

# SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE

## Úvod do světelné mikroskopie

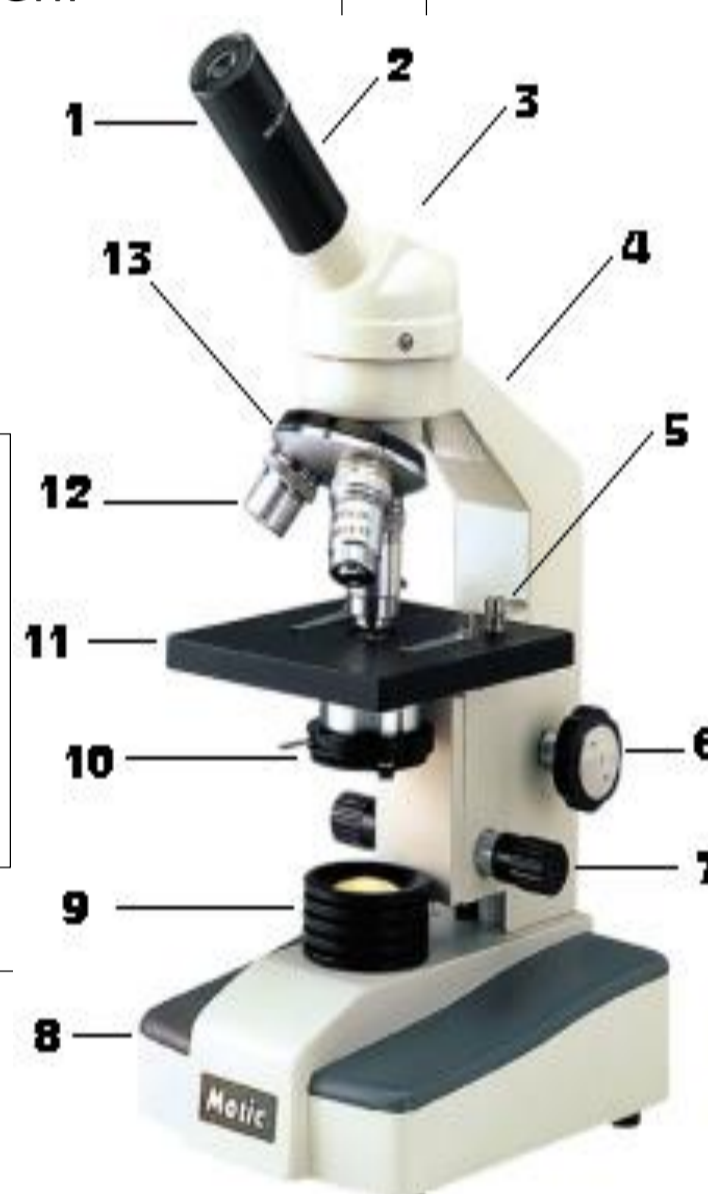
- Využívá optický mikroskop
- Umožňuje rozeznat okem neviditelné struktury (nejmenší vzdálenost, kdy lze od sebe odlišit dva body)
  - Rozlišovací schopnost oka je 0,2 mm
  - Rozlišovací schopnost optického mikroskopu je 0,2 μm
- Zkoumané struktury: buňky, tkáně, pletiva či mikroorganismy
- Stavba mikroskopu
  - Dvoustupňová soustava tvořená objektivem a okulárem doplněná o osvětlení
  - Z mechanických (stativ, noha stativu, makro a mikrošroub...), z optických (objektiv, okulár, kondenzor, clona...)
  - Výsledný obraz je neskutečný, převrácený a zvětšený

### světelný mikroskop

- 1676 (Anton van Leeuwenhoek)
- Využívá světelné paprsky
- Rozlišovací schopnost: 0, 2 μm
- Barvení

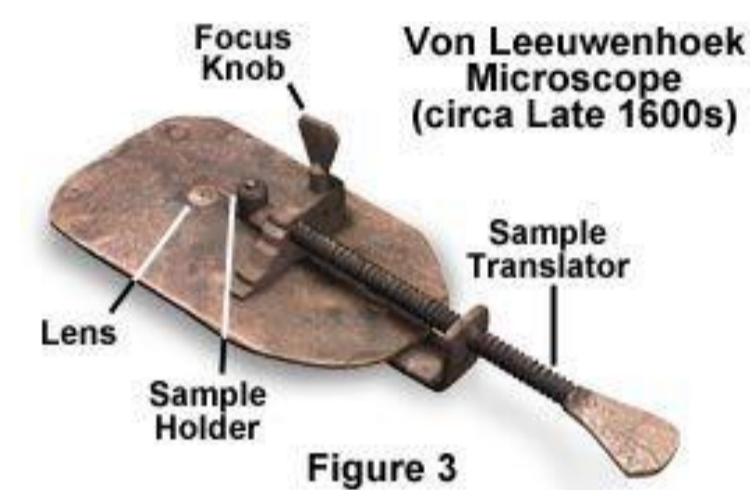
### vs elektronový mikroskop

- 1932 (Knoll a Ruska)
- Využívá elektrony
- Rozlišovací schopnost: 0,01 nm
- Kontrastování



## Historie

- Zacharias Janssen – 1590 vynalezl mikroskop s více čočkami
- Antoni van Leeuwenhoek – jednočočkovým přístrojem (1676) pozoroval rostlinné buňky, kvasinky aj.
- Giovanni B. Amici – 1. polovina 19. stol. tvar současného mikroskopu



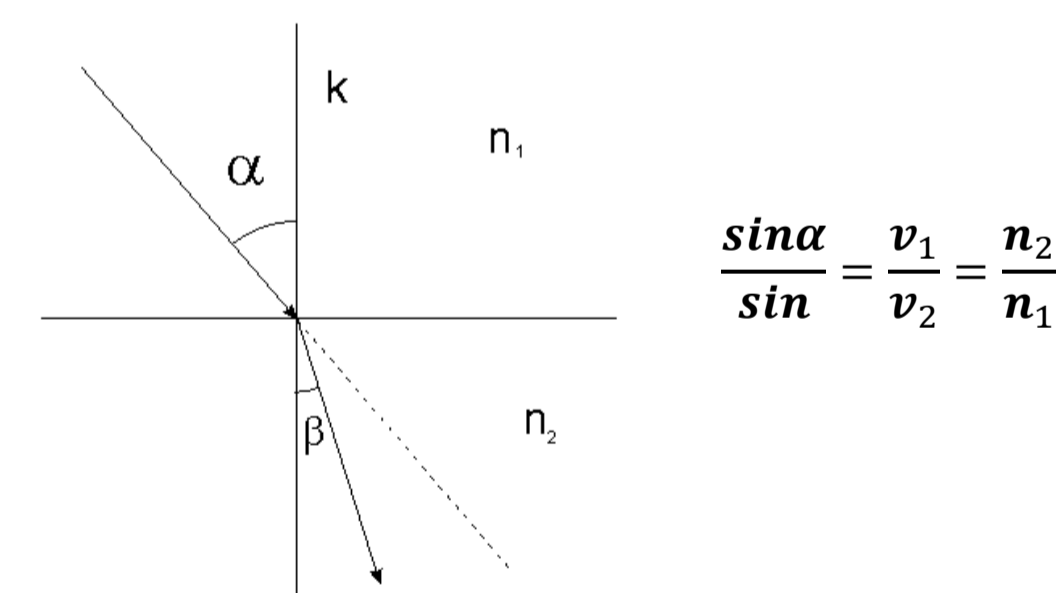
### Popis mikroskopu (viz obrázky)

1. Okulár	7. Mikro zaostřování
2. Tubus okuláru	8. Základna (noha) mikr.
3. Hlavice	9. Kolektor osvětlení
4. Rameno mikr.	10. Kondenzor
5. Držák preparátu	11. Pracovní stůlek
6. Makro zaostřování	12. Objektivy

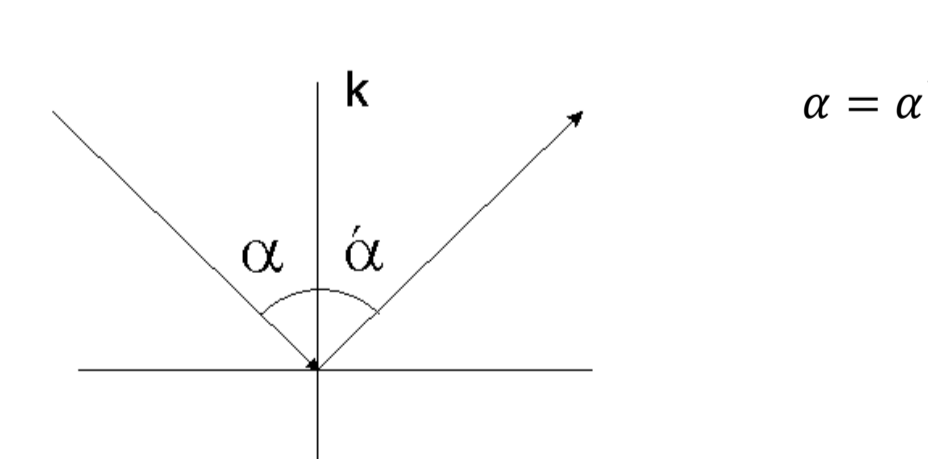
## Principy zobrazování konvenčním světelným mikroskopem

- Mikroskop vizualizuje změny vlastností světla při průchodu zkoumaným materiálem
- Využívá lomu světla (viditelné elektromagn. vlnění o vlnové délce 390 – 790 nm)
- Uplatňují se fyzikální principy:

### ○ Zákon lomu

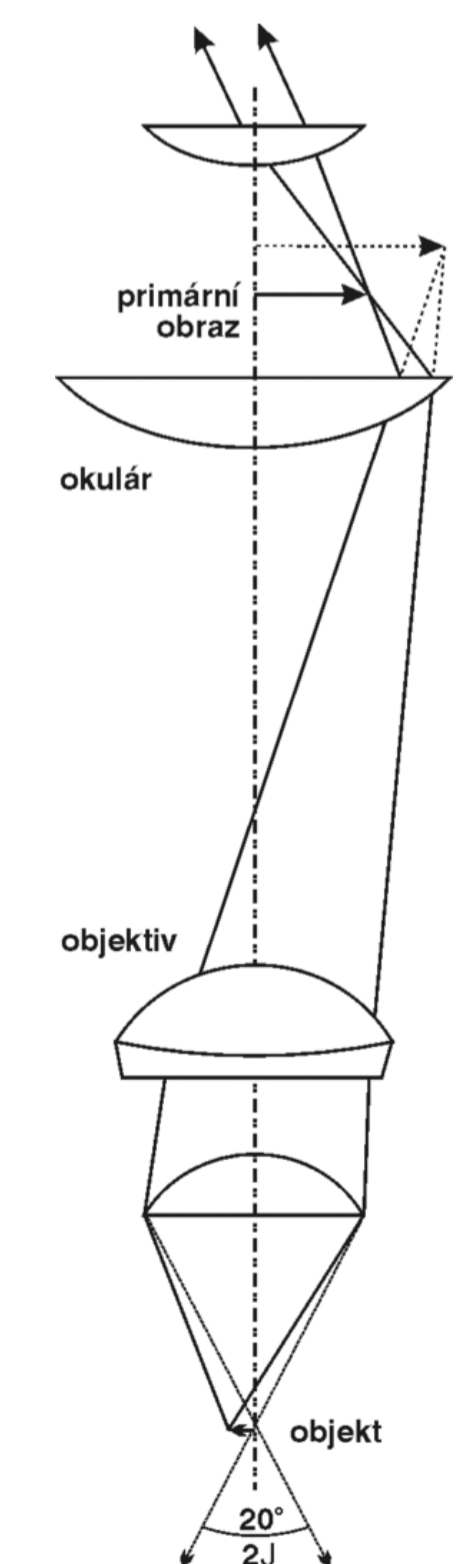


### ○ Zákon odrazu



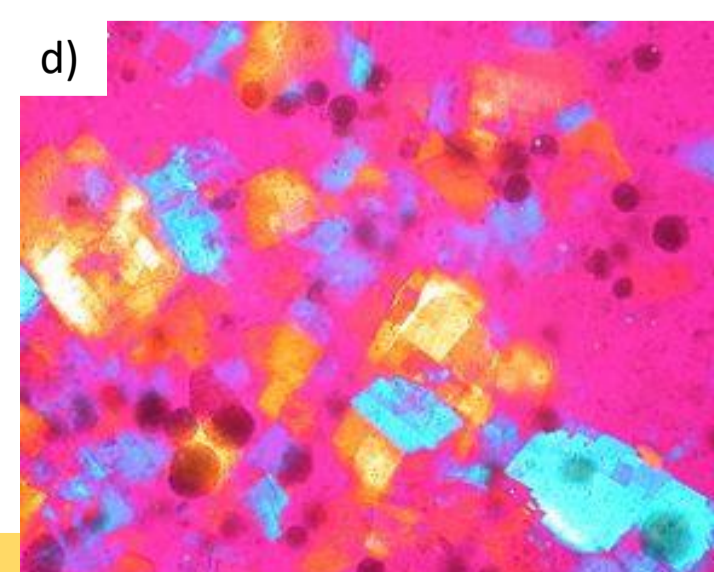
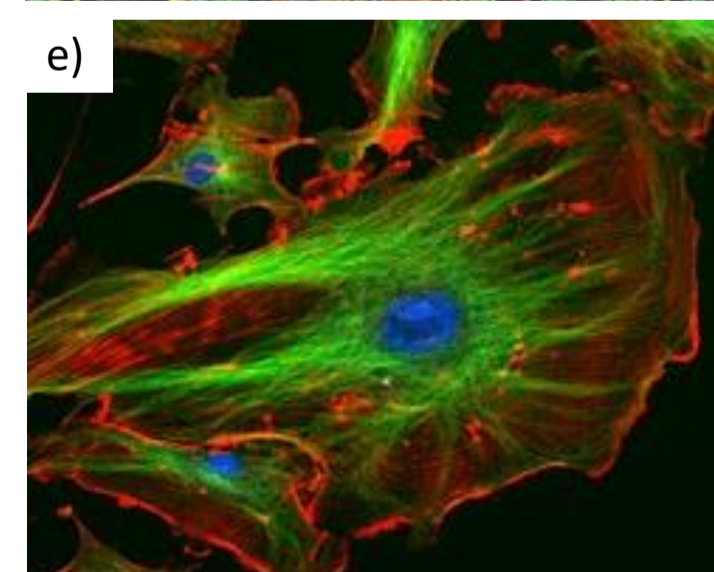
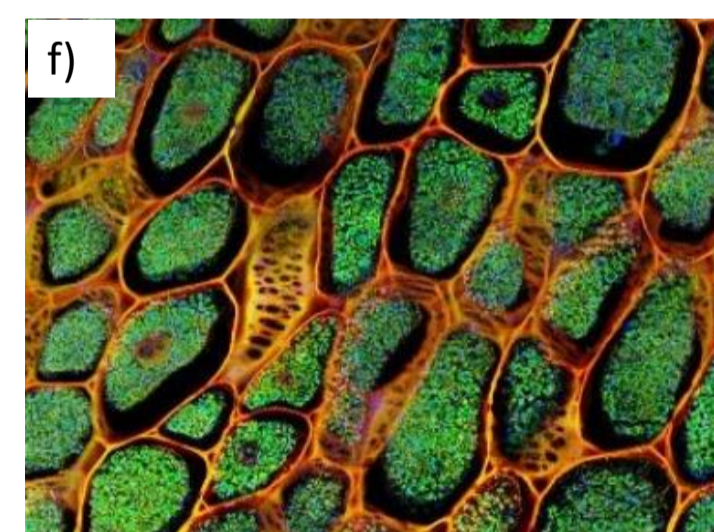
- Klíčové veličiny pro kvalitu zobrazovaného objektu (objektiv)
  - Zvětšení (poměr velikosti obrazu ku velikosti objektu)
  - Numerická apertura NA (schopnost objektivu rozlišit detaily)

$$NA = n \cdot \sin \theta$$



### Zvláštní typy světelných mikroskopů

Mikroskopie v temném poli	Objektiv sbírá z preparátu pouze světelné paprsky vznikající odrazem nebo rozptylem, studované objekty se jeví jako jasné obrazy na temném prostředí	a)
Mikroskop s fázovým kontrastem	Rozdílný lom světla, ke kterému dochází na rozhraní struktur, je přeměněn na rozdíl intenzity světla	b)
Interferenční mikroskop	Pracuje na principu interference dvou světelných paprsků, světlo ze zdroje je rozděleno dvojlomným hranolem na dva koherentní paprsky se shodnou fází kmitání (jeden prochází vzorkem, druhý je referenční)	c)
Polarizační mikroskop	Pomocí dvojlomného krystalu generuje v polarizátoru polarizované světlo (kmitá pouze v jedné rovině), následně pomocí analyzátoru detekuje a měří změny v polarizaci světla při průchodu preparátem	d)
Fluorescenční mikroskop	Využívá fluorescence (jev, kdy látka absorbuje světlo kratší vlnové délky a následně emituje světlo o delší vlnové délce, kterou vnímá lidské oko)	e)
Konfokální mikroskop	Zdrojem světla je laser	f)



n... index lomu  
 Θ... polovina vrcholového úhlu kužele paprsků vstupujících do objektivu