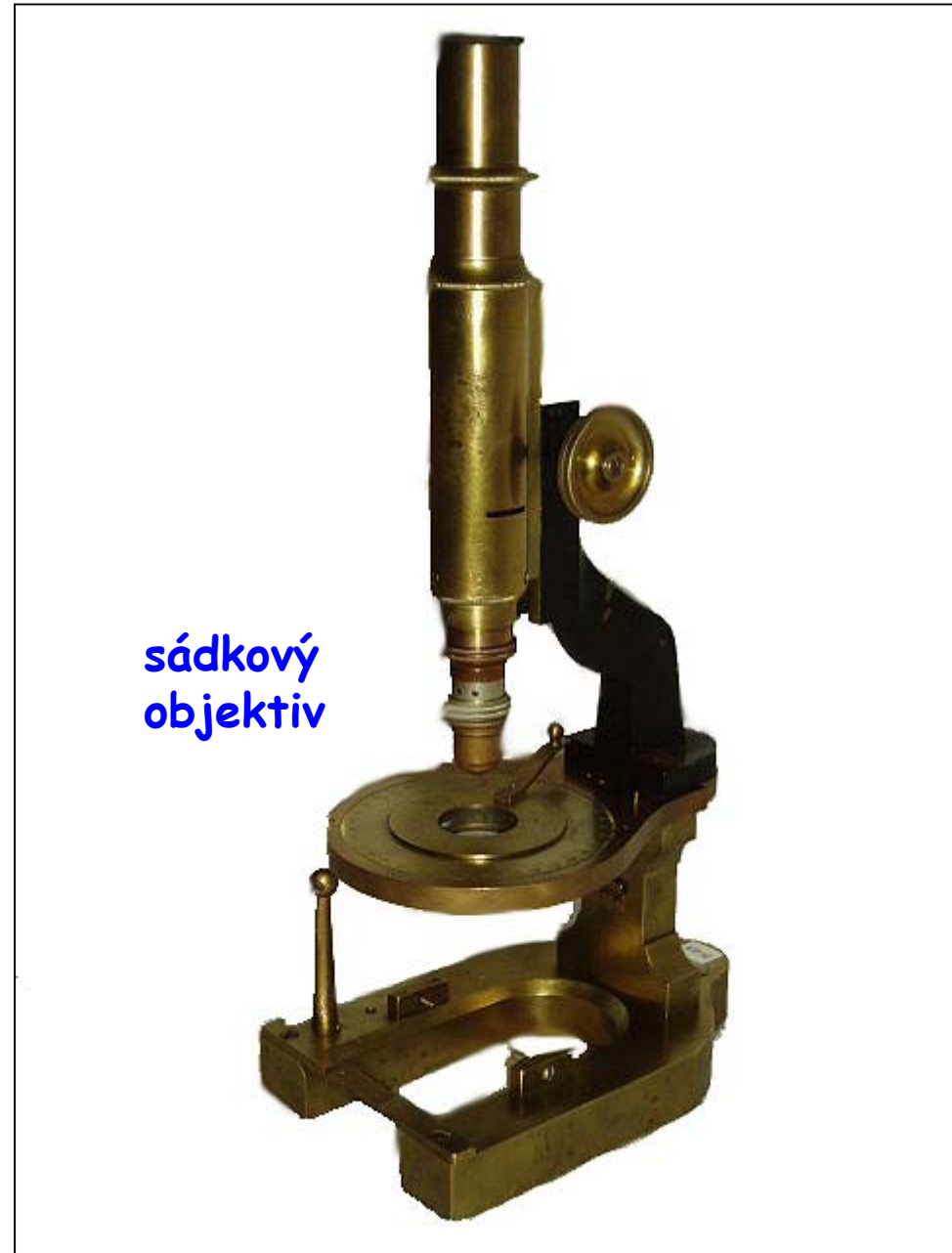
<http://www.microscopestore.com/antiques.asp?c=109>

Celomosazný petrografický mikroskop Zeiss

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



**sádkový
objektiv**

<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 v r. 2009 asi 1000 dolarů

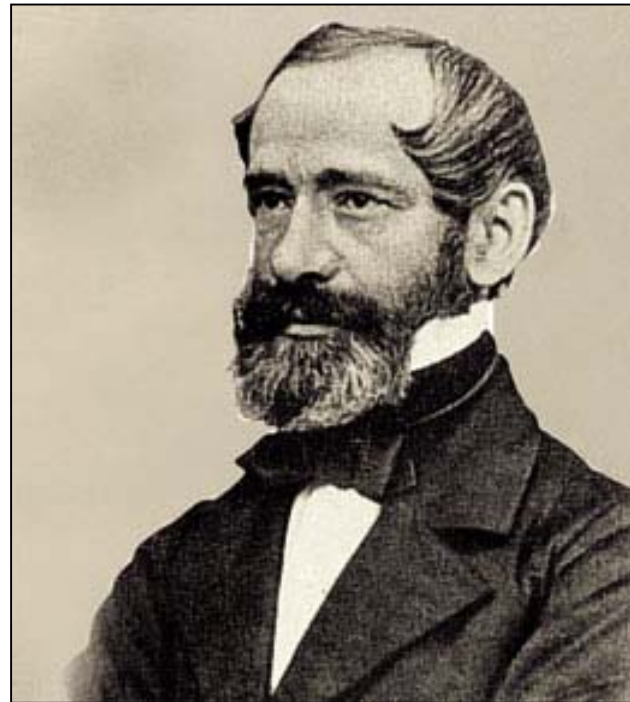


19. století

Zakladatelé firmy Carl Zeiss Jena



Ernst Abbe (1840 - 1905)



Carl Zeiss (1816 - 1888)

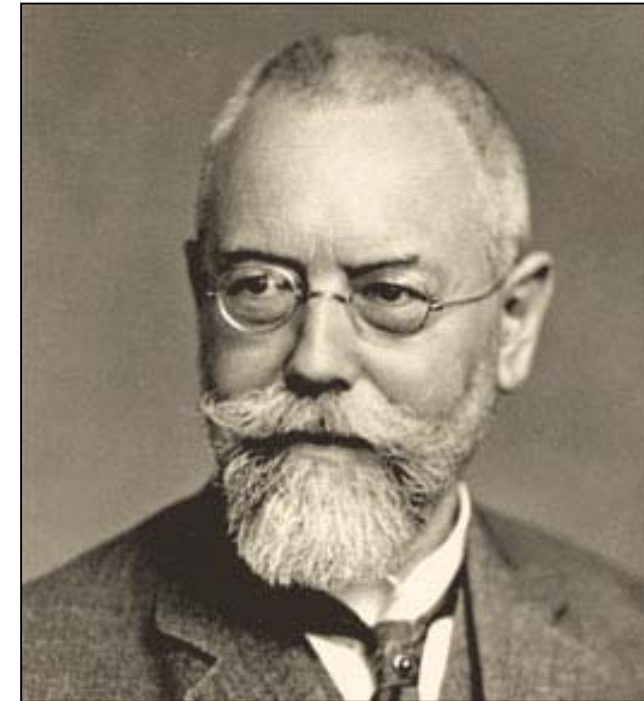
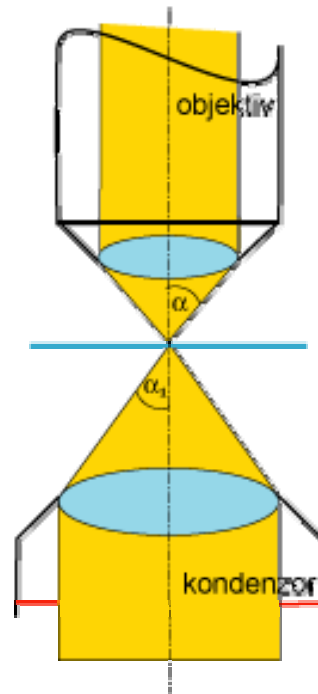
Abbeův kondenzor

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)**

Zlepšování rozlišovací schopnosti

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

Mikroskopy Ústavu experimentální biologie MU

oddělení fyziologie a anatomie
rostlin

Mikroskop „von Schick“

celomosazný mikroskop vyrobený
v Berlíně ve firmě von 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 ostřící šroub,
možnost sklopení ramene

odhadovaná doba výroby
před rokem 1850

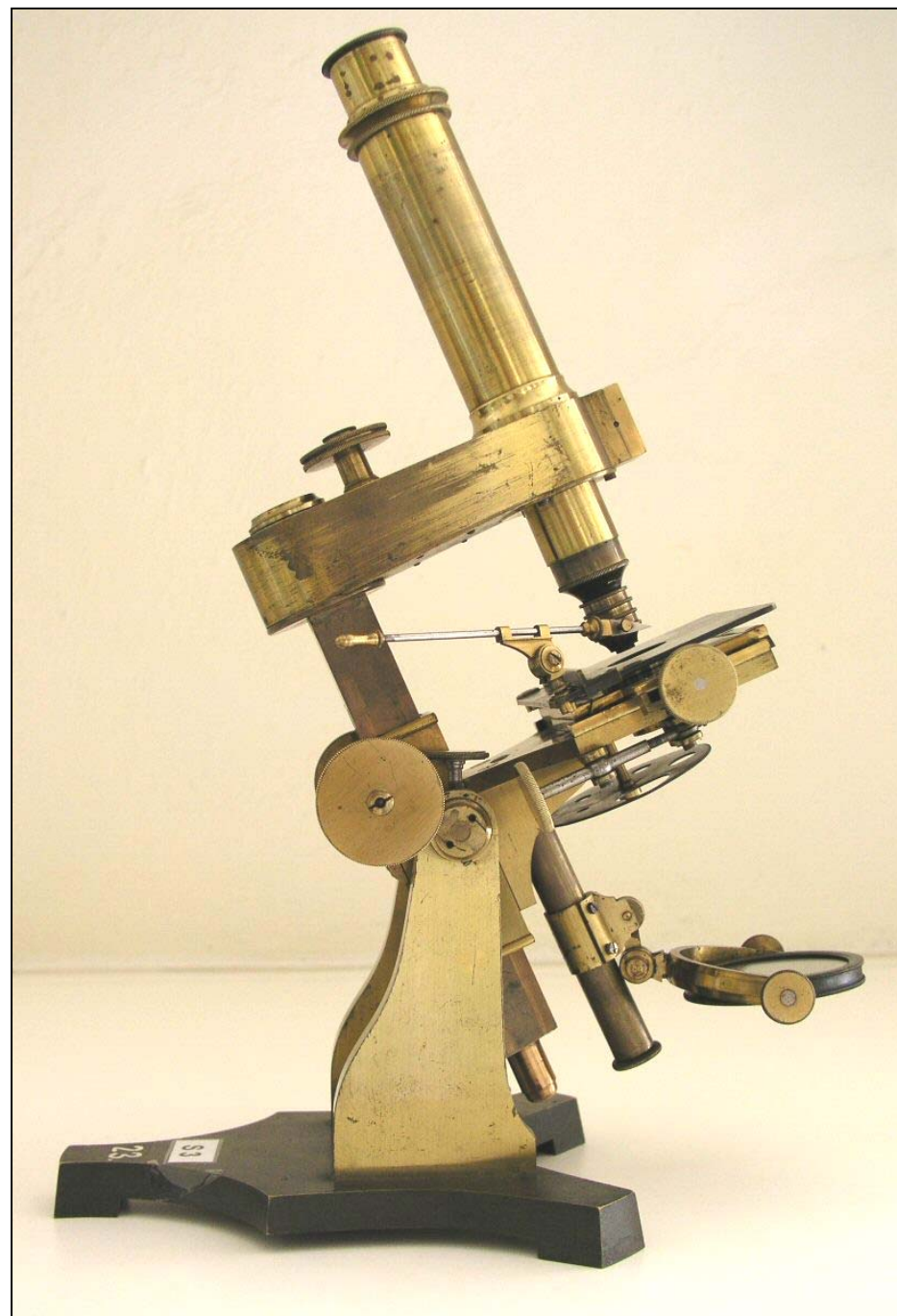


Historie mikroskopu „von Schick“

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

mikroskop později přešel
do vlastnictví Klubu
přírodovědeckého v Praze

po založení Přírodovědecké
fakulty Masarykovy univerzity
v roce 1921 jej převzal
prof. Vladimír Úlehla a přivezl
do Brna na **Katedru fyziologie
rostlin**



Mikroskop Zeiss, Jena

monokulární mikroskop

objektivy na revolverovém měniči
stativ má tvar podkovy = evropský
typ

mikroskop má Abbeův kondenzor
s vysunovatelnou aperturní clonou
(pro šikmé osvětlení), zrcátko,
křížový posun preparátu
a otáčení kruhového stolku
hrubý i jemný posun ramene
možnost sklopení ramene

odhadovaný rok výroby 1910



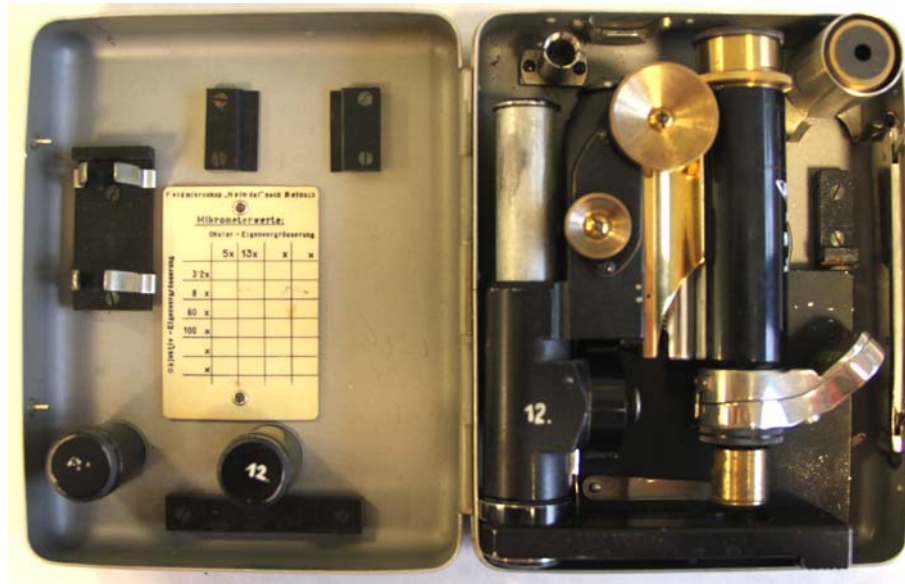
Mikroskop Reichert „Heimdal“, Vídeň

skládací polní mikroskop

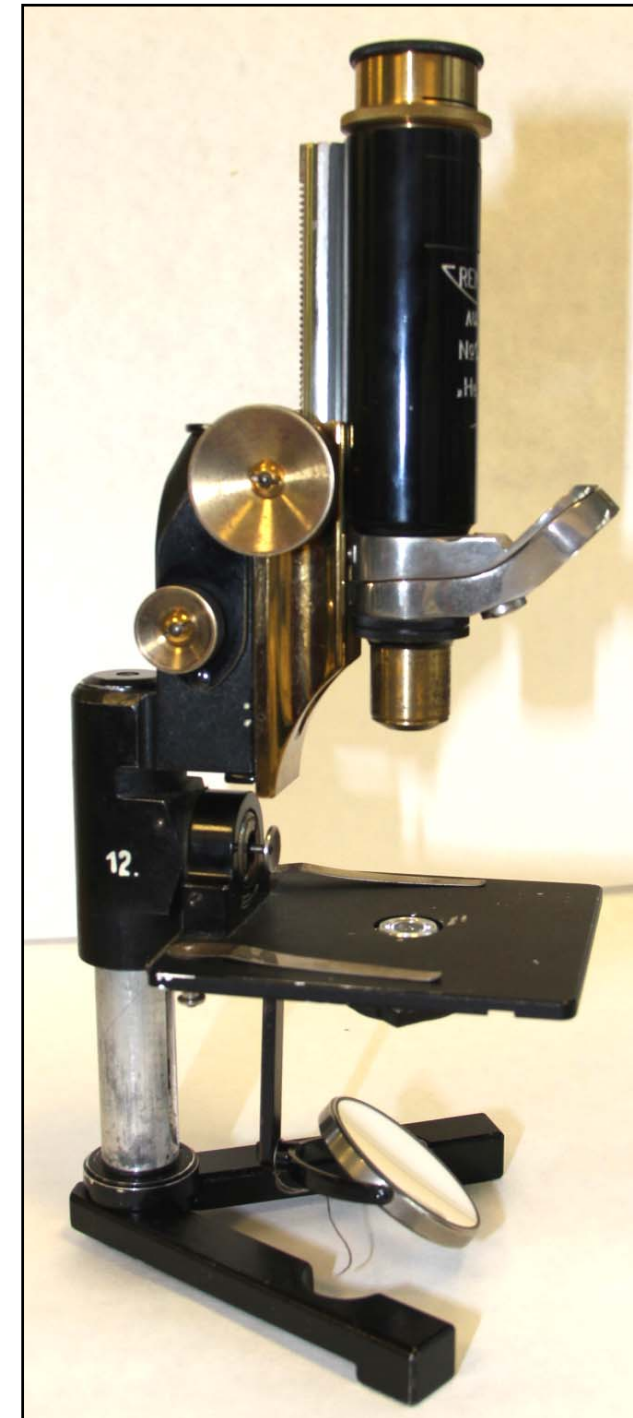
Abbeův kondenzor

uvnitř kovového pouzdra

kontejnerky na imerzní olej
a barvivo



odhadovaný rok výroby 1930



Mikroskop Watson, UK

monokulární mikroskop

objektivy na revolverovém měniči
stativ má tvar podkovy = evropský
typ

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

odhadovaná doba výroby:
polovina 20. stol.



Mikroskop Reichert, Vídeň

studentský monokulární
mikroskop

se zrcátkem pod kondenzorem,
revolverový měnič objektivů

ostření pomocí šroubu hrubého a
jemného posunu
křížový posun stolku

odhadovaná doba výroby:
polovina 20. stol.

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



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



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. století



Mikroskop 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)



Laboval 3 Zeiss Jena

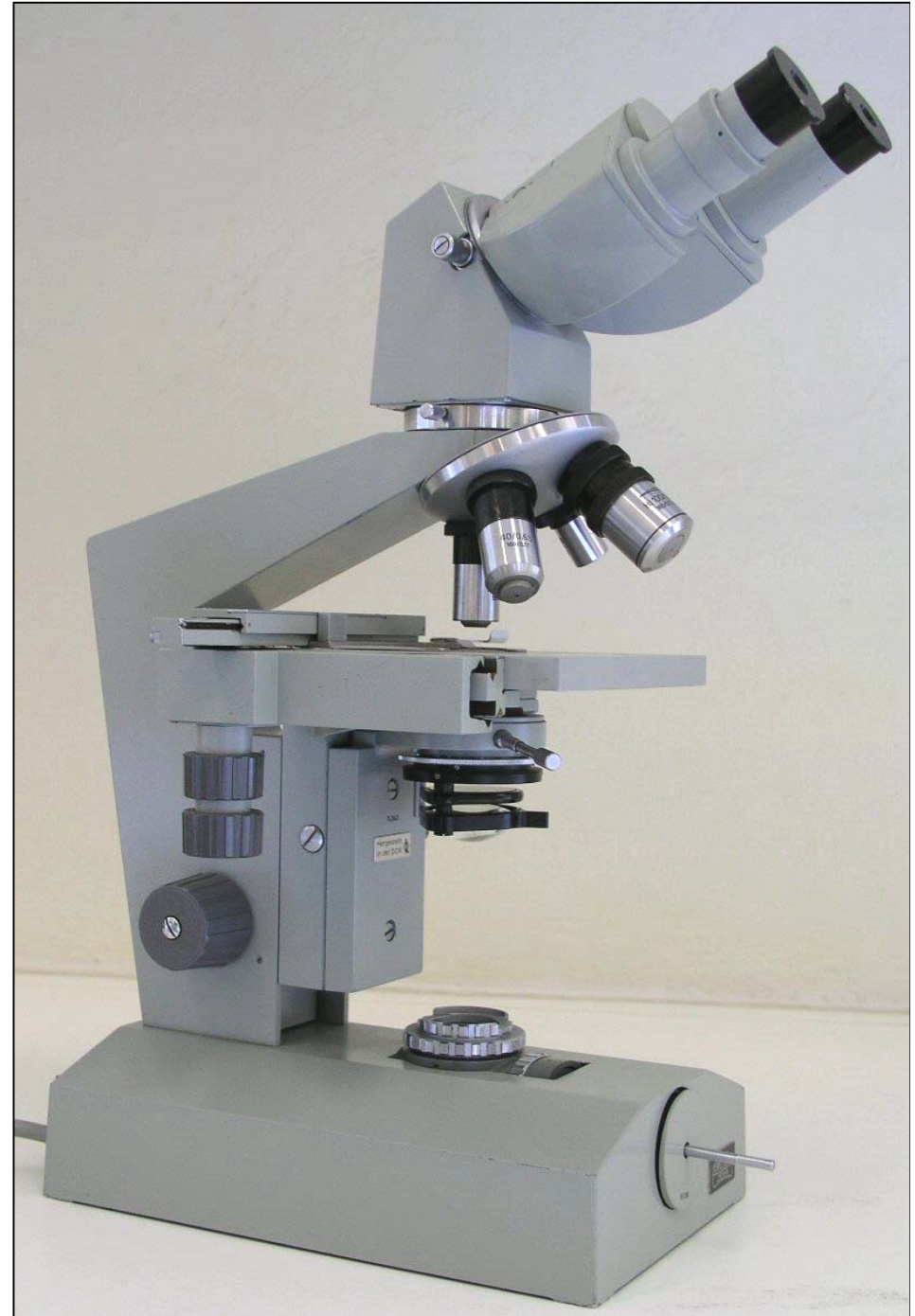
studentský mikroskop
s vestavěným **halogenovým osvětlením**, transformátorem a potenciometrem
pod kondenzorem vysunovatelná spojná čočka (šikmé osvětlení) a nosič filtru (ochrana zraku)

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



Mikroskop Biolar PZO Warszawa

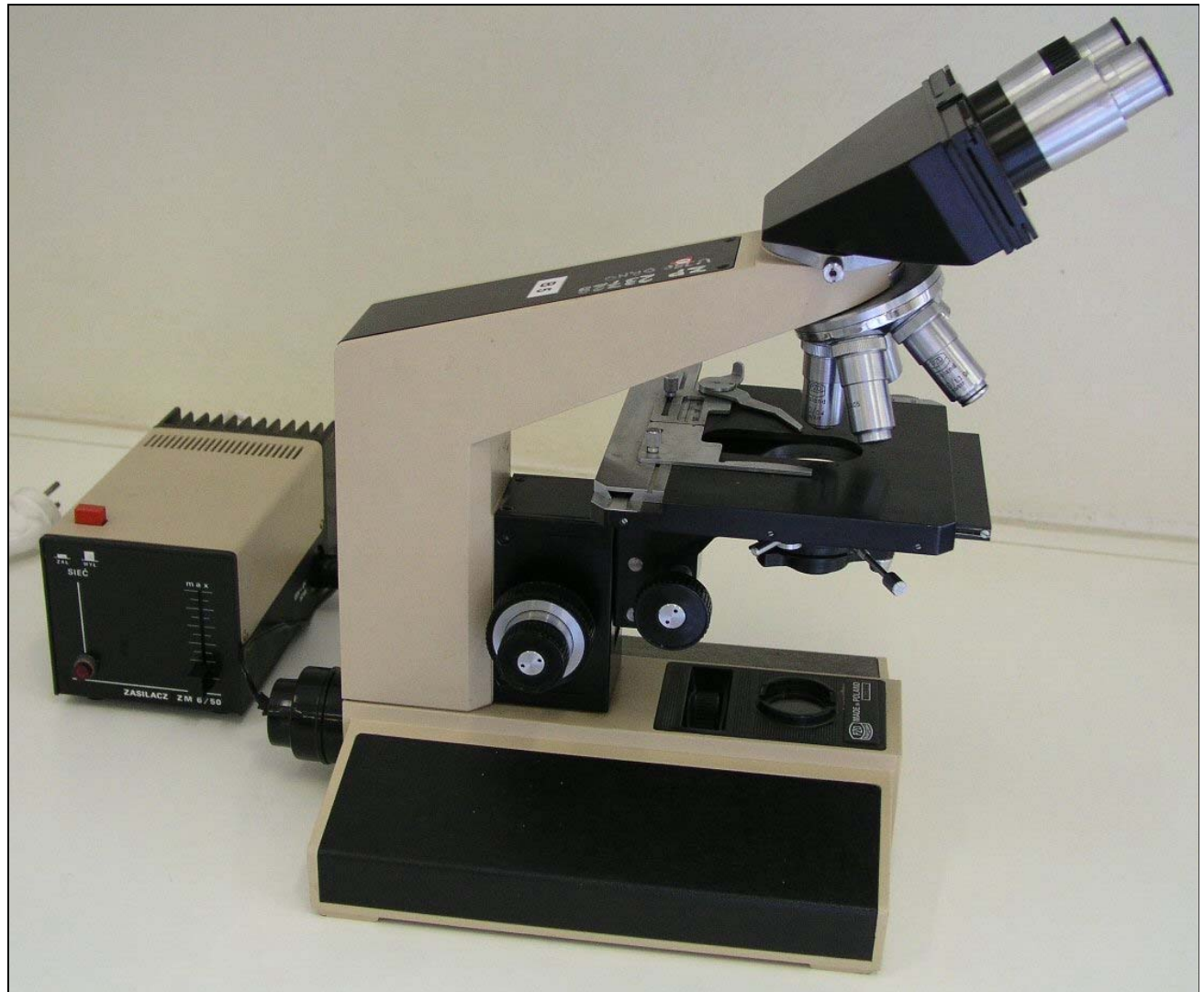
badatelský mikroskop
s vestavěným
osvětlením

zařízení pro fázový
kontrast

rok výroby asi 1980

pořizovací cena
v roce 1984

19.500,- Kč



Mikroskop Amplival Zeiss Jena

badatelský mikroskop
s vestavěným
osvětlením

tři vyměnitelné
kondenzory

poloautomatické
zařízení pro
mikrofotografii
(dnes v TM Brno)

Výroba 1970 - 72

pořizovací cena
38. 270,- Kč



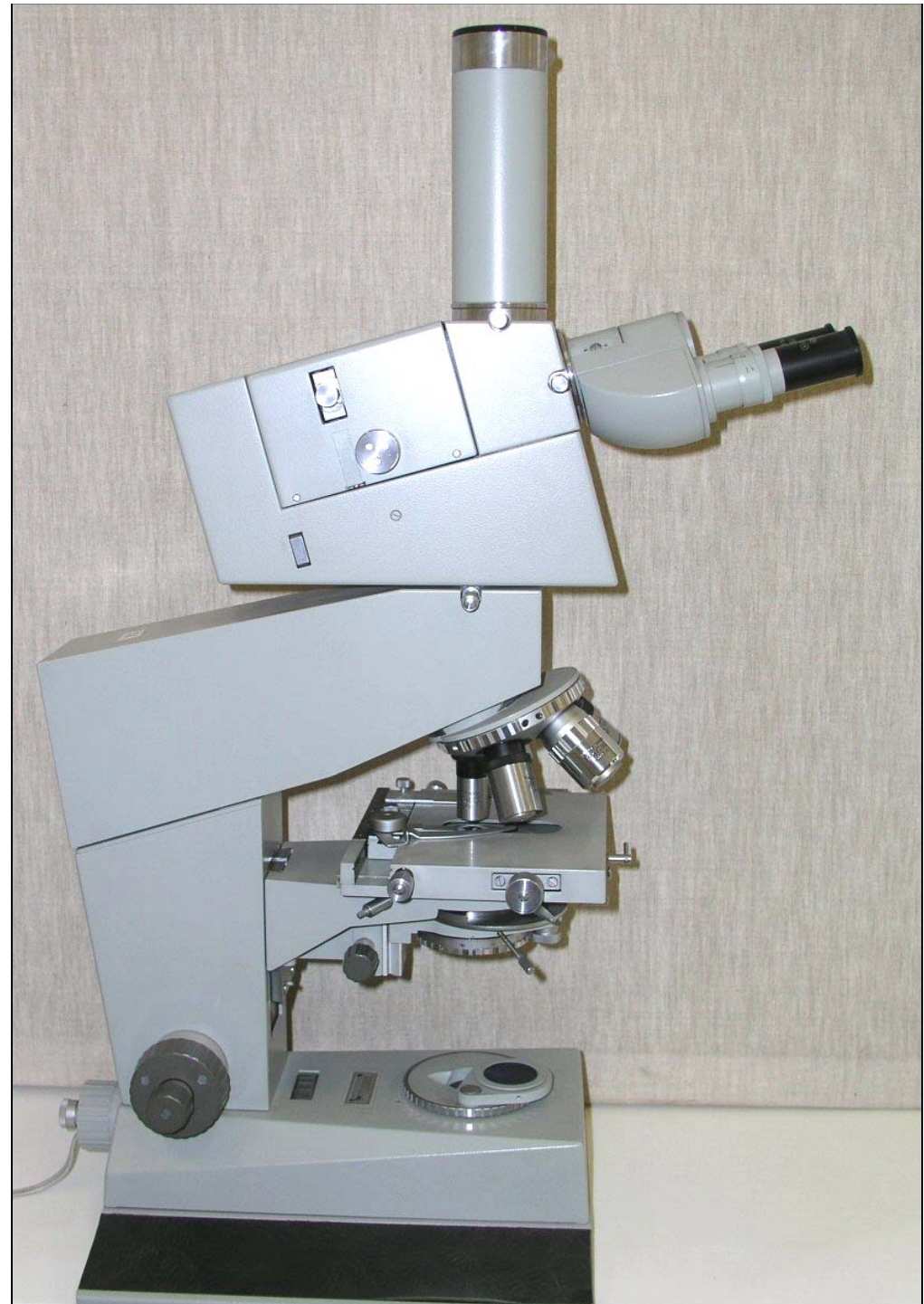
Mikroskop Peraval Zeiss Jena

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

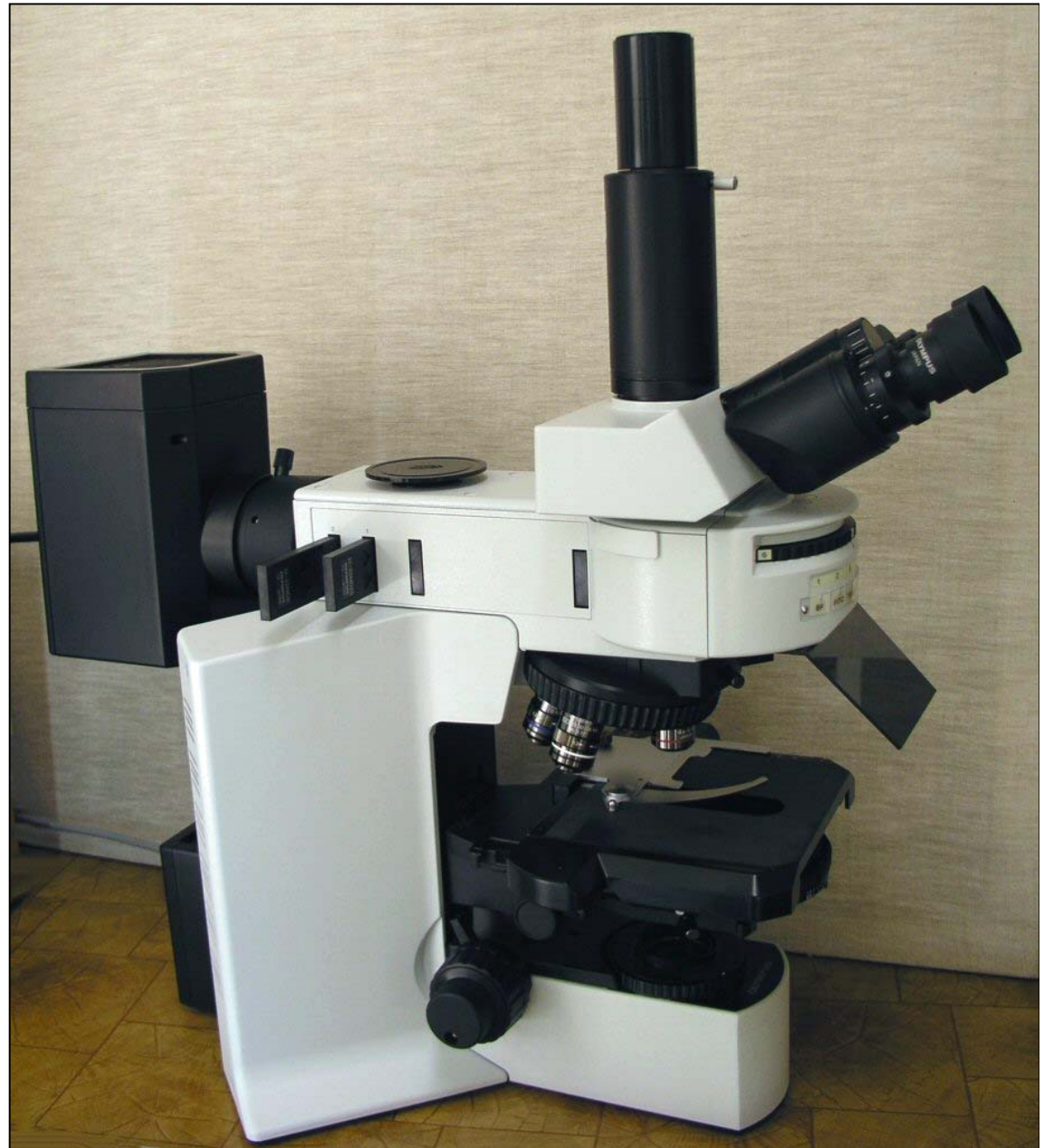
Nomarského diferenciální
interferenční kontrast
(DIC)

trinokulár

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