

O mikroskopech

Petr Sládek
Pedagogická fakulta MU

1. Úvod

V biologických i lékařských vědách sotva najdeme jinou přístrojovou metodu, která by zasáhla do jejich dějin tak významným způsobem jako mikroskopie. Lidské oko má rozlišovací schopnost jedné obloukové minuty, to znamená, že dokáže rozlišovat při pozorování z konvenční zrakové vzdálenosti (0,25 m) body, které jsou od sebe vzdáleny zhruba sedm setin milimetru. Objekty menších rozměrů jsou pro oko člověka neviditelné. Lépe řečeno, tyto objekty byly pro člověka neviditelné, dokud nebyl vynalezen přístroj, který nám je přiblížil.

Vědci, zabývající se molekulární biologii, potřebovali pozorovat buňku a fyzika jim k tomu svým způsobem hodně dopomohla sestrojením prvního mikroskopu – přístroje, který jim umožňoval pozorovat právě takto velmi malé předměty. Vynalezení mikroskopu v 17. století způsobilo, že jednotlivé buňky se staly pomocí výše uvedeného přístroje viditelnými. Mikroskopy od svého vynálezu do dnešní doby doznaly mnoha změn a jsou neustále zdokonalovány a vylepšovány. Sama vlastnost světla však určuje hranici jemnosti detailů, které lze pozorovat. Za tuto hranici se dostal až ve 30. letech 20. století elektronový mikroskop, který nahrazuje svazky světla v osvětlovacím zdroji svazkem elektronů a tak výrazně zvětšuje schopnost vidění jemných detailů buněk. Pozdější vynález transmisního elektronového mikroskopu nám umožnil uvidět viry a nejmenší živé organismy.

2. Z historie mikroskopů

První použitelný mikroskop zkonstruovali v roce 1590 Hans a Zacharias Jannsenové. Při jeho konstrukci použili jak konvexní (vypouklé), tak i konkávní (vyduté) čočky. Přestože o tomto vynálezu neexistuje příliš mnoho záznamů, můžeme se s ním setkat v dílech spisovatelů Pierre Borela (1620-1671) a Willema Borela (1591-1668). V roce 1609 byl vynález Jensenů vylepšen a to Galileem Galileim, který používal mikroskop k vědeckým účelům a nazval jej Occholino. Po Galileovi Galileim se mnoho vědců snažilo tento přístroj všemožně vylepšit a zdokonalit. V roce 1625 Cornelius Drebbel předvedl v Londýně

mikroskop, založený na dvou spojných čočkách, ale teprve Antony van Leeuwenhoek (1632-1723), holandský obchodník s látkami z Delfu, vylepšil tento přístroj natolik, že mohl detailně zkoumat strukturu vláken látek, které on sám prodával. Později začal pozorovat drobné organismy a jako první na světě uviděl a popsal krevní buňky.

Další zlepšení znamenala, že se mikroskop zařadil mezi významné přístroje tehdejší vědy. Přestože přínos mikroskopu byl velký, nebyl tehdejší mikroskop zdaleka tak dokonalý jako jsou mikroskopy dnešní. Přístroj byl pouze jednočočkový, což byla velká nevýhoda, která omezovala jeho možnosti použití.



Obr. 2 Van Leeuwenhoek (1632-1723) [1]

Ve třicátých letech 20. století dosáhl optický mikroskop své teoretické hranice. Ta je limitována 500násobným nebo 1000násobným (2000násobným) zvětšením a rozlišením 0,2 mikrometru. Vědce však zajímaly detaily buněk, stavba těl mikroorganismů, a proto chtěli proniknout ještě hlouběji do mikrosvěta. Jejich snahou bylo sestavit přístroj, který by jim to umožňoval. Tato velká touha po poznání dala později vznik prvnímu elektronovému mikroskopu, sestrojenému Maxem Knollem (1897-1969) a Ernestem Ruskou (1906-1988).

Elektronový mikroskop pracuje na poněkud jiném principu než mikroskop optický. Místo světelného paprsku je využito rychlého toku elektronů, místo skleněné čočky je použita magnetická čočka. Touto výměnou byla docílena rozlišovací schopnost mikroskopu až 0,1 nm. Přestože se může zdát, že tato cesta od optického mikroskopu k mikroskopu elektronovému byla přímá a snadná, opak je pravdou. K jeho sestrojení nestačila pouze jedna

geniální myšlenka ale pevná vůle a veliká ctížádost mnoha známých i neznámých badatelů a vědců. Jedním ze základních kamenů této mozaiky byl objev elektronu. Tato elementární částice byla popsána v roce 1897 J. J. Thompsonem. Objevení elektronu bylo v přímé souvislosti se studiem elektrických výbojů v Geisslerově trubici, známé již v polovině 19. století. Dalším neméně důležitým krokem byl poznatek, že letící částice mají korpuskulární i vlnový charakter. Tuto myšlenku publikoval v roce 1925 Luis de Broglie a později byla potvrzena Davissonem s Germerem a Thompsonem s Reidem.



Obr. 3 Ernst Ruska (1906-1988) [2]

První elektronový mikroskop byl zkonstruován v roce 1932 Knollem a Ruskou. V roce 1986 obdržel za tuto konstrukci Ernst Ruska Nobelovu cenu za fyziku. Tím se však vývoj mikroskopů nezastavil. Mnoho vědců se stále snažilo a snaží zdokonalovat tyto mikroskopy, užívat co nejlepší materiály a neustále experimentovat s novými součástkami. Mezi další velké objevy patří i řádkovací tunelový mikroskop, který byl vyvinut ve společnosti IBM v Curychu Gerdem Binnege a Heinrichem Rohrerem v roce 1981. Po pěti letech, tj. v roce 1986 jim byla udělena Nobelova cena za fyziku. Díky tomuto objevu mikroskopu můžeme snadno pozorovat jednotlivé molekuly a atomy různých druhů látek.

V roce 1986 Gerd Binnig a Cal Quate ze Stanfordské univerzity spolu s Christopherem Gerberem z IBM zkonstruovali nový typ mikroskopu, který je založen na principu měření Van der Waalsových sil.

Tímto výčtem není zdaleka ukončen přehled různých druhů mikroskopů. Rovněž vývoj mikroskopů není zdaleka ukončen. Každým dnem jsou objevovány nové postupy, různé technologie, široká škála materiálů, ze kterých můžeme při konstrukci mikroskopů vycházet [1, 3].

3. Stavba mikroskopu

Mikroskop je přístroj, který nám přibližuje strukturu mikrosvěta a bez kterého se dnes neobejde žádná moderní laboratoř. Všimněme si nyní složení mikroskopu. Starší konstrukce používaly tělo mikroskopu ve tvaru písmene C, protože hrot bylo třeba umístit přímo proti vzorku. Novější konstrukce používají spíše provedení stolečku, na který se pokládá měřicí hlava. Původně byly moderní mikroskopy konstruovány pouze pro práci ve vakuu, dnes však pracují především v běžném prostředí – na vzduchu, pokud to není na závadu zkoumaným vzorkům. Mikroskopy, které pracují ve vakuu jsou poněkud složitější svojí konstrukcí, jelikož je nutné zajistit výměnu vzorku v evakuovaném prostoru, což s sebou nese nutnost stavby „podavače“, který je vzhledem ke své délce náchylný k vibracím. Na základním optickém mikroskopu rozeznáváme tři hlavní části. Jde o část mechanickou, optickou a osvětlovací.

3.1 Část mechanická

Část mechanická zahrnuje v sobě stativ, tubus, stolek a revolverovou hlavicí s osvětlovacím zařízením. Stativ představuje pevnou oporu mikroskopu. Většinou má tvar podkovy a je velmi masivní, aby poskytl mikroskopu dostatečnou oporu. Stativ je spojen sloupkem s nosičem tubusu a se stolem. Nosič nese tubus s optickou částí mikroskopu, stolek a osvětlovací zařízení. V horní části tubusu je zasunut zvětšovací okulár. Ve spodní části tubusu je revolverová otáčecí hlavice, do níž jsou zašroubovány patřičné objektivy. Střídání objektivů zajišťujeme pomocí otáčení revolverového zařízení. V praktickém měření se používají nejčastěji dva druhy mikroskopů. Jedná se o starší mikroskop monokulární a novější mikroskop binokulární. Rozdíl mezi oběma mikroskopy spočívá především v tom, že tubus monokulárního mikroskopu obsahuje pouze jeden okulár, zatímco tubus binokulárního mikroskopu obsahuje okuláry dva. S tím také souvisí další rozdíl ve stavbě obou mikroskopů. Tubus monokulárního mikroskopu je posunován vůči nosiči dvěma šrouby, makrometrickým a mikrometrickým. Makrometrický šroub slouží k hrubému posunu a k hrubému zaostření preparátu, šroub mikrometrický slouží k posuvu jemnému a k přesnému zaostření pozorovaného vzorku. Pokud budeme otáčet šrouby k sobě, pak dochází k posuvu nahoru. U

mikroskopu binokulárního je makrošroub i mikrošroub umístěn v jedné ose na nosiči tubusu pod úrovní stolku.



<i>1 tubus</i>	<i>2 okulár</i>	<i>3 binokulární zařízení</i>
<i>4 rameno stativu</i>	<i>5 objektivy</i>	<i>6 stolek s pružinami</i>
<i>7 místo pro umístění vzorku</i>	<i>8 kondenzor</i>	
<i>9 osvětlovací zrcátko</i>	<i>10 noha stativu</i>	
<i>M zaostřovací makrošroub</i>	<i>m zaostřovací mikrošroub</i>	

Obr. 4 Optický mikroskop [4]

Preparát se pokládá na pracovní stolek, v jehož středu je okrouhlý otvor, který umožňuje prozáření preparátu. Po stranách otvoru je úchytné zařízení, které zajišťuje bezpečně preparát proti posunu. Stolky monokuláru jsou většinou pevné, nebo se mohou posouvat pomocí dvou šroubů, směřujících od obvodu stolku do jeho středu ve dvou na sebe

kolmých směrech. U binokuláru se nachází tzv. křížový stolek, jehož horní deska je pohyblivá ve dvou na sebe kolmých směrech pomocí šroubu vpravo na okraji stolku.

3.2 Optická část

Optická část je složena ze dvou systémů čoček. Jedná se o sadu objektivů a okulárů, které mají za úkol zvětšit pozorovaný objekt. Objektiv je tvořen systémem čoček, které jsou zašroubované v revolverovém zařízení mikroskopu. Objektiv takto promítá pozorovaný předmět.

Objektivy můžeme rozdělit podle prostředí, které se nachází mezi objektivem a pozorovaným preparátem. U objektivu suchého je mezi objektivem a vzorkem vzduch, zatímco u objektivu imerzního je mezi objektivem a vzorkem olej, popř. voda.

Okuláry bývají doplněny o písmena a čísla, která určují typ daného okuláru a tím i jeho optické vlastnosti. Tyto popisky pak můžeme najít i na objektivu a vypovídají o jedné z nejdůležitějších vlastností mikroskopu, tj. o zvětšení. Významným číselným údajem je numerická apertura, která určuje rozlišovací schopnost objektivu, užité zvětšení, světelnost objektivu a také hloubku obrazu, neboli penetrační schopnost objektivu. Stručně řečeno platí, že čím je numerická apertura větší, tím má objektiv vyšší rozlišovací schopnost. Numerická apertura většinou nepřekračuje číselnou hodnotu „1“. Výjimku tvoří právě imerzní objektivy, které mají numerickou aperturu vyšší. Celkové zvětšení zjistíme jako součin zvětšení okuláru, objektivu a popřípadě binokulární hlavičky.

3.3 Osvětlovací část

Osvětlovací část světelného mikroskopu se skládá ze světelného zdroje, kondenzoru, zrcátka, filtrů a irisové clony. Světelným zdrojem může být denní světlo (ne však přímé sluneční osvětlení), nebo světlo uměle získané ze svítící žárovky či výbojky. Mnoho moderních mikroskopů má osvětlovací zařízení zabudováno přímo v těle zařízení. Starší mikroskopy užívají zabudované zrcátko, které odráží umělé nebo přirozené světlo do optické soustavy mikroskopu. Jedna plocha zrcátka je rovná, ta slouží pro malá zvětšení, druhá je konkávní a využívá se pro zvětšení větší. Kondenzor je většinou uložen pod stolkem mikroskopu a jde o soustavu čoček o krátké ohniskové vzdálenosti, které soustředí světlo procházející pozorovaným preparátem a optickou částí mikroskopu. Součástí kondenzoru je irisová clona, která umožňuje regulovat šířku procházejícího svazku paprsků, jednoduše řečeno, ovlivňovat kontrast obrazu pozorovaného preparátu. Součástí kondenzoru je také

objímka sloužící pro ukládání barevných filtrů. Filtr bývá nejčastěji vyroben z modrého skla a užívá se především při umělém světle. Jeho funkce souvisí s potřebou eliminovat červenou složku světla žárovky, která má dráždivý účinek na lidské oko.

U některých mikroskopů může chybět zrcátko a osvětlovací lampa. Tyto mikroskopy jsou proto vybaveny tzv. Šiklovou lampou, tzn. že umělé světlo žárovky prochází sběrnou čočkou lampy a mléčným filtrem směrem k zrcátku mikroskopu. U mikroskopů binokulárních se vestavěné osvětlovací zařízení nachází přímo ve stativu a představuje objímku, žárovku a hranol. [4, 5]

4. Princip práce mikroskopu

Základními částmi optického mikroskopu jsou soustavy dvou čoček – objektiv a okulár. Obě tyto čočky mají kladnou optickou mohutnost, proto je v prvním přiblížení můžeme nahradit spojkami. Objektiv je tudíž spojná čočka s malou ohniskovou vzdáleností. Obraz vytvořený objektivem je skutečný, zvětšený a převrácený a je pozorován okulem, který pracuje na stejném principu jako lupa. Takto vytvořený obraz je neskutečný, převrácený a zvětšený. Pro celkové zvětšení Z mikroskopu platí :

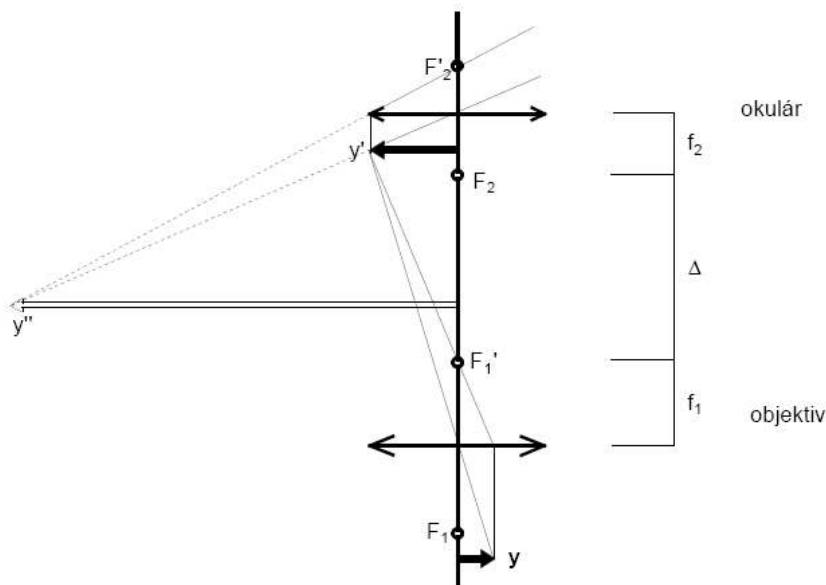
$$Z = Z_{ob} \cdot Z_{ok} = \frac{\Delta \cdot d}{f_{ok} \cdot f_{ob}}$$

kde:

d konvenční zraková vzdálenost (0,25 m)

f_{ok} ohnisková vzdálenost okuláru

f_{ob} ohnisková vzdálenost objektivu



F ohniska, F' ohniska, f ohniskové vzdálenosti

y předmět, y' skutečný obraz předmětu vytvořený objektivem

y'' neskutečný obraz pozorovaný v okuláru

Δ optický interval mikroskopu

Obr. 5 Schéma optické soustavy mikroskopu

Mohlo by se zdát, že vhodnou kombinací spojných čoček dostaneme téměř neomezená zvětšení. Tato zvětšení by nám však neumožňovala rozlišit detaily pozorovaných předmětů. Je to dáno především rozlišovací mezí mikroskopu. Výpočty týkající se rozlišovací meze mikroskopu provedl a uplatnil Ernst Karl Abbe (1840-1905).

Pro rozlišovací schopnost mikroskopu platí:

$$\delta = \frac{\lambda}{n \cdot \sin(\alpha)}$$

kde:

δ mřížková konstanta (jde o vzdálenost dvou vrypů mřížky, prakticky o vzdálenost dvou ještě rozlišitelných bodů)

λ vlnová délka použitého světla

n index lomu prostředí mezi čelem objektivu a krycím sklíčkem preparátu

α úhel sevřený optickou osou mikroskopu a pláštěm kužele, v němž se nacházejí paprsky, které z daného místa preparátu mohou vystoupit a podílet se na zobrazení.

5. Druhy mikroskopů

V předešlé kapitole jsme se zabývali stavbou mikroskopu, nyní si něco řekneme o různých druzích mikroskopů. Mikroskopy se dělí především podle toho, zda využívají pro zobrazování předmětů urychlených elektronových svazků, nebo zda užívají viditelného či ultrafialového světla.

Dělení mikroskopů:

1. optické mikroskopy:

- monokulární mikroskopy
- binokulární mikroskopy
- binokulární stereomikroskopy
- invertované mikroskopy
- přímé mikroskopy

2. fluorescenční mikroskopy

3. elektronové mikroskopy:

- transmisní mikroskopy
- rastrovací mikroskopy

4. řádkovací tunelové mikroskopy

5. mikroskopy atomárních sil

6. akustické mikroskopy

7. polarizační mikroskopy

5.1 Optický mikroskop

Optický mikroskop se skládá z objektivu, který vytváří převrácený obraz objektu a okuláru – pomocí něj obraz pozorujeme. Součástí mikroskopu je i zdroj světla s kondenzorem. Optických mikroskopů je celá řada a liší se především detaily ve stavbě, či ve způsobu přípravy použití preparátů.

5.1.1 Monokulární mikroskop

Monokulární mikroskopy jsou zkonstruovány pro pozorování jedním okem. Jde o mikroskopy starší výroby, které dnes spíše můžeme vidět v našich školách.

Binokulární mikroskop

Binokulární mikroskopy slouží pro pozorování oběma očima. Užívají se především v laboratořích, slouží také k vědeckým a badatelským účelům. Maximální zvětšení je kolem

1000násobku. Většina těchto mikroskopů je navíc vybavena různými speciálními zařízeními, která umožňují náročná mikroskopická pozorování.

5.1.2 Binokulární stereomikroskop

Binokulárním stereomikroskopům se také říká stereolupy. Těchto přístrojů je využíváno především pro pozorování větších objektů, u kterých se vyžaduje prostorové vidění. Dosahují zvětšení asi 300násobku. Daný objekt je osvětlován jednak zespodu, z boku a shora lampičkou. [6]

5.1.3 Mikroskop invertovaný

Mikroskop invertovaný se užívá především pro zvětšení průhledných vzorků, které neabsorbují světlo. Vzorek je osvětlen shora. Jeho výhodou je, že nad vzorkem je dostatečně velký prostor, ve kterém je možno umístit řadu snímacích elektrod a aplikačních trubiček.

5.1.4 Přímý mikroskop

Přímých mikroskopů využíváme především u vzorků neprůhledných. Tyto vzorky však lze pozorovat pomocí přímého mikroskopu v dopadajícím světle a bývají osvětlovány především shora, pozorovány jsou přes imerzní objektiv tzn. mezi okulem a vzorkem není vzduch, ale čirá kapalina. Světlo prakticky prochází od buněk až k objektivu, dále přes prostředí o téměř stejném indexu lomu. Proto zde nevzniká odraz a lom. Tímto způsobem se zvýší numerická apertura objektivu mikroskopu i rozlišovací schopnost mikroskopu. Oproti předchozím typům mikroskopů je zde však značná nevýhoda v tom, že mezi objektivem a vzorkem je velmi malý pracovní prostor.

5.2 Fluorescenční mikroskop

Fluorescence je fyzikální jev, kdy daná látka absorbuje světlo úzké spektrální oblasti a okamžitě emituje světlo v jiné spektrální oblasti. Tato emise světla zanikne ihned po ukončení ozařování dané látky. Fluorescenční mikroskopy tedy využívají schopnosti některých látek emitovat viditelné světlo po ozáření světlem ultrafialovým i viditelným. Rozdíl mezi fluorescenčním a optickým mikroskopem spočívá ve dvou základních bodech:

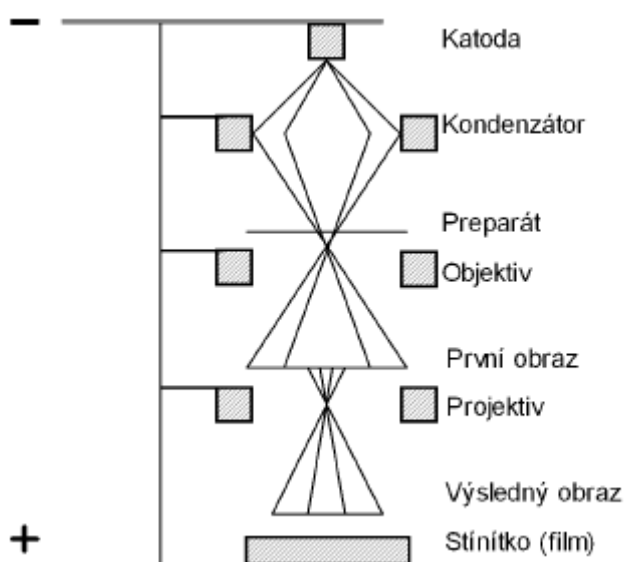
1. Kondenzor fluorescenčního mikroskopu je přizpůsoben průchodu ultrafialového světla.
2. Fluorescenční mikroskopy užívají přídavné ochranné filtry, které mají chránit lidský zrak před zbytkovým UV zářením. [7]

5.3 Elektronový mikroskop

Elektronový mikroskop využívá k zobrazení předmětů vlnových vlastností elektronu. Elektron se chová podobně jako světlo, ale jeho vlnová délka je výrazně kratší. Díky tomu můžeme sledovat menší předměty než za pomoci světla. Rozlišujeme dva základní druhy elektronových mikroskopů:

5.3.1 Transmisní mikroskop

Obraz u transmisního mikroskopu se vytváří pomocí proudu svazku elektronů, které projdou daným vzorkem. Zdrojem proudu elektronů je kovová katoda (v tomto případě tzv. elektronové dělo), která po rozžhavení vysílá elektrony urychlované elektrickým polem o napětí 50 až 200 kV. Proud elektronů prochází elektronovou čočkou, která je tvořena elektrickým polem kondenzátoru nebo magnetickým polem cívky. Tato elektronová čočka soustřeďuje elektrony na pozorovaný preparát. Poté prochází proud elektronů další elektronovou čočkou a vytváří první elektronový obraz. Část tohoto obrazu se elektronovou čočkou – projektilem zvětší a výsledný obraz se promítne na stínítko pokryté vrstvou luminoforu, nebo se zachytí na fotografické desce či filmu. Veškeré součásti mikroskopu musí být uloženy v nádobě, z níž je vyčerpán vzduch a to proto, aby se nezeslaboval proud elektronů. Také pozorované vzorky musí být velice tenké.

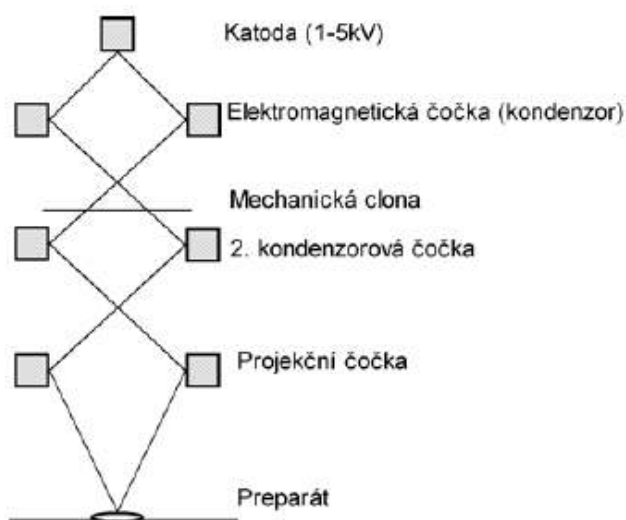


Obr. 6 Transmisní elektronový mikroskop [8]

5.3.2 Rastrovací mikroskop

V rastrovacím mikroskopu je velmi tenký paprsek elektronů nucen vychylovacím zařízením přejíždět povrch daného preparátu. Dopadající elektrony se rozptylují do okolí,

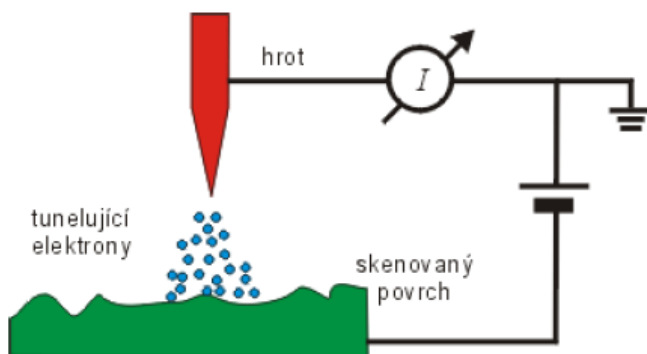
mohou také vyřážet elektrony z povrchu preparátu. Vlastní detekce probíhá pomocí senzorů citlivých na elektrony a signál se převádí na obrazovku počítače.



Obr. 7 Rastrovací mikroskop [8]

5.4 Řádkovací tunelové mikroskopy

Dalším významným objevem ve světě mikroskopů bylo vynalezení řádkovacího tunelového mikroskopu, jež pracuje na relativně jednoduchém principu. Řádkovací tunelový mikroskop byl vyvinut Gerdem Binnehem a Heinrichem Rohrerem v roce 1981 v IBM v Curychu. Za tento objev dostali jeho tvůrci v roce 1986 Nobelovu cenu. Zařízení mapuje povrch pomocí pohybu vodivého hrotu nad vodivým povrchem sledovaného materiálu. Počet elektronů které projdou mezi vzorkem a hrotem je dán kvantovým tunelovým jevem a exponenciálně roste se zmenšující se vzdáleností od povrchu. Nerovnosti povrchu mají za následek enormní nárůst proudu v elektrickém obvodu. Signál je počítačově zpracován do výsledného obrázku povrchu materiálu.

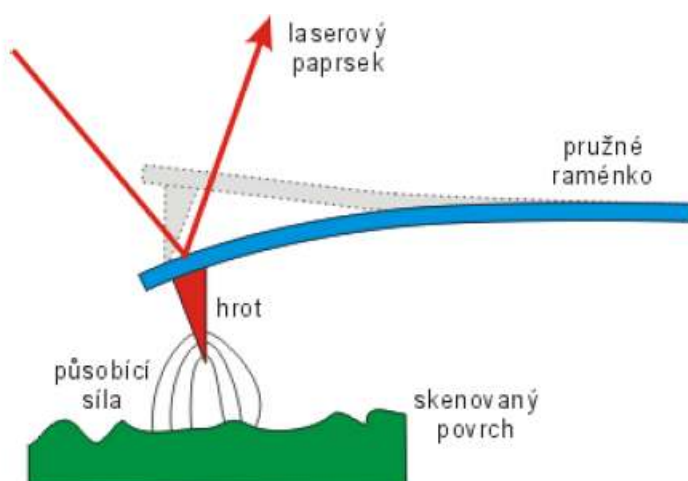


Obr. 8 Řádkovací tunelový mikroskop [9]

5.5 Mikroskop atomárních sil

Další objev v oblasti mikroskopie učinili v roce 1986 Gerd Binnig a Cal Quate ze Stanfordské univerzity spolu s Christopherem Gerberem z IBM a zkonstruovali nový typ mikroskopu. V tomto zařízení je nejdůležitější součástí hrot zavěšený na pružném raménku. Hrot skenuje povrch materiálu, jež je pod ním umístěn. Hrot je přitahován elektrostatickými a Van der Waalsovými silami (síly, které působí mezi částicemi v každé látce). Výkyvy raménka jsou sledovány laserem.

Mikroskop atomárních sil má daleko větší užití než mikroskop řádkovací, jelikož není omezen pouze na vodivé materiály. Nevýhodou tohoto mikroskopu je skutečnost, že mohou být skenovány pouze vzorky malých rozměrů. V roce 1994 byla zkonstruována nová varianta tohoto mikroskopu, kdy pružné raménko je rozkmitáno harmonickou silou na vlastní frekvenci raménka a jeho vyšších harmonických frekvencích. Měření je fázový posuv kmitání způsobený atomárními silami. Právě touto technologií bylo v roce 2004 dosaženo zatím největšího rozlišení 77 pikometrů (77×10^{-12} m). V tomto rozlišení je možné rozeznat struktury uvnitř jednotlivých atomů.



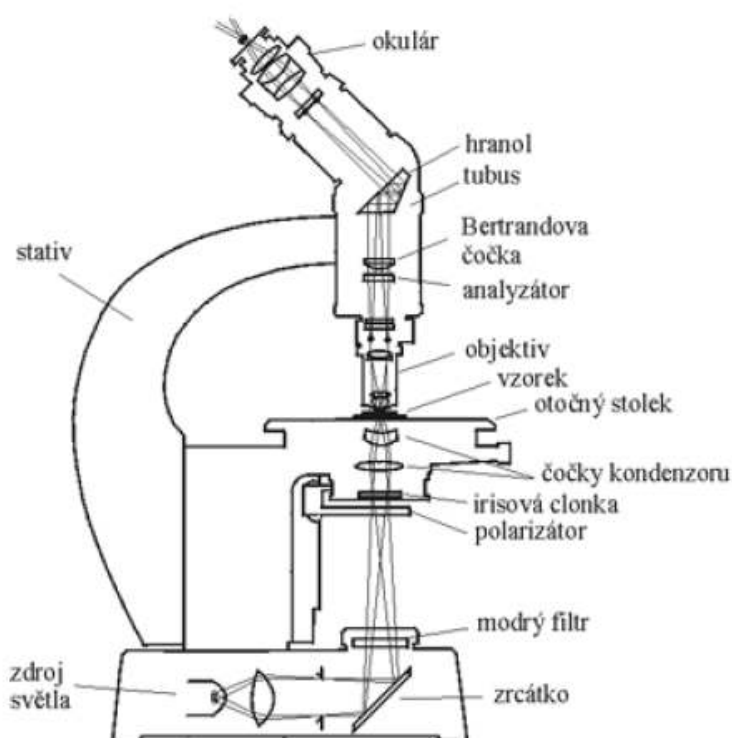
Obr. 9 Mikroskop atomárních sil [9]

5.6 Akustický mikroskop

S akustickými mikroskopy se můžeme setkat v některých biomedicínky orientovaných laboratořích. Tyto mikroskopy využívají ke svému zobrazení akustických kmitů o extrémně vysoké frekvenci (např. vlnová délka ultrazvuku o frekvenci 1.55 GHz). Akustické mikroskopy se využívají především ke zjištění mechanických vlastností prostředí, k analýze pojivových tkání, rovněž ke kontrole jakosti elektronických čipů. [10]

5.7 Polarizační mikroskop

Polarizační mikroskop je oproti mikroskopu optickému vybaven polarizačním zařízením umožňujícím studovat i takové vlastnosti zkoumaných látek, které v obyčejném světle nejsou patrné. Nejdůležitější součástí polarizačního mikroskopu je polarizační zařízení, sestávající z polarizátoru a analyzátoru. Toto zařízení je umístěno v tubusu mikroskopu a lze ho libovolně vysunovat či úplně odstranit z mikroskopu. V praxi rozlišujeme především dva druhy polarizačních mikroskopů: s vysunutým nebo zasunutým analyzátozem. Další stavba je velmi podobná se stavbou mikroskopu optického.



Obr. 10 Polarizační mikroskop [11]

6. Využití mikroskopů

Mikroskop je přístroj, kterým můžeme pozorovat velmi malé předměty a jejich strukturu. Jeho využití je velmi široké. Především jej užíváme tam, kde nám k pozorování nestačí pouhé lidské oko a dané předměty jsou velmi malé.

Optický mikroskop se využívá například v laboratořích molekulární biologie, v materiálovém inženýrství, při analýze papíru. Využívá se rovněž pro posuzování keramických dlaždic, kde se sleduje jejich glazura. U dřevin můžeme pomocí optického mikroskopu určit a posoudit jejich druhy. Výhodou optické mikroskopie je především její jednoduchost a

možnost použít vzorky bez větší předchozí přípravy. Také informace získávané touto metodou se snadno uchovají. Dnes k tomu používáme především paměťové disky, textové a datové soubory, videa apod.

Příklady látek k mikroskopickému rozboru:

- Med :

Mikroskopickým zkoumáním medu lze určit podle velikosti a tvaru pylových zrn jeho druh. Můžeme určit, zda se jedná o med jarní, letní nebo podzimní a dokonce lze stanovit i geografický původ medu. Tyto informace jsou pro nás velmi důležité, využívají se například pro dokazování úmyslné deklarace medu jiného původu. Mikroskopická analýza také dokáže odhalit med zkažený, nebo napadený plísní. [12]

- Káva

Mikroskopickým rozbořem určujeme pravost kávy a náhražky kávových zrn, kterými jsou především fíky, čekanka, řepa a pampeliška. [12]

- Koření

Při rozboru koření se zaměřujeme na tvar a velikost jeho buněk, sledujeme strukturu listů, průduchů a velikost pylových zrn. Tímto rozbořem dokážeme odhalit botanický druh koření, rozlišit koření kvalitní a nekvalitní, potvrdit či vyvrátit podezření z příměsí, které do koření nepatří. [12]

Různé druhy mikroskopů se používají také v lékařství. Je třeba se zmínit především o mikroskopech, které se odborně nazývají stereomikroskopy. Jde o dva mikroskopy se samostatnými objektivy a okuláry, jejichž optické osy spolu svírají určitý úhel. Tyto mikroskopy nám umožňují stereoskopické vidění, které se využívá především v mikrochirurgii. Stereomikroskopy mohou plynule měnit ohniskové vzdálenosti objektivu – dochází ke zvětšení určitých vybraných částí. [10]

7. Mikroskopy ve výuce fyziky

Témata zabývající se mikroskopem můžeme v menší míře najít i na základní a střední škole. Na základní škole se setkáváme pouze s kapitolami popisujícími mikroskopy v tematickém celku nazvaném Optika. Rovněž je dobré připomenout pokus ukázaný v šestém ročníku, kdy žáci pomocí mikroskopu pozorují Brownův pohyb.

Na střední škole jsou mikroskopy stejně jako na základní škole zařazeny do kapitoly zabývající se zobrazováním optickými soustavami.

Pokud ale nemáme žádný mikroskop k dispozici je v našich domácích podmínkách možné zkonstruovat tak složitý přístroj jako je mikroskop?

7.1 Čočka z kapky vody

K sestrojení budeme potřebovat kancelářskou svorku, kleště a vodu. V této fázi ještě ani nejde o mikroskop, jen o konstrukci čočky, která nám přiblíží věci, které na první pohled těžko rozeznáváme.

Postup:

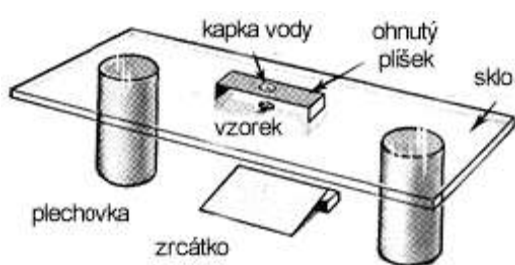
Kancelářskou svorku pomocí kleští ohneme do smyčky, jejíž průměr by měl být kolem 1,5 mm a tvar smyčky by se měl co nejvíce podobat kruhu. Musíme dbát na to, abychom svorku moc nepoškrábali. Poté smyčku přetřeme kapkou oleje, aby se na ní vytvořil jemný povlak. Pak ji ponoříme do vody a pomalu ji vytáhneme ven. Kapka, která se na smyčce vytvoří by nyní měla sloužit jako čočka a zvětšovat přibližně dvojnásobně. Pokud se nám tento pokus nepodařil napoprvé, může být příčinou poškrábaná svorka, nebo svorka málo potřená olejem.

7.2 Malý mikroskop

Nyní si popíšeme konstrukci malého mikroskopu, který si můžeme udělat sami doma. Potřebujeme: plechový pásek o velikosti 10 cm x 2,5 cm, sádlo nebo olej, zrcátko, kousek skla, smirkový papír, malý hmyz nebo zrnko písku a kapátko.

Postup:

Uprostřed plechového pásku vyvrtáme díрку o průměru asi 2,5 mm. Její hrany musíme dobře zbrousit smirkovým papírem. Konce pásku ohneme dolů, abychom dostali malý stoleček. Díрку, kterou jsme vyvrtali přetřeme sádlem nebo olejem a pomocí kapátka na ni přeneseme kapku vody. Poté celý stoleček přeneseme na připravené sklo viz. obr. 20.



Obr. 20 Konstrukce malého mikroskopu [13]

Pod sklo dáme malé zrcátko tak, aby se světlo z něho odráželo nahoru skrz čočku. Předmět, který máme připravený ke zkoumání dáme pod čočku a jemným zatlačením na plíšek zaostřujeme. [13]

Touto jednoduchou konstrukcí lze velmi snadno upoutat pozornost žáků. Tuto hodinu můžeme také zpestřit různými zajímavostmi o mikroskopech a tím docílit u žáků projevení zájmu o tuto problematiku. Můžeme-li tematicke mikroskopů věnovat více času, je vhodné žákům mikroskop donést a postupně s ním žáky seznámit. Jestliže nemáme dostupný mikroskop můžeme s žáky navštívit některou z fyzikálních či lékařských laboratoří. V Brně jsou některé typy mikroskopů vystaveny v Technickém muzeu.

Reference

- [1] [Leeuwenhoek [online], poslední revize 28. 3. 2005 [cit. 28. 7. 2004]. Dostupný z WWW: http://neon.chemistry.ox.ac.uk/icl/heyess/structure_of_solids/Lecture1/leeuwenhoek.jpg
- [2] *Visual Archives* [online], poslední revize 28. 3. 2005 [cit. 11. 3. 2005]. Dostupný z WWW: <http://aip.org/history/esva/>.
- [3] *Mikroskopy* [online], poslední revize 29. 11. 2002 [cit. 28. 7. 2004]. Dostupný z WWW: <http://www2.biomed.cas.cz/d331/vade/mikroskopy.html>.
- [4] *Světelný mikroskop* [online], poslední revize 17. 3. 2003 [cit. 23. 11. 2004]. Dostupný z WWW: <http://www.mendelu.cz/af/fyziologie/mikprep/mikroskop.html>.
- [5] JURČÁK J. Základní praktikum z botanické mikrotechniky a rostlinné anatomie. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého 1998. 104 s. ISBN 80-7067-843-7.
- [6] KLUIBER Z., a kol. *Moderní směry ve fyzice*. 1. vyd. Praha: ARSCI 2003. 301s. ISBN 80-86078-28-0.
- [7] *Fluorescenční mikroskopy* [online], poslední revize 28. 3. 2005 [cit. 26. 12. 2004]. Dostupný z WWW: <http://www.mikroskopy.cz/fluoresc/strana3.asp#1>.
- [8] *Elektronová mikroskopie transmisní a rastrovací* [online], poslední revize 21. 3. 2000 [cit. 26. 12. 2004]. Dostupný z WWW: <http://www.mujweb.cz/www/frenky/mikro.htm>.
- [9] *Pikoškály aneb jak uvidět atom* [online], poslední revize 5.7.2004 [cit. 17.11.2004]. Dostupný z WWW: http://www.aldebaran.cz/bulletin/2004_27_pic.html.
- [10] HRAZDIRA I., MORNSTEIN V., LECHNER J. Biofyzikální principy lékařské přístrojové techniky, 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita 1999. 148str. ISBN 80-210-2213-2.
- [11] *Polarizační mikroskop* [online], poslední revize srpen 2003 [cit. 17. 11. 2004]. Dostupný z WWW: http://www.museum.mineral.cz/mineraly/ucebnice/obecna_min/o_5331.php#.
- [12] *Optická mikroskopie a obrazová analýza* [online], poslední revize 15.9.2004 [cit. 11. 1. 2005]. Dostupný z WWW: <http://www.cs.mfcr.cz/ctl/cz/bulletin2000/16.htm>.
- [13] *Microscopy and Microanalysis* [online], poslední revize 28. 3. 2005 [cit. 5. 3. 2005]. Dostupný z WWW: <http://www.amc.anl.gov/>.
- [14] LIŠKOVÁ L.: Diplomová práce, PdF MU Brno 2005.