

Mikroskopy

- Světelný
- Konfokální
- Fluorescenční
- Elektronový

Světelný mikroskop

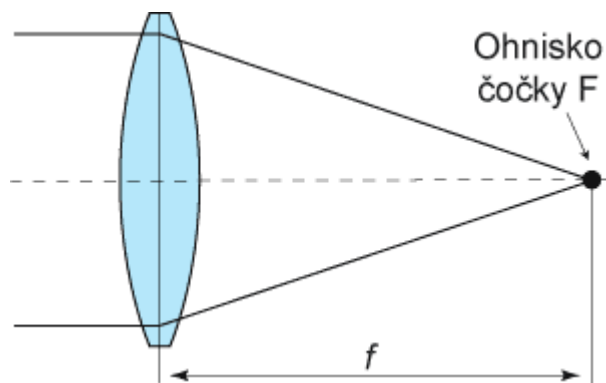
- Historie
- **1590-1610** - Vyrobeny první přístroje, které lze považovat za použitelný mikroskop (Hans a Zaccharis Janssenové z Middleburgu v Holandsku).
- **Přelom 17. a 18. století** - Antoni van Leeuwenhoek brousil čočky vynikající kvality. Vyrobil asi 505 mikroskopů, které zvětšovaly až 270x.
- **1847** – Zahájení výroby mikroskopů firmou Carl Zeiss v Jeně.
- **1911** – Fluorescenční mikroskop s UV excitací (C. Reichert).
- **1968** – Rastrovací tandemový konfokální mikroskop (TSCM).
- **1978** – Laserový konfokální rastrovací mikroskop.
- **1931** – elektronový mikroskop (1931 TEM, 1942 SEM)

Stavba světelného mikroskopu

- mechanická část (podstavec, stojan a stolek s křížovým posunem)
- osvětlovací části (zdroj světla, kondenzor, clona)
- optické části (objektivy a okuláry)

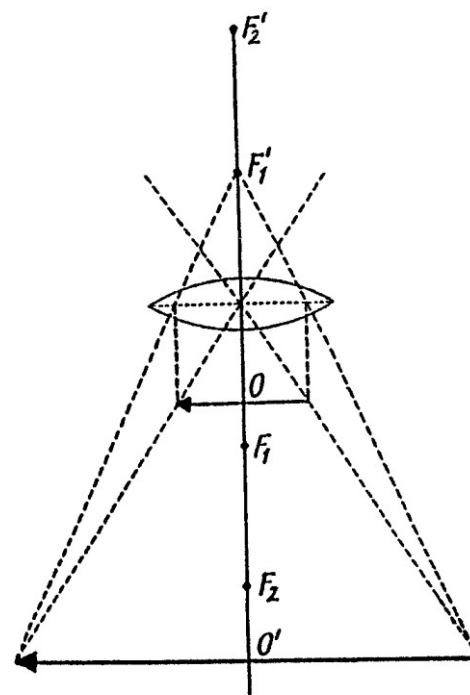
Princip čočky

Průchod paprsků čočkou



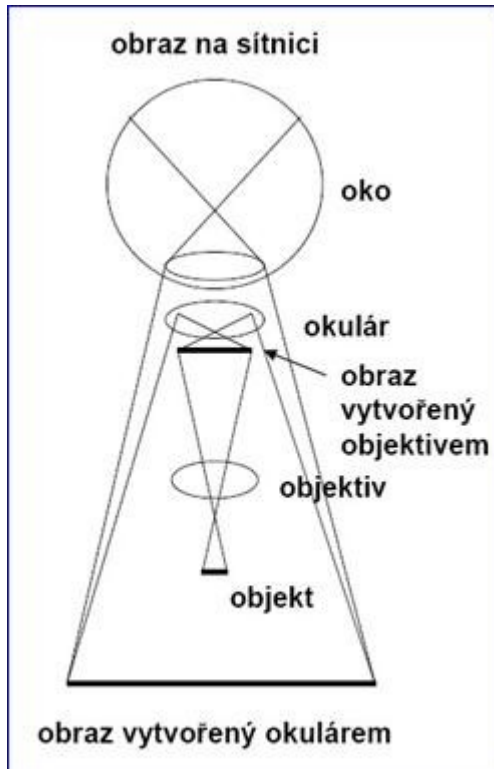
https://www.google.cz/search?q=paprsky+%C4%8Do%C4%8Dkou&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAcQ_AUoAWoVChMIjoez1d-HyAIVwdYUCh2BEwsz&biw=1338&bih=608#imgrc=AwM0B4fksHMBkM%3A

Zobrazení předmětu čočkou



http://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/obecna_botanika/obrazky/ZM/lupa.jpg

Vznik obrazu v mikroskopu



<https://www.google.cz/search?q=mikroskop+obraz&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0CBwQsARqFQoTCM-6oO3eh8gCFQTWFAodRvEFTQ&biw=1338&bih=608#imgrc=X9F7dRYz1DPnpM%3A>

- Zákon lomu
- Zákon odrazu
- Optická hustota prostředí – INDEX LOMU

Vzduch $N = 1$

Voda $N = 1,33$

Cedrový olej (imerzní) $N = 1,51$

Sklo $N = 1,52$

Kanadský balsám $N = 1,52$

Objektivy

- ACHROMÁTY – korekce některých chromatických vad
- PLANACHROMÁTY – úplná korekce chromatických vad

- Suché, ponorné – vodní a imersní
- Vlastnosti objektivů:

Ohnisková vzdálenost

1. Větší než 20 mm – slabé objektivy
2. 6 – 15 mm – střední objektivy
3. Méně než 5 mm – silné objektivy

Pracovní vzdálenost

Čím silnější objektiv tím menší pracovní vzdálenost

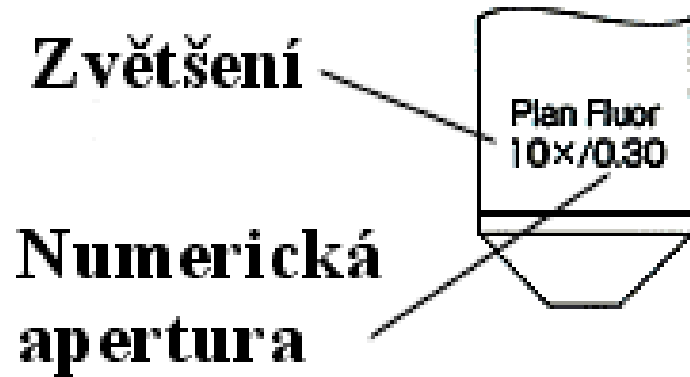
Světelnost objektivu

= schopnost zachytit co nejvíce světelných paprsků přicházejících z předmětů do objektivu
- o tom také rozhoduje lomivost prostředí, kterým musí paprsky projít než se dostanou do objektivu

Rozlišovací schopnost mikroskopu

= vzdálenost dvou bodů, které mikroskop zobrazí jako dva body

- ukazuje ji numerická apertura (NA)
- vliv na ní má přidání imerzního oleje
- vliv NA kondenzoru



- Nej kvalitnější u imerzních objektivů (1,3 – 1,4)
- Čím větší číslo – tím kvalitnější objektiv

Zvětšení mikroskopu

- Je násobkem zvětšení objektivu a okuláru
- vzdálenost dvou rozlišitelných bodů srovnatelná s rozlišovací schopností oka – nemá cenu zvětšovat (prázdne zvětšení) – nevidíme.

Fluorescenční mikroskop

(UV světlo – vlnová délka 136 – 380 nm)

- Luminiscence
- Fluorescence
- Záření excitační
- Záření emisní
- Fluorochrom

Zdroj světla: Rtuťová výbojka

- Transmisní fluorescenční mikroskop
- Epifluorescenční mikroskop

Konfokální mikroskop

- Když objekt silný, neprůhledný
- Zdroj světla – laser – zaměřeno do jednoho bodu objektu
- Světlo emisní – emitované z tohoto bodu snímáno detektorem
- Signály z detektoru – PC, program vyhodnotí – sestaví celkový obraz

Elektronová mikroskopie

Rastrovací elektronový mikroskop



VEGA3 SB

<http://www.tescan.com/cz/produkty/vega-sem/vega3-sb>

Výrobce v ČR: firma TESCAN <http://www.tescan.com/cz>

Rozlišovací schopnost elektronového mikroskopu

- úměrná délce použitého záření

Elektrony – kratší vlnová délka (než fotony) \Rightarrow vyšší rozlišovací schopnost elektr. mikroskopu \Rightarrow vyšší efektivní zvětšení (až 1 000 000x)

Zdroj záření – elektronové dělo

Zobrazovací systém – elektromagnetická čočka

Typy elektronových mikroskopů

TEM – transmisní elektronový mikroskop

SEM – rastrovací elektronový mikroskop

Typy elektronového mikroskopu

TEM

zobrazení vnitřní struktury vzorku
(prošlé elektrony)

Ernts Ruska 1931 (1986 Nobelova
cena)

elektrony procházejí skrz vzorek

vysoké urychlovací napětí

tenké vzorky

vyšší dosažené rozlišení než SEM

SEM

zobrazení povrchu vzorku
(sekundární/odražené elektrony)

V. K. Zworykin 1942

Svazek elektr. se pohybuje po vzorku

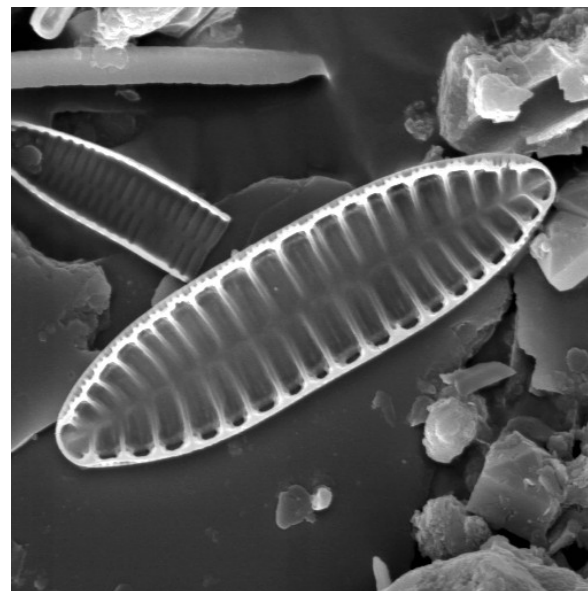
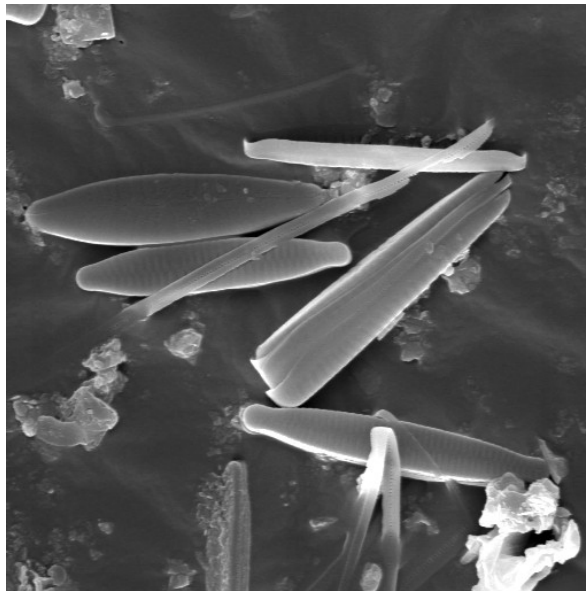
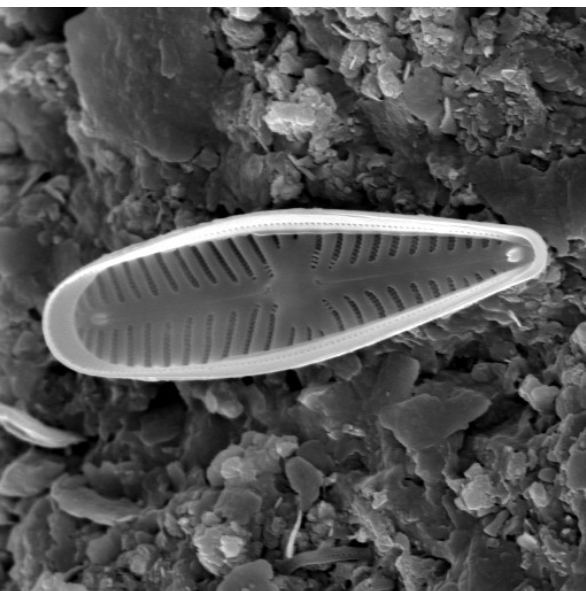
nízké urchlovací napětí

jednoduchá příprava vzorku

snadná interpretace obrazu

STEM – skenovací elektronový mikroskop – SEM a TEM dohromady

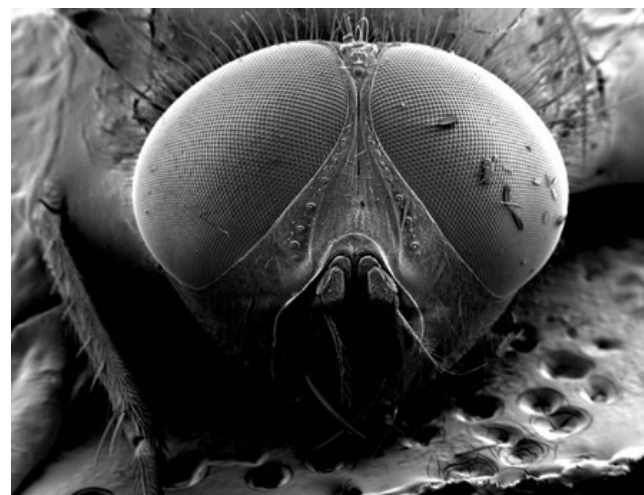
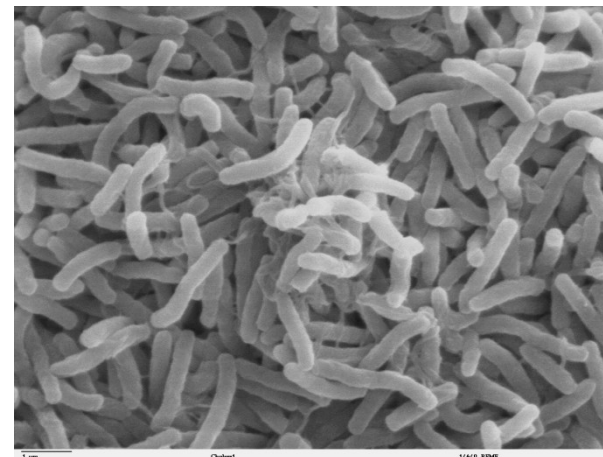
Schránky rozsivek v SEM, foto. M. Kozáková



Cholera bacteria

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Cholera_bacteria_SEM.jpg

<http://aldousfirm.com/sem-expert-formula-the-search-engine-marketing-key/>



Nákup mikroskopů (ZŠ, SŠ)

mikroskopy: školní

Arsenal: <http://www.mikroskopy-mikroskop.cz/>

LABO PROFI 3012iX-T (64. tis Kč)

Olympus: <http://www.mikroskopy-mikroskop.cz/>

CX 31 (42 tis. Kč, bez okuláru 100x)

SZ51 STEREO-MICROSCOPE (53 tis. Kč)

Čištění mikroskopu

Čištění mikroskopu:

ETHER : ALKOHOL

8 : 2

ETHER: diethylether: lab. potřeby

ALKOHOL: použít čistý líh 96% - lab. potřeby nebo lékárna –
líh na pupík – je cca 60%)

Mikroskopovací pomůcky

Měření objektů v mikroskopu

Měřící okulár

Měřící sklíčko (nebo síťové sklíčko) – vkládá se do okuláru

Dodávají výrobci mikroskopů

Srovnávací sklíčko

= podložní sklo s nakalibrovanou stupnicí, 1 dílek = 0,01mm = 10 μ m

slouží k nakalibrování měřícího sklíčka

Počítací komůrky

Cyrus, Bürkrova komůrka

Slouží k počítání buněk (krevní buňky, bakterie, fytoplankton)

Boxy na trvalé preparáty

fy Merci, Brno: <http://www.merci.cz/kategorie/laboratorni-pomucky-z-plastu/plast-pro-zdravotnictvi/zasobniky-na-podlozni-skla/>