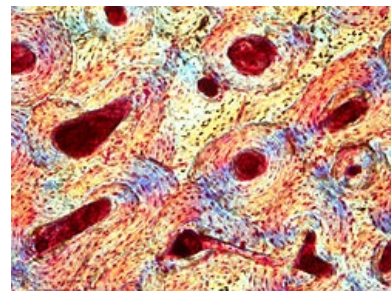


Interferenční mikroskopie

Interferenční mikroskopie je **zobrazovací metoda světelné mikroskopie**, která slouží zejména ke zvyšování kontrastu při pozorování průhledných nebo bezbarvých fázových objektů (za normální situace nekontrastní, ve světelném mikroskopu tedy prakticky neviditelné, nebo jen velmi špatně viditelné struktury). Za stejným účelem se používají také mikroskopy pracující na základě metod fázově-kontrastních, ale v současné době převládá z důvodu vyšší účinnosti používání postupů interferenční mikroskopie, přestože se jedná o metodu mnohem složitější a na technické vybavení přístroje náročnější. Velmi spolehlivé informace podává např. o povrchu pozorovaných objektů, zejména díky vysoké rozlišovací schopnosti při studiu nerovností povrchů ve směru optické osy mikroskopu.

Interferenční mikroskop

Interferenční mikroskop je přístroj, který v sobě kombinuje **světelný mikroskop** a některý typ **interferometru** (přístroj měřící na základě interference záření různé fyzikální veličiny, zejména délku). Využívá se v něm dvoupaprskové interference, vícepaprskové interference, případně již výše zmíněné metody interferenčního fázového kontrastu. Hlavní výhodou vícepaprskových interferenčních mikroskopů oproti mikroskopům pracujícím na principu metod fázového kontrastu je potlačení tzv. halo jevu, který pozorování značně znepráhňuje. To umožňuje jejich používání k pozorování relativně tlustých preparátů. V metalografii se nejvíce uplatňuje dvoupaprskový interferenční mikroskop. Nezbytnou součástí přístroje je např. Wollastonův nebo Normanského hranol. Wollastonův hranol se skládá ze dvou klínů dvojlomného islandského vápence slepených kanadským balzámem v subtraktivní poloze. Jejich optická osa leží kolmo na směr dopadajícího světla, které musí předtím, než tuto optickou osu protne, prostoupit polarizátorem.



Příčný výbrus kostí v interferenčním kontrastu (300x zvětšeno ve formátu A3). Zpracováno na Referenčním pracovišti optické mikroskopie firmy Olympus C&S s.r.o. se sídlem na Biologickém ústavu LF UK v Plzni.

Princip interferenční mikroskopie

V mikroskopech s dvoupaprskovou interferencí je paprsek přicházející k preparátu rozdělen např. Wollastonovým hranolem na dva koherentní svazky světelných paprsků. Jeden z nich prochází preparátem, druhý probíhá mimo něj. Oba paprsky se spolu po proběhnutí rozdílných optických drah znovu spojují a navzájem interferují. Průchod paprsku fázovým objektem (preparátem) vyvolá mezi oběma svazky **rozdíl fáze** (ten je tedy vyvolán strukturou preparátu), v důsledku čehož nastane ve spojeném svazku paprsků interference světelných vln. Ta má za následek změny v amplitudě vlnění, které způsobí kontrasty. Původně průhledný pozorovaný preparát (fázový objekt) je tak zviditelněn. To, že optická dráha závisí jednak na dráze geometrické a jednak na indexu lomu prostředí, kterým světelný paprsek prochází, umožňuje použitím interferenční mikroskopie zkoumat a měřit:

1. **Rozdíl v geometrické dráze** za předpokladu, že obě části rozštěpeného paprsku procházejí stejným prostředím, tj. prostředím o stejném indexu lomu.
2. **Rozdíl v hodnotách indexů lomu** jednotlivých prostředí, jestliže je geometrická dráha obou paprsků stejná.

Aplikace interferenční mikroskopie

Jedná se o metodu velmi užitečnou při studiu topografie povrchu a při kvantitativním hodnocení povrchového reliéfu. Principem této techniky je hodnocení **interference mezi paprskem odraženým od zvoleného povrchu srovnávacího a povrchu zkoumaného**. Dále spadá mezi diagnostické postupy v mikrobiologii a patologii, například je interferenční mikroskopie využíváno pro zviditelnění živých buněk a jejich součástí (případně jiných průhledných, nebarevných vzorků běžně jen obtížně pozorovatelných). Metoda interferenční mikroskopie nachází uplatnění také při filmovém snímání, např. dělících se a pohybujících se buněk, a užívá se jí i při dodatečném zvýšení kontrastu u slabě zbarvených tkáňových řezů.

Odkazy

Související články

- Fázová mikroskopie
- Inverzní mikroskop
- Polarizační mikroskopie

- Fluorescenční mikroskop
- Konfokální mikroskop

Použitá literatura

- NAVRÁTIL, Leoš a Jozef ROSINA, et al. *Medicínská biofyzika*. 1. vydání. Praha : Grada, 2005. 524 s. ISBN 80-247-1152-4.

Zdroj

- Optoteam, s.r.o.. *Základní metody světelné mikroskopie* [online] . Brno : Nikon, 2004. 66 s. Dostupné také z <http://www.are.cz/documents/ZAKLADNI_METODY_SVETELNE_MIKROSKOPIE.pdf>.
- PLACHÝ, Radek. *Interferenční mikroskopie* [online]. [cit. 2015-11-29]. <<http://biologie.upol.cz/mikroskopie/interferencni%20mikroskopie.htm>>.
- <http://www.mtfdca.szm.com/subory/defektoskopia2.pdf>