

Měření velikosti objektů v mikroskopu

Potřebujeme speciální pomůcky: okulárový mikrometr a objektivový mikrometr.

Okulárový mikrometr je skleněná destička, která se vkládá do okuláru. Je na ní vyryta 1 cm dlouhá úsečka rozdělená na 100 dílků po 0,1 mm. Okulárový mikrometr se vkládá do okuláru, aby bylo úsečku vidět, je nutno správně seřídít světlo (clonit).

Objektivový mikrometr je podložní sklo s přilepeným krycím sklem, přičemž na krycím skle je opět vyryta úsečka, ale tentokrát o délce 1 mm rozdělena na 100 dílků po 10 μm . Pokládá se na stoleček jako preparát.

Princip práce je takový, že si nejprve určíme, kolika dílkům na objektivovém mikrometru odpovídá jeden dílek okulárového mikrometru. Vypočteme mikrometrický koeficient:

$$\text{Mikrometrický koeficient} = \frac{\text{Počet dílků objektiv. mikrometru} \times 10}{\text{Počet dílků okulár. mikrometru}}$$

Hodnota mikrometrického koeficientu vychází v mikrometrech a je nutné ji stanovit pro každý objektiv zvlášť. Tato hodnota udává, kolik mikrometrů měří jeden dílek objektivového měřítka pro dané zvětšení.

Dále musíme tuto pracně určenou hodnotu použít pro vlastní měření velikosti pozorovaných objektů. Objektivový mikrometr vyndáme z mikroskopu a umístíme na jeho místo na stoleček normální preparát. Okulárový mikrometr ponecháme v okuláru. Nyní si vybereme v preparátu konkrétní objekt (např. izolovanou buňku) a spočítáme, kolika dílkům na okulárovém mikrometru tento objekt odpovídá. Následně tento počet dílků jednoduše vynásobíme mikrometrickým koeficientem pro daný objektiv a vyjde nám velikost sledované buňky v mikrometrech.

Měření výšky mikroskopovaného objektu: tuto veličinu má smysl měřit zejména na preparátech celých biologických objektů (pylových zrn, izolovaných buněk, částí těl hmyzu apod.) U histologických řezů je tato metoda omezena, protože řezy samy o sobě mají standardní tloušťku (cca 1 – 10 μm) na kterou připadá několik málo vrstev buněk. Rozlišit přesně na výšku jednotlivé buňky většinou není v praxi možné. Pro měření výšky objektu se používá měřítko na mikrošroubu, jeden dílek zde odpovídá 2,5 μm . Při určování výšky objektů zaostříme mikrošroubem na vrchní rovinu ostrosti a poznačíme si hodnotu dílku na měřítku. Potom zaostříme na spodní rovinu ostrosti a počet dílků, o které se mikrošroub pootočil, vynásobíme 2,5. Výsledek je přibližná výška objektu v mikrometrech.

Úkol:

1. pokuste se stanovit mikrometrický koeficient pro objektiv 40 nebo 100 (imerzní) a následně změřte okulárovým měřítkem amébu, prvoka nebo krvinku z krevního nátěru (stačí jeden objekt a jeden objektiv).

2. na preparátu schránek dírkonožců zkuste stanovit výšku objektu. Zaostřete nejprve na horní rovinu, poté pootočte mikrošroubem a zaostřete na spodní rovinu schránky. Počet dílků, o které bylo nutné pootočit mikrošroub, se vynásobí 2,5.