

# Optický mikroskop

Optický (nebo také světelný) mikroskop je zařízení, které používáme k pozorování předmětů, které nejsme schopni spatřit pouhým okem, tj. předmětů, které mají velikost menší než 0,2 mm. Jeho rozlišovací schopnost (schopnost odlišit od sebe dva body) je tedy 0,2 mm - 0,2  $\mu$ m. Pro menší předměty musíme použít mikroskop elektronový, který rozliší předměty až do velikosti 0,1 nm. Tedy předměty o tři řády menší, než zvládá rozlišit mikroskop světelný. Obecně tedy můžeme říci, že kde končí rozlišovací schopnost oka, začíná rozlišovací schopnost světelného mikroskopu, a kde končí rozlišovací schopnost světelného mikroskopu, tam začíná rozlišovací schopnost mikroskopu elektronového.

## Historie mikroskopu

Již ve starověku byly používány různé čočky na pozorování předmětů, které byly příliš malé na pozorování pouhým okem. První velký objev se ovšem datuje do 17. století, kdy Anton van Leeuwenhoek vynalezl přístroj, který se skládal z šroubku, kovového plátku, drážky na upevnění předmětu a sférické čočky. Tento přístroj se dnešnímu mikroskopu nepodobal, je ovšem až obdivuhodné, že jím bylo možné dosáhnout neuvěřitelného zvětšení až 250-500x. K dalšímu přelomovému objevu dospěl Robert Hook, který jako první začal pracovat se světlem v mikroskopii. Vzhledem k velké poptávce byl mikroskop postupně zdokonalován a měnil design, až se změnil v mikroskop, který známe dnes.

## Optická soustava mikroskopu

Optická soustava mikroskopu se skládá ze tří spojných soustav - z objektivu, okuláru a kondenzoru (osvětlovací soustavy).

### Objektiv

Nejdůležitější částí optického mikroskopu je objektiv. Jedná se o soustavu obvykle několika čoček, které dohromady fungují jako **spojná čočka**. Předmět, který v mikroskopu pozorujeme musí být umístěn ve vzdálenosti mezi  $f$  a  $2f$ , tak bude obraz **skutečný, zvětšený a převrácený**. V praxi má objektiv malou ohniskovou vzdálenost (v řádu milimetrů), proto poskytuje větší zvětšení než okulár, jehož ohnisková vzdálenost se volí větší (v řádu centimetrů). Objektiv **určuje zvětšení a kvalitu** výsledného obrazu (čím kvalitnější obraz požadujeme, tím kvalitnější objektiv musíme použít). Zvětšení mikroskopu můžeme měnit, a to otáčením revolvérové hlavy s různými objektivy, které jsou většinou barevně označeny pro rychlou orientaci poskytovaného zvětšení.

### Okulár

Okulár, jak již název napovídá, je část mikroskopu, do které pozorovatel hledí (z latinského *oculus* = oko). Podobně jako objektiv se také skládá ze soustavy čoček, kterých je ale oproti objektivu méně. Tyto čočky společně opět fungují jako **spojná čočka** a poskytují **zdánlivý, zvětšený a převrácený** obraz. Okulár poskytuje zvětšení (10 - 20x), avšak nezlepšuje rozlišovací schopnost mikroskopu.

Schéma optického mikroskopu.

Okulár, jak již název napovídá, je část mikroskopu, do které pozorovatel hledí (z latinského *oculus* = oko). Podobně jako objektiv se také skládá ze soustavy čoček, kterých je ale oproti objektivu méně. Tyto čočky společně opět fungují jako **spojná čočka** a poskytují **zdánlivý, zvětšený a převrácený** obraz. Okulár poskytuje zvětšení (10 - 20x), avšak nezlepšuje rozlišovací schopnost mikroskopu.

### Kondenzor

Kromě objektivu a okuláru nalezneme v mikroskopu ještě další optický důležitý systém, kondenzor. Jedná se o soustavu čoček nebo zrcadel, které **soustřeďují paprsky** na pozorovaný objekt a zajišťují tak jeho osvětlení.

## Ostatní části mikroskopu

Běžný mikroskop sestává jednak z optické soustavy, ve které vzniká obraz a druhak z mechanické části. Tu tvoří stativ a stolek, na který se umístí preparát a pomocí makro-šroubu zkoumaný objekt posouváme do vzdálenosti  $f - 2f$  objektivu, kde se preparát začne zaostřovat. K jemnému doostření slouží mikro-šroub, který se nachází těsně u makro-šroubu. Pro pohyb preparátu ve vodorovné rovině slouží další 2 šrouby (obvykle na opačné straně než makro/mikro-šroub).

## Zobrazovací metody

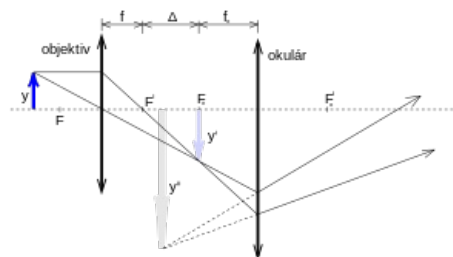
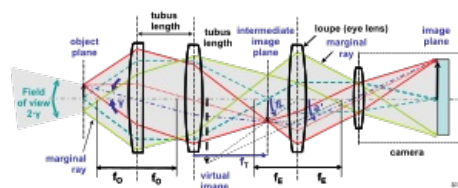


Schéma zobrazení v optickém mikroskopu.



Části mikroskopu



cesta paprsků

Zobrazovacích metod ve světelné mikroskopii je spousta. Preparáty jsou obvykle nanесeny na průhledném sklíčku, které je prosvětlováno konkrétním světlem, a my potom můžeme vidět dané preparáty v okuláru. Mezi nejčastější metody spadá metoda světelného pole a metoda temného pole.

**Metoda světelného pole** je metoda, kdy dochází k prosvícení preparátu, a my ho vnímáme jako objekt s tmavými obrysy, který se vyskytuje ve světlém poli (tuto metodu nazýváme mikroskopií v procházejícím světle). Může docházet i k odrazení paprsků, které pak vstupují do objektivu. Pak tuto metodu nazýváme mikroskopií v odraženém světle.

**Metoda temného pole** je svým způsobem opakem výše uvedené metody. Předmět pozorujeme jako světlý předmět ve tmavém poli. Důvod tmavého podkladu je ten, že paprsky, které preparát osvětlují, nevstupují do objektivu. Paprsky se však na preparátu lámou a do objektivu jde světlo různě nakloněné, díky lomu na preparátu.

Další metodou, která je velmi používaná, zvláště v pozorování biologických preparátů, je **metoda fázového kontrastu**. Struktury, které chceme v preparátu pozorovat, se zpravidla liší svým indexem lomu od okolí. My potom vidíme změnu intenzity světla a tím jsme schopni pozorovat jednotlivé struktury.

Zobrazovacích metod samozřejmě existuje daleko více, o některých dalších si můžete přečíst zde: Mikroskopické metody.

## Zvětšení mikroskopu

Poté, co světlo projde skrz objektiv a následně okulár, dostáváme zdánlivý, zvětšený a převrácený obraz. Celkové zvětšení mikroskopu se vypočítá jako součin příčného zvětšení objektivu a úhlového zvětšení okuláru.

Maximální zvětšení optického mikroskopu ovšem nemůže přesáhnout 2000. větší zvětšení je totiž považováno za zvětšení prázdné, protože předmět sice vidíme větší, ale nejsme schopni rozlišit detaily a předmět se nám "rozmazává"

### Zvětšení mikroskopu:

$$Z = Z_{ob} \cdot Z_{ok} = \frac{\Delta}{f_{ob}} \cdot \frac{250}{f_{ok}}$$

Z ..... Zvětšení mikroskopu

$Z_{ob}, Z_{ok}$  ..... Zvětšení poskytované objektivem a okulárem

$\Delta$  ..... Optický interval (= vzdálenost ohnisek objektivu a okuláru)

$f_{ob}, f_{ok}$  ..... Ohnisková vzdálenost objektivu a okuláru (v mm)

250 ..... Konvenční zraková vzdálenost lidského oka (v mm)

### Numerická apertura:

Tímto termínem se rozumí schopnost objektivu zachytit co nejširší úhel paprsků. Je to jedna ze základních charakteristik objektivu a její hodnota je na něm přímo uvedena.

$$A = n \cdot \sin \alpha$$

A ..... Numerická apertura

n ..... Index lomu

$\alpha$  ..... Polovina otvorového úhlu kužele světla

### Rozlišovací schopnost mikroskopu:

Je schopnost mikroskopu odlišit od sebe 2 body. Závisí na vlnové délce použitého světla, indexu lomu prostředí (možné využití imersního oleje, který zvýší index lomu) a samozřejmě na vlastnostech objektivu. Obecně platí, že není možné rozlišit od sebe 2 body bližší než polovina vlnové délky použitého záření.

$$a = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{A} = \frac{0,61 \cdot \lambda}{n \cdot \sin \alpha}$$

a ..... Rozlišovací schopnost

$\lambda$  ..... Vlnová délka

A ..... Numerická apertura

n ..... Index lomu

$\alpha$  ..... Polovina otvorového úhlu kužele světla

## Odkazy

### Související články

- Konfokální mikroskop
- Elektronový mikroskop
- Mikroskopie skenovací sondou
- Princip zobrazení optickým mikroskopem

## Externí odkazy

- Mikroskop (česká wikipedie) (<https://cs.wikipedia.org/wiki/Mikroskop>)
- Mikroskopické metody

## Zdroj

Navrátil, L., Rosina, J. a kol.: Medicínská biofyzika. Praha: GRADA, 2010. 241-256s

Práce s mikroskopem, mikroskopické preparáty. [cit. 2018-12-02]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/tupwu/PastrnkovaPrilohy2.pdf>