

Mikroskopie pro procházející světlo

Princip

Mikroskopie pro procházející světlo je založena na tzv. **diaskopickém osvětlení**, což znamená, že pozorovaný objekt je umístěn *mezi* světelný zdroj a objektiv. Světlo jím tak musí před vstupem do optické soustavy objektivu projít; podmínkou je tedy (alespoň částečná) **průhlednost** preparátu. V praxi to znamená, že vzorek prosvěcujeme proti směru pozorování (srovnání viz mikroskopie pro dopadající světlo).

Pozorování v procházejícím světle můžeme dělit na **pozorování ve světlém poli** a **pozorování v tmavém poli**.

Světlé pole

Pozorování ve světlém poli je nejjednodušší (a nejstarší) technikou světelné mikroskopie. Osvětlení je zajišťováno bílým světlem, kužel paprsků prochází vzorkem a vstupuje do objektivu. Jeho nevýhodou je *nízký kontrast* při pozorování většiny biologických vzorků (protože jen málo z nich výrazněji absorbuje světlo), a proto je často nutné použití různých **barvicích technik**. Naopak výhodou spočívá v již zmíněné jednoduchosti, a proto je tato metoda velmi oblíbená.

Kromě již zmíněného barvení se pro zvýšení kontrastu využívá:

- **šikmé osvětlení** – osa osvětlení svírá ostrý úhel s optickou osou mikroskopu, pozorované objekty se vlivem asymetrického zastínění jeví plasticky;
- **fázový kontrast** – metoda, která převádí fázový posun světla po průchodu vzorkem v amplitudovou modulaci (a tedy rozdíl v intenzitě pozorovaného světla), využívá **interference světla** (viz interferenční mikroskopie);
- **Hoffmanův modulační kontrast** je rozšířenou metodou používanou např. při fertilizaci *in vitro*; je založen na pozorování fázových objektů při šikmém osvětlení;
- **polarizované světlo** – viz polarizační mikroskopie.

Tmavé pole (zástin)

Při pozorování v tmavém poli nedopadá světlo procházející rovinou vzorku přímo do objektivu, a proto je zorné pole tmavé. Toho lze docílit **zastíněním** výstupní čočky kondenzoru clonou pro tmavé pole (popřípadě volbou speciálního kondenzoru určeného pro tento druh pozorování), která odstíní centrální část světelného kužele a ponechá jen vnější prstenec paprsků. Většina z nich projde vzorkem přímo, ale **nevstoupí** do pupily objektivu, poněvadž ji jednoduše minou. Část světla se však při průchodu vzorkem **rozptýlí**, projde objektivem a vytváří obraz. Největší nevýhoda této techniky tkví v tom, že pro tvorbu obrazu je využita jen malá část světelné intenzity zdroje, který proto musí mít dostatečně vysoký výkon. Výhodou je významné **zvýšení kontrastu** obrazu (oproti světlému poli) a opět relativní jednoduchost.

Rheinbergovo osvětlení je zvláštní metodou pozorování v tmavém poli. Před kondenzor se vloží průhledný barevný filtr složený ze dvou částí odlišné barvy – centrálního terčíku a vnějšího prstence. Tím získá pozadí barvu terčíku a obraz, tvořený světlem rozptýleným strukturou vzorku, barvu prstence.

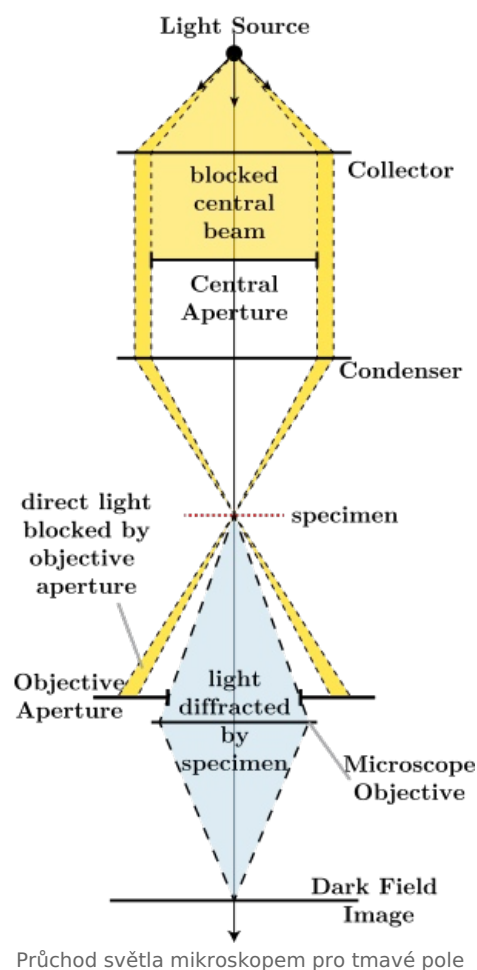
Odkazy

Související články

- Mikroskopie pro dopadající světlo
- Konstrukce a funkce světelného mikroskopu

Použitá literatura

- NAVRÁTIL, Leoš a Jozef ROSINA. Medicínská biofyzika. Vyd. 1. Praha: Grada, 2005, 524 s. ISBN 80-247-1152-4.
- WIKIPEDIA, The Free Encyclopedia. *Microscopy* [online]. Poslední revize 2015-04-08, [cit. 2015-04-11].



<<https://en.wikipedia.org/wiki/Microscopy>>.

- OPTOTEAM, . *Základní metody světelné mikroskopie* [online] . Brno, 2004. 65 s. Dostupné také z <http://www.are.cz/documents/ZAKLADNI_METODY_SVETELNE_MIKROSKOPIE.pdf>.