

SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE

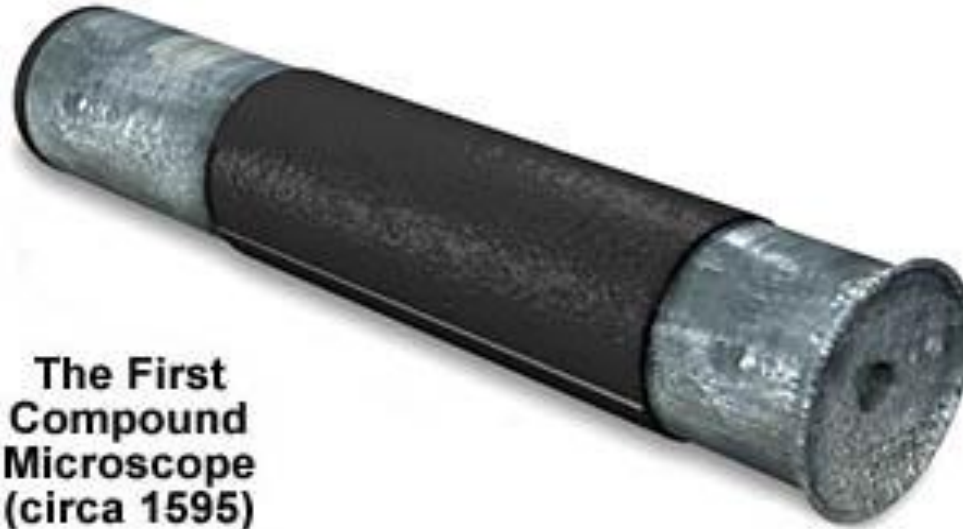
Typy světelných mikroskopů

Johann a Zacharias Jansenové (16. stol.)



FIG. 1. ZACHARIAE JANSSEN, THE INVENTOR OF THE COMPOUND MICROSCOPE. (FROM "DE VERE TELESCOPII INVENTORE.")

System dvou čoček

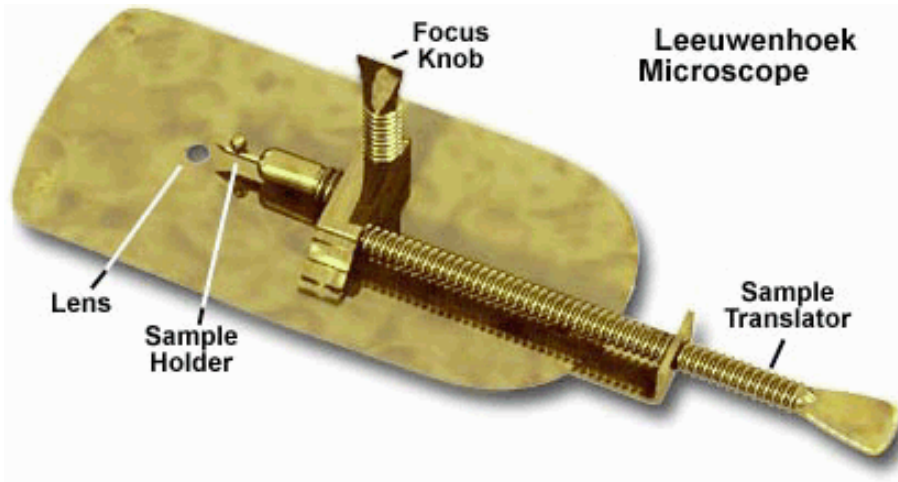


**The First
Compound
Microscope
(circa 1595)**

délka 1,2 m

Typy světelných mikroskopů

17. stol.



Leeuwenhoek
Microscope



Simple
Sliding Rod
Microscope
(circa 1640s)



Jednočočkový mikroskop

Typy světelných mikroskopů

17. stol.



Guiseppe Campani
Turned Ivory Monocular
Microscope
(circa 1662)

Italský původ

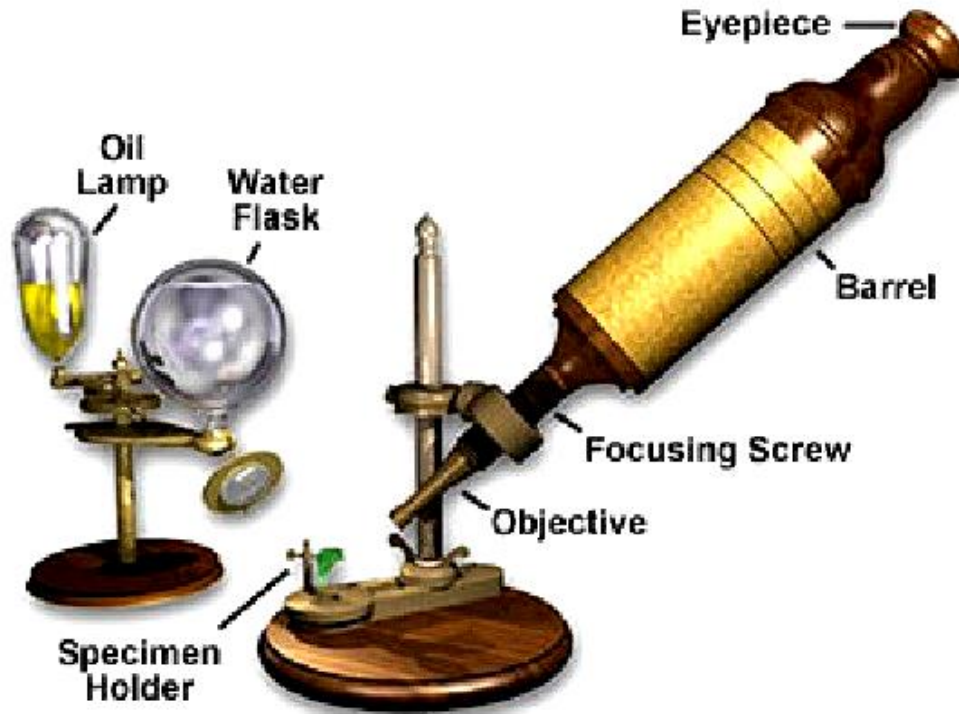


English Tripod
Microscope
by John Yarwell
(circa 1680s)

Anglický původ

Typy světelných mikroskopů

17. stol. Hookův mikroskop (1670)



- vylepšení osvětlení, použití irisové clony

Typy světelných mikroskopů

19. stol.



Designed for medical students in the late 19th Century, this Wenham-style binocular microscope, designed and built by Henry Crouch typifies advancements of the period.



Bausch & Lomb
Simple Binocular
Dissecting
Microscope
(circa 1903)

20. stol.

This state-of-the-art microscope contains accessories for DIC, fluorescence, polarized light, phase contrast, and photomicrography using several film formats and digital image capture.



The Olympus
Provis AX-70
(circa 1998)

Provis AX-70

Světlo

- část rozsáhlé oblasti elektromagnetického záření,
kterou vnímáme zrakem

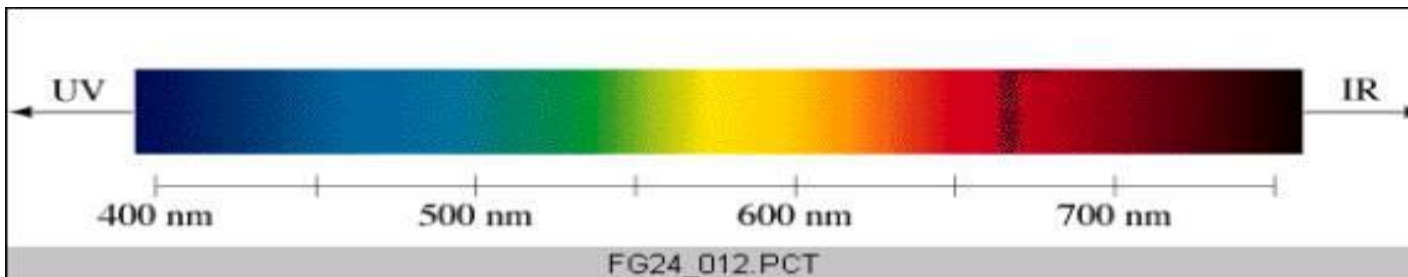
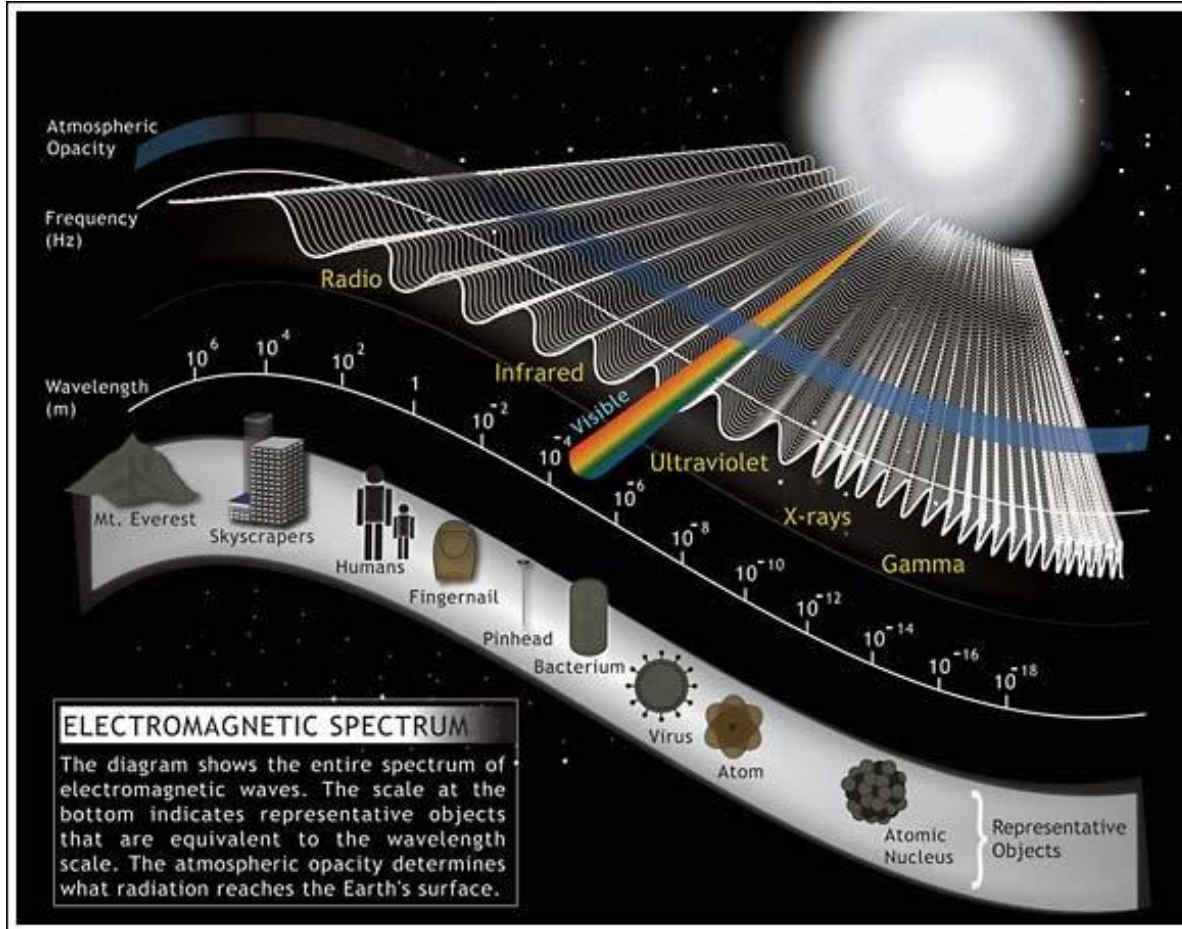
Rozhlasové a rádiové vlny	250 km – 1 mm
Infračervené záření	0,5 mm – 0,8 μm
Světlo (viditelné záření)	0,8 μm – 0,4μm
Ultrafialové záření	0,4 μm – 0,1 μm
Röntgenovo záření (X-paprsky)	15 nm – 0,005 nm
γ -záření	pod 0,0001 nm

Vlnový model (elektromagnetické vlnění)

Kvantový model (proud fotonů)

Geometrický model (světelný paprsek)

Světlo



Optické principy

- založeny na odrazu a lomu světelných paprsků v prostředích různé hustoty

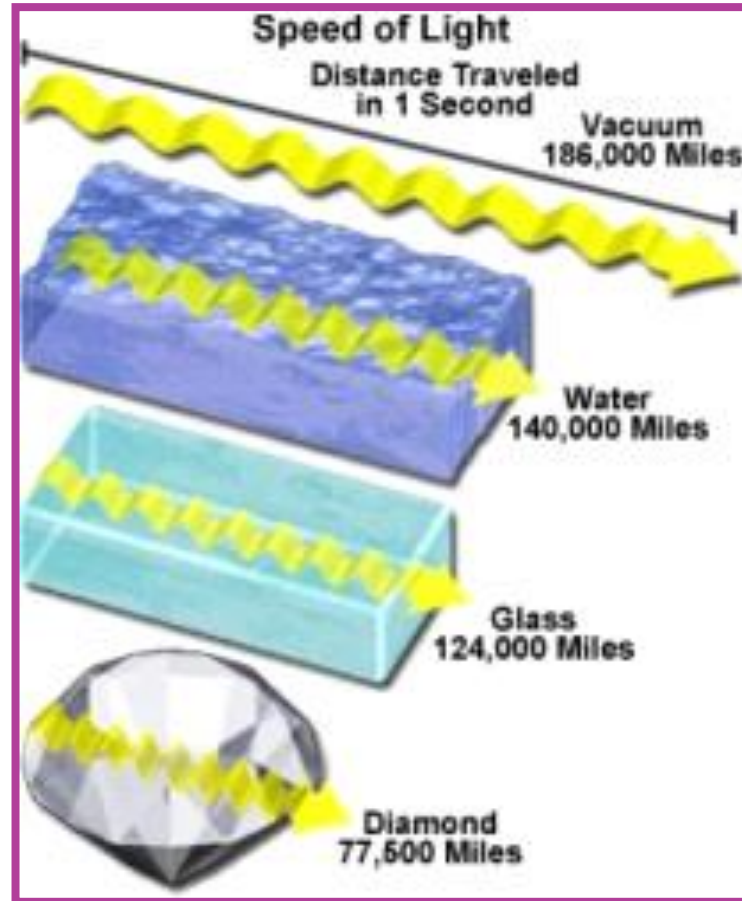
Důležitá charakteristika prostředí:

index lomu (n) (= optická hustota prostředí)

$$n = \frac{c}{v} = \frac{\text{rychlost světla ve vakuu (stejná pro všechny } \lambda \text{)}}{\text{rychlost světla určité vlnové délky ve zkoumané látce}}$$

Optické principy

Rychlost světla určité vlnové
délky v různých prostředích



Optické principy

Index lomu (n) některých látek:

vzduch (vakuum)	1,00 (vzduch: 1,0002718)
voda	1,33
plexisklo	1,40 – 1,52
křemenné sklo	1,45 (čočka z křemene z Ninive – 7 stol. př.n.l.)
běžné sklo	1,51
cedrový olej	1,51
imerzní olej Olympus	1,516 (pro fluorescenci 1,404)
kanadský balzám	1,50
krystal NaCl	1,54
korunové sklo	1,45 – 1,56 (sodno-draselné, bezolovnaté)
flintové sklo	1,62 – 1,80 (olovnaté)
diamant	2,42

Index lomu je vždy větší než 1,00!

Stavba mikroskopu

Optické části:

objektiv

okuláry

hranoly

Mechanické části:

stativ a tubus

makro- a mikro- šroub

revolverový nosič objektivů

stolek s držáky preparátu

irisová a polní clona

Osvětlovací zařízení:

zdroj světla

kondenzor

zrcadlicí systémy (vedou světlo do optické osy mikroskopu)

irisová a polní clona

Stavba mikroskopu



Konstrukce obrazu vytvořeného složeným mikroskopem

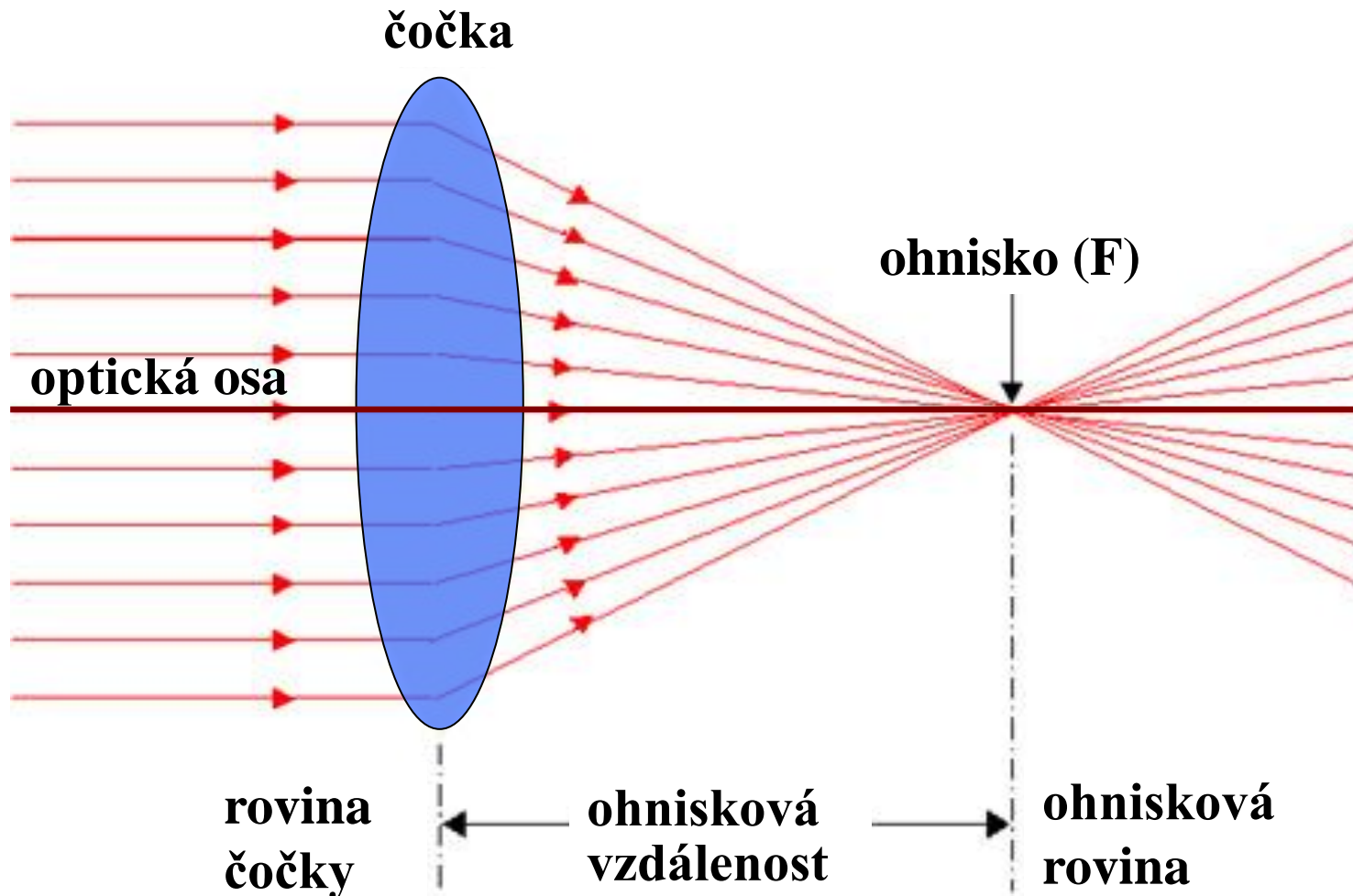
- ❑ složený mikroskop se skládá ze dvou optických částí funkčně i stavebně odlišných:

objektivu

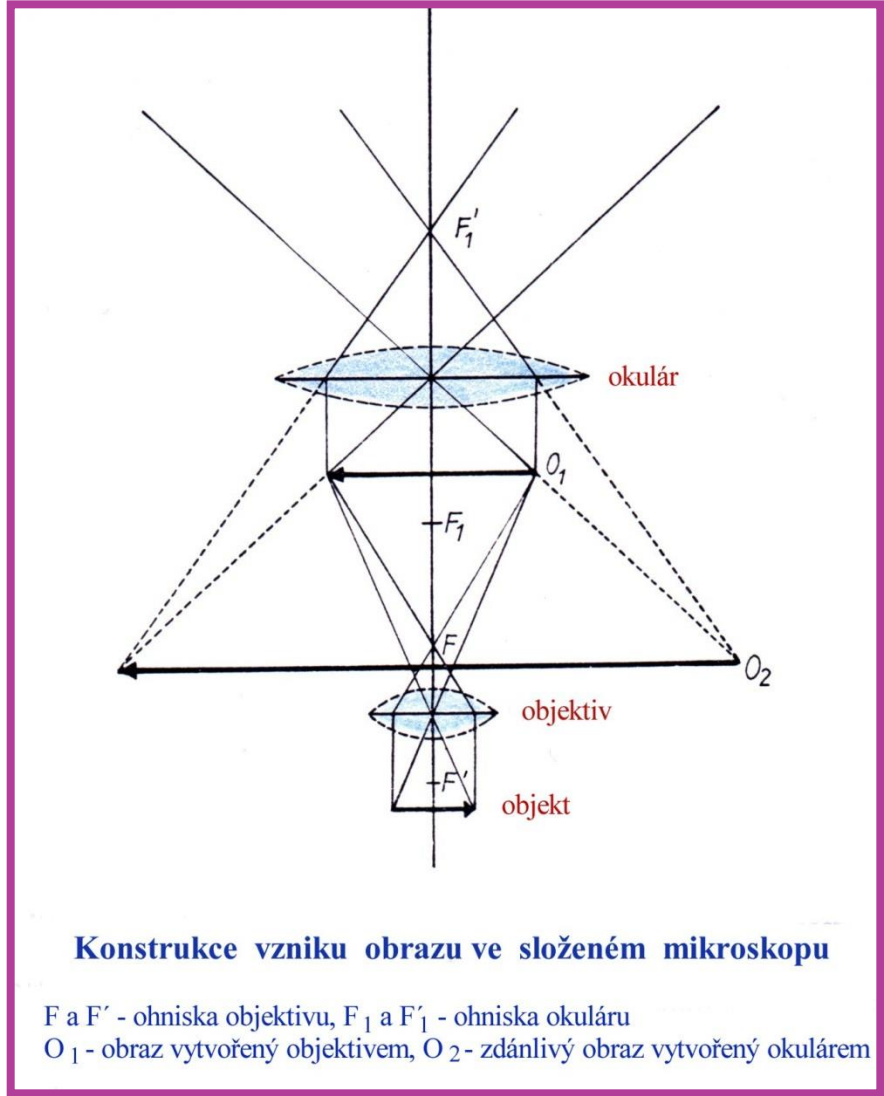
okuláru

- ❑ pro konstrukci obrazu vycházíme ze zákonů geometrické optiky

Konstrukce obrazu vytvořeného složeným mikroskopem



- při ostření nastavujeme objekt mezi dvojnásobnou ohniskovou vzdálenost a ohnisko
- objektivem vzniká obraz **skutečný, zvětšený, převrácený** za dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností
- tento obraz pozorujeme okulárem jako lupou (obraz musí být mezi čočkou okuláru a jejím ohniskem) obraz **neskutečný, zvětšený, přímý**
- konečný obraz pozorovaný v mikroskopu je vzhledem k předmětu **neskutečný, zvětšený a převrácený**



Objektiv

Objektiv je označen dvěma čísly:

1. **zvětšení** – kolikrát je objekt zvětšen v objektivu
2. **numerická apertura (NA)** – udává rozlišovací schopnost mikroskopu



Numerická apertura (NA)

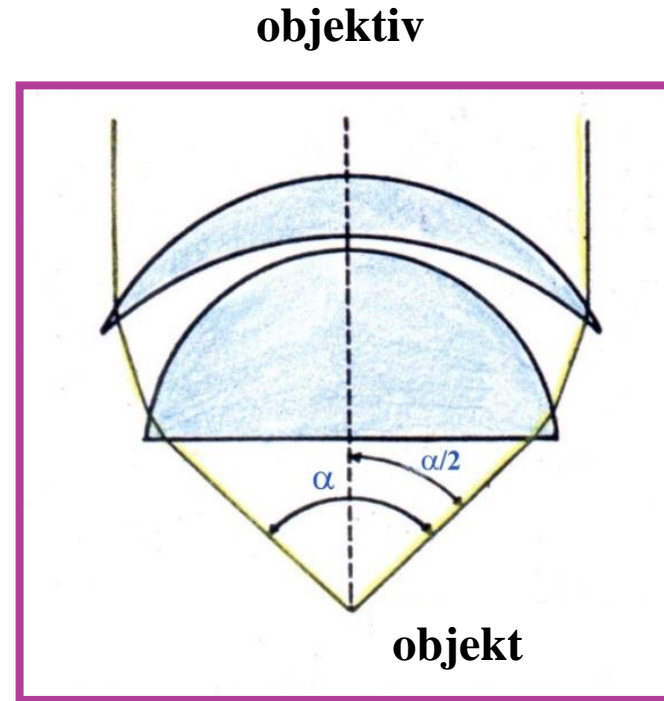
$$NA = n \cdot \sin \alpha/2$$

n – index lomu prostředí před
objektivem

α – otvorový úhel

Otvorový úhel

úhel (α), který svírají dva protilehlé
krajní paprsky, jež vstupují do
objektivu a vycházejí z bodu ležícího
na optické ose v zaostřeném objektu



- čím větší otvorový úhel, tím větší rozlišovací schopnost objektivu, a tím i rozlišovací schopnost mikroskopu

Rozlišovací schopnost mikroskopu

- vzdálenost dvou bodů, které mikroskop zobrazí jako dva samostatné body
- schopnost objektivu rozlišit dva blízko sebe ležící body a zobrazit je jako 2 body a ne jako jeden bod je určena vlnovou délkou použitého světla a numerickou aperturou

Rozlišovací schopnost objektivu (**a**):

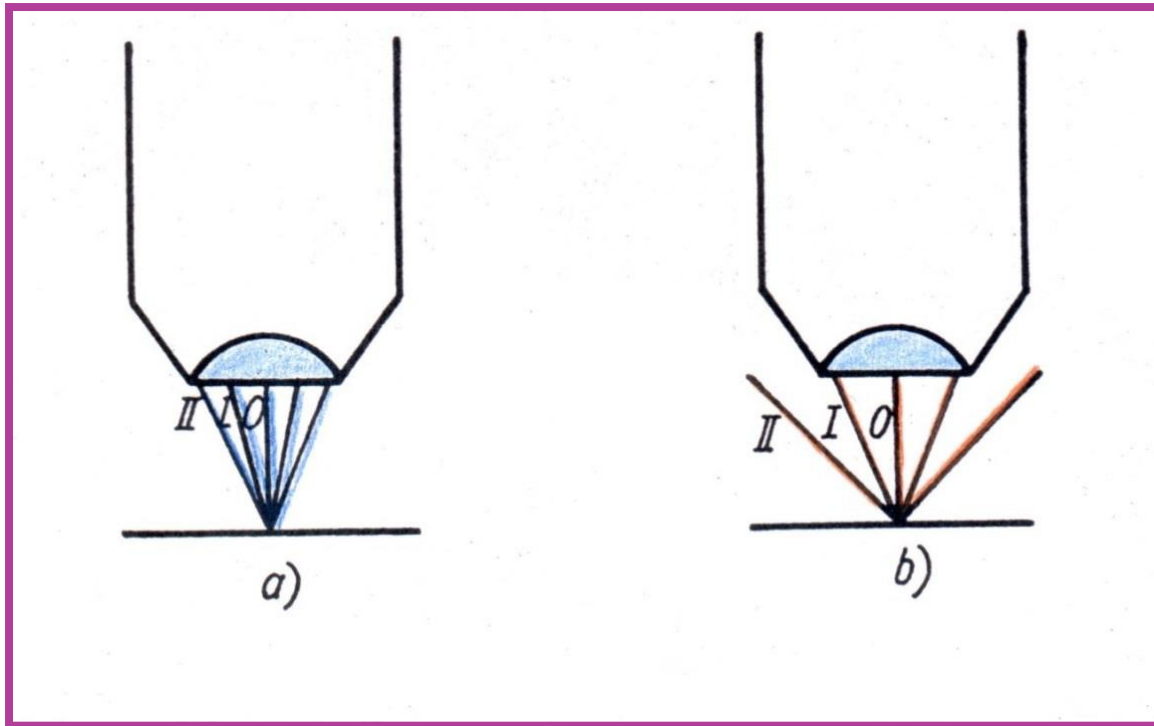
$$a = \frac{\lambda}{n \cdot \sin a/2} (= NA)$$

Rozlišovací schopnost mikroskopu (**d**):

Podle Rayleyho

$$d = 0,61 \frac{\lambda}{NA_{obj.}}$$

Vliv vlnové délky na rozlišení struktury



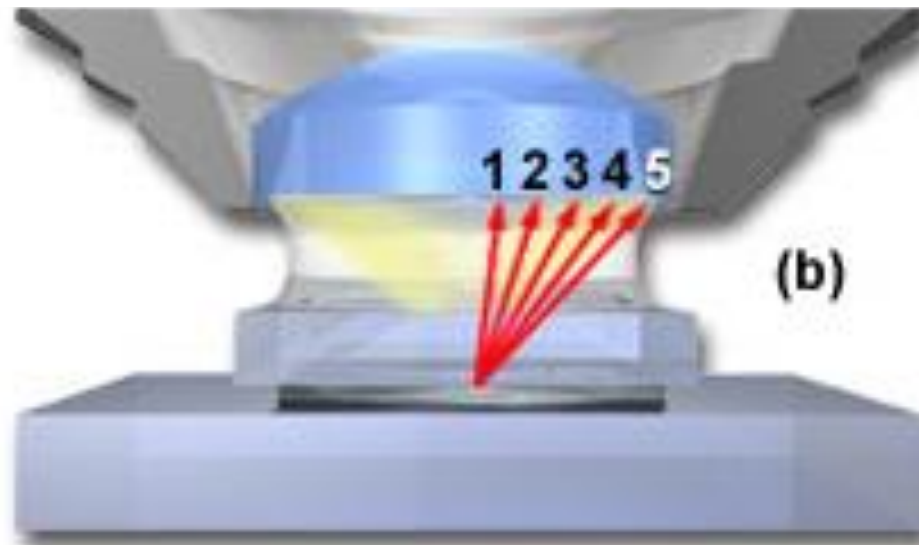
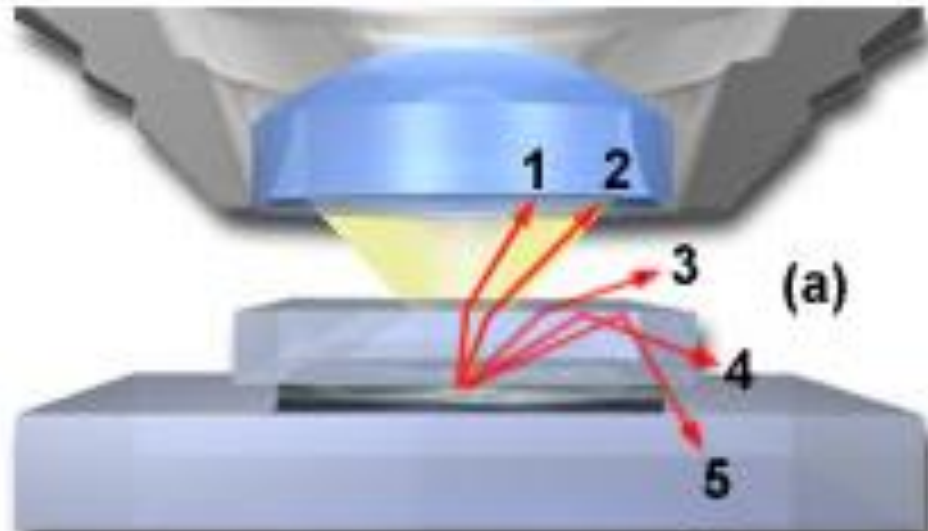
Při NA obj. = 1,4

d pro modré světlo (380 nm) = 170 nm

d pro červené světlo (780 nm) = 340 nm

d pro běžně používané bílé světlo (cca 550 nm) = cca 240 nm

Imerzní olej



Zvětšení mikroskopu

Celkové zvětšení mikroskopu (M):

$$M = M_{\text{obj.}} \cdot M_{\text{ok}} \cdot k_t$$

k_t = zvětšovací faktor tubusu (u školního mikroskopu = 1)

Užitečné zvětšení mikroskopu (Z):

U každého objektivu můžeme stupňovat zvětšení mikroskopu použitím silných okulárů jen po určitou mez. Toto užitečné zvětšení souvisí s rozlišovací schopností lidského oka (tj. $d = 0,15$ mm) a odvozuje se od hodnoty numerické apertury objektivu.

Pro užitečné zvětšení mikroskopu platí:

$$Z = 500 \cdot NA \quad \text{až} \quad 1000 \cdot NA$$