

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 absorpcí viditelného světla
 - světelná, fázový a Nomarského kontrast
- B) Elektronová – nikoli světlo, ale elektrony
- C) Akustická

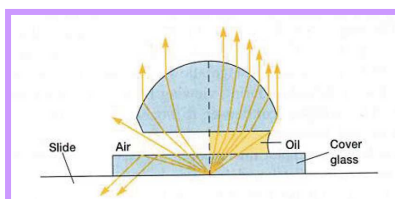
Optická (světelná) mikroskopie

Max. zvětšení 1500 X, max. rozlišení 200 nm

Výsledkem je neskutečný, zvětšený a převrácený obraz.

Suchý objektiv:

Paprsek vystupující z preparátu pod úhlem α 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 (index lomu = 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 paprscích
- 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

Fázový kontrast

Různé části preparátu však vykazují různý index lomu – ohyb paprsků tím více čím větší

možnost pozorování živých objektů (pohyb, tvar b.) 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. **Původně světlé části se jeví jako tmavé a naopak „hustší“ části buňky (vysoký index lomu) se jeví jako světlé (př: zářící endospory)**

□ 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.

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 různém n různých částí buňky. Zvýrazněním i malých rozdílů vznikne plastický obraz povrchu buňky.