



Výfučtení: Mili, mikro, nano? Mikroskopům ano!

Úvod

V tomto Výfučtení se budeme zabývat přístroji, které zvětšují velmi malé objekty – mluvíme o mikroskopech. Mikroskopy se nejčastěji používají v biologických, chemických a vývojových laboratořích. Vy jste se s nimi možná setkali ve škole na hodinách přírodopisu. Dnes si vysvětlíme, jak takový mikroskop funguje a jaké existují druhy mikroskopů. Dozvíme se, že věda, která tyto přístroje používá k pozorování okem neviditelných objektů a struktur, se nazývá mikroskopie. Také zjistíme, že tato disciplína se již dávno neomezuje na pozorování pomocí světla, ale že používáme i mikroskopy elektronové a sondové skenovací. Velkou část Výfučtení ovšem věnujeme těm nejběžnějším mikroskopům, tedy optickým.

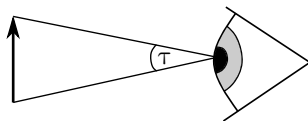
Historie

Údajně první mikroskop sestavil Zacharias Janssen z Nizozemska již v roce 1590. To ale dokládají pouze některé zdroje. Mikroskopii se zabýval také Galileo Galilei, který roku 1609 přetvořil mikroskop na dalekohled (rozdíl je v tom, že mikroskop zvětšuje malé objekty, dalekohled přibližuje objekty velmi vzdálené). Galileo mohl pomocí dalekohledu detailně pozorovat povrch Měsíce. Později mikroskop vylepšil, a byl tak prvním datovaným člověkem, který použil mikroskop. Další významná osobnost v tomto oboru byl britský geolog, Robert Hook. Roku 1665 napsal knihu *Micrographia*, ve které popsal konstrukci mikroskopu s odděleným objektivem, okulárem a osvětlovacím zařízením. Také tam přiložil mnoho mikroskopických zobrazení. Tím byly poprvé doloženy možnosti přístroje ve vědeckém výzkumu.

Optický (světelný) mikroskop

Optická soustava

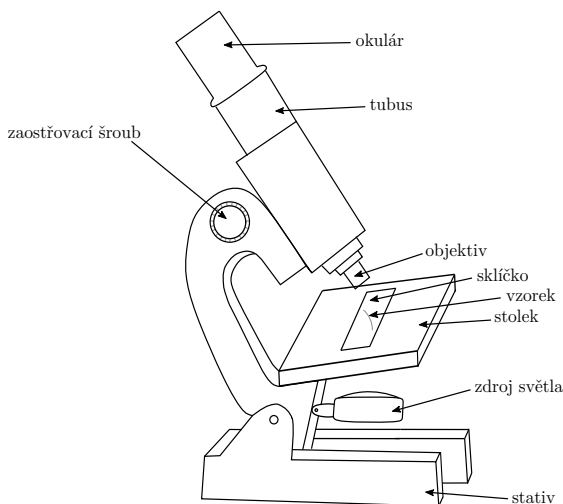
Nejprve zavedme pojem zorný úhel. Zorný úhel τ pozorovaného objektu je roven velikosti úhlu, který svírají paprsky světla jdoucí od okrajů předmětu do oka.



Obrázek 1: Zorný úhel

Mikroskop pracuje na principu zvětšení zorného úhlu, což nám umožní si pomocí čoček nebo zrcadel zřetelně prohlédnout malé *předměty*. Použitím tohoto mikroskopu můžeme dosáhnout zvětšení¹ až 1 500×. Optická soustava mikroskopu je složena ze dvou částí, jak lze vidět na obrázku č. 2.

¹Ve Výfučtení se budeme bavit především o 2 typech zvětšení, a to *příčném zvětšení*, které se týká čoček objektivů, a o *úhlovém zvětšení*, týkajícím se okulárů a celkového zvětšení mikroskopu.



Obrázek 2: Stavba monokulárního (na jedno oko) světelného mikroskopu. Mikroskop se dvěma okuláry pro obě oči nazýváme binokulární.

Za prvé na obrázku vidíme *objektiv*, který vytváří – řečeno optickou terminologií – „zvětšený, převrácený a skutečný“ obraz předmětu.² Slovem *zvětšený* myslíme to, že se paprsky původně vycházející z každého jednoho bodu předmětu zaostří po průchodu objektivem opět do jednoho bodu, který však bude dále od osy objektivu – předmět promítá jako větší, pokud bychom do správné vzdálenosti položili za objektiv projekční plátno (stínítko). Slovem *převrácený* zase myslíme to, že paprsky jsou znovu zaostřeny na body, které jsou však na opačné straně od osy čočky než na té, na které do ní vstupovaly. Na projekčním plátně tedy obraz nebude jen větší, ale bude mít také prohozené všechny strany – bude tedy osově souměrný s původním předmětem podle osy čočky. (Opakem převráceného obrazu je tzv. *vzpřímený* obraz, což uznáváme, že není úplně intuitivní pojmenování při použití kulatých čoček.) Nakonec slovem *skutečný* se jen ujišťujeme, že se paprsky opravdu potkávají někde nad objektivem, kde bychom mohli pomyslné plátno umístit. Opakem skutečného obrazu je *zdánlivý*, který nejde zobrazit stínítkem, protože jeho paprsky se mohou rozbíhat od sebe nebo být rovnoběžné, například po průchodu rozptylnou čočkou. Tu ale našetřít nikde v mikroskopu nenajdeme.

Za druhé je na obrázku *okulár*, který umožňuje pozorování obrazu pouhým okem. Předmětem pro okulár je skutečný obraz pozorovaného objektu, původně vytvořený objektivem. Velikost obrazu předmětu je zaznačena na obrázku č. 3 jako y' . Okulár tento obraz mění na „zvětšený, převrácený a zdánlivý“. Zdánlivý proto, že paprsky dříve se rozbíhající srovná do rovnoběžných a oku se tak zdá, že jde o paprsky přicházející z dálky (obraz je tzv. *v nekončnosti*). Nemusí se pak snažit na ně nijak zaostřovat a čočka oka je potom ve svém výchozím nastavení přímo ostří na sítnici. (Bez čočky oka by se však obraz nepromítl, protože paprsky jsou už rovnoběžné a nikdy se nepotkají, proto jde o případ „zdánlivého“ obrazu).

Pro běžné pozorování se využívá tzv. *Huygensův okulár*. Ten je složen ze dvou *ploskovypuk-*

²Když mluvíme o předmětu, myslíme tím pozorovaný předmět, který značíme šipkou y na obr. č. 3.

lých čoček (takové mají povrch z jedné strany rovný a z druhé „prohnutý“ ven), obrácených rovinnými plochami k oku. Další částí mikroskopu je tubus, ten nastavuje (navzájem oddaluje, nebo přibližuje) vzájemné polohy objektivu a okuláru, a umožňuje tak zaostření.

Kolikrát větší?

Pro výpočet celkového (úhlového) zvětšení mikroskopu je důležité příčné zvětšení objektivu Z a úhlové zvětšení okuláru γ_2 . Jejich součin dává úhlové zvětšení mikroskopu γ . Celkem tedy:

$$\gamma = Z \cdot \gamma_2.$$

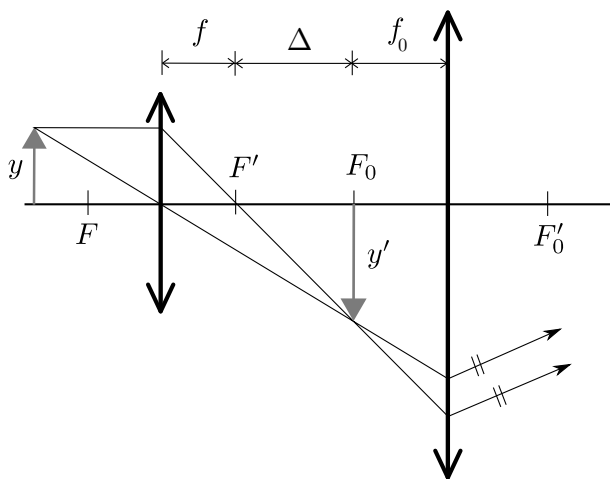
V praxi potřebné údaje nalezneme napsané přímo na objektivu a okuláru, stačí je tedy spolu vynásobit a zjistíme, na kolikrát větší obraz se díváme. My půjdeme trochu hlouběji. *Příčné zvětšení objektivu* nám říká, kolikrát větší obraz oproti skutečnému předmětu pozorujeme. V následujícím vzorci je y velikost předmětu a y' velikost obrazu.

$$Z = \frac{y'}{y}$$

Úhlové zvětšení okuláru určuje, pod kolikrát větším zorným úhlem předmět pozorujeme. Důležitou veličinou je *optický interval mikroskopu* Δ , což je vzdálenost mezi obrazovým ohniskem objektivu F' a předmětovým ohniskem okuláru F_0 , matematicky zapsáno jako

$$\Delta = |F'F_0|.$$

Příčné zvětšení objektivu lze z podobnosti pravoúhlých trojúhelníků o odvěsnách $y \perp f$



Obrázek 3: Zobrazení předmětu mikroskopem, kde f a f_0 jsou ohniskové vzdálenosti, delta je optický interval mikroskopu; F , F' , F_0 , F'_0 značí ohniska, y je objekt a y' je skutečný obraz.

Optická soustava mikroskopu se skládá ze dvou čoček. Objektiv funguje jako běžná spojná čočka, okulár jako lupa.

a $y' \perp \Delta$, vypočítat také jako

$$Z = \frac{\Delta}{f},$$

kde f je ohnisková vzdálenost objektivu. Do vzorců je důležité dosazovat shodné jednotky délký, např. milimetry. Příčné zvětšení objektivu mj. udává poměr výšky obrazu a výšky předmětu.

Pro úhlové zvětšení okuláru platí

$$\gamma_2 = \frac{d}{f_0},$$

kde d je tzv. konvenční zraková vzdálenost (25 cm při pozorování zdravým okem) a f_0 je předměťová ohnisková vzdálenost okuláru.

Celkové zvětšení mikroskopu lze zjistit součinem dvou předešlých vzorců.

$$\gamma = Z\gamma_2 = \frac{y'}{y} \cdot \frac{d}{f_0} = \frac{\Delta}{f} \cdot \frac{d}{f_0}$$

Nakonec si uvědomme, že navzdory tomu, že jsou okulár a objektiv na obrázku 3 naznačeny různě dlouhými čarami, ve skutečnosti může jít o stejně velké čočky. Zvětšení je pouze o součinnosti zvětšení obrazu objektivu vůči předmětu a velikosti zdánlivého obrazu okuláru, který pro okulár funguje jako nový předmět, vůči zmíněnému obrazu objektivu. To vše závisí především na zakřivení povrchů obou čoček a jejich správné vzdálenosti.

Druhy mikroskopů

Typy mikroskopů různě vypadají a všechny mají rozdílné využití, používají jiné zdroje k vytváření obrazů nebo se liší zvětšením. Pojdme se podívat na některé z nich.

Světelné (optické) mikroskopy

Jsou nejběžnější, využívají bílého světla ze zdroje (např. školní). Do této kategorie řadíme i UV (ultrafialové) a IR (infrachervené) nebo fluorescenční mikroskopy. Ve fluorescenční mikroskopii využíváme vlastnosti předmětů nebo i živých buněk světélkovat. Touto vlastností se vyznačuje například rod *Lucibacterium*, což jsou zajímavé bakterie obývající mořskou vodu, které jsou zodpovědné za tzv. *Milky seas efekt*, kdy v noci můžeme na některých místech oceánu pozorovat, že voda „září“.

Dále sem patří binokulární stereoskopy, které nemají moc velké zvětšení, ale místo toho poskytují dostatečný prostor pro přímou práci s preparátem pod objektivem. Toho lze využít např. při preparaci malých vzorků.³ Stereoskop umožňuje pozorovat neprůhledné předměty, a to ve 3D zobrazení.

Naopak k pozorování dvojlomných látek – krystalů (o kterých jste si mohli přečíst více v prvním Výfučení) používáme polarizační mikroskopy. Tyto typy vytvářejí tzv. polarizované světlo⁴ pomocí polarizačních filtrů. Vzorek krystalu rozdělí polarizovaný paprsek na dva (pro-

³Preparace je proces, kdy připravujeme vzorky k pozorování, nebo samotné pozorování.

⁴Pro přesný výklad pojmu polarizace světla si musíte počkat na střední až vysokou školu, avšak už nyní můžeme prozradit, že se jedná o vlastnost, kterou částice světla nesou zrovna tak, jako nesou vlnovou délku (barvu), a jejich množství pak nese intenzitu. Různými zdroji nebo zařízeními můžeme světlo vytvářet nebo filtrovat podle polarizace, čehož se využívá například ve fotografii nebo slunečních brýlích pro řidiče při odstraňování odlesků od lesklých povrchů, z nichž vychází světlo často jednotně polarizováno a je tak možné jej celkově odstínit, zatímco ostatní projde skrz.

to látky dvojlomné), tyto světelné vlny interferují⁵ (dochází ke skládání) a to se projeví vznikem barevného obrazu krystalu.

Elektronové mikroskopy

Můžeme pomocí světelného mikroskopu dosáhnout libovolného zvětšení? Mohlo by se zdát, že ano, nicméně, jak fyzici na počátku 20. století zjistili, při průniku do mikrosvěta se radikálně mění platnost zákonů klasické fyziky. Začínají zde platit nové zákony z tzv. *kvantové fyziky*, z kterých vyplývá, že používat viditelné světlo pro sledování velmi malých věcí nelze. Proto se místo světla začal používat proud elektronů.

Do elektronové mikroskopie patří optickým mikroskopům podobné *ultramikroskopy*. Ty zobrazují ještě menší částice díky proudu elektronů ve vakuu, které jsou zde místo světla, a soustavě cívek jejichž elektromagnetická pole slouží jako obdoba čoček. Ostatní elektronové mikroskopy jsou velká zařízení, která poskytují zvětšení s až v řádech milionů větším rozlišením než optické mikroskopy. Nejznámější elektronové mikroskopy jsou TEM (transmisní elektronový mikroskop) a SEM (skenovací el. mikroskop). Transmisní el. mikroskop využívá k zobrazení elektrony, které vzorkem prošly (např. čím méně elektronů projde, tím je vzorek tlustší, tedy neprůhlednější), skenovací využívá elektrony, které byly od vzorku odrazeny.



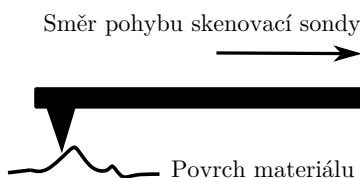
Obrázek 4: Skenovací elektronový mikroskop (SEM) na Ústavu analytické chemie, Akademie věd ČR v Brně.

⁵Princip interference jsme nepřímo zmínili v 5. úloze 6. série 9. ročníku Výfuku: https://vyfuk.mff.cuni.cz/_media/ulohy/r09/s6/priklad6-5.pdf

Skenovací sondové mikroskopy

Zde se dostáváme až do rozlišení v řádu nanometrů. Pomocí těchto přístrojů můžeme tedy pozorovat struktury až na úrovni jednotlivých atomů (do jednoho nanometru se vejde jeden těžký, nebo pár lehkých atomů vedle sebe). Ovšem pořídit takový obraz trvá podstatně delší dobu. Tyto mikroskopy využívají k vytvoření 3D obrazu sondy, která se pohybuje velmi těsně nad povrchem vzorku. Obraz je následně zpracován počítačem. Skenovací sondová mikroskopie se využívá ke studiu povrchů látek. Má uplatnění například v nanotechnologiích či fyzice materiálů (lze např. zkoumat drobné nedokonalosti povrchu).

Do tohoto odvětví mikroskopie řadíme např. AFM (Atomic Force Microscope; mikroskop atomárních sil). AFM využívá vzájemného působení sil⁶ mezi atomy vzorku a atomy sondy na pružném nosníku. Sonda se pohybuje nad povrchem a zaznamenává, jak se musí vychýlit, aby do povrchu nenarazila.



Obrázek 5: Skenovací sonda nad povrchem vzorku

Závěr

Mikroskopy jsou opravdu fascinující optické soustavy, které dokáží mnohonásobně zvětšit velmi malé objekty. Vysvětlili jsme si, jak různé mikroskopy vypadají zevnitř i zvenku a na jakých principech fungují. Snad již tomuto přístroji lépe rozumíte a nebude tak pro vás problém vyřešit poslední úlohu. I když se možná mohlo zdát Výfučtení dlouhé, věřte, že toto je pouhé nahlédnutí do světa mikroskopie.

Julie Weisová
julca@vyfuk.org

Anežka Čechová
anezka@vyfuk.org

Korespondenční seminář Výfuk je organizován studenty a přáteli MFF UK. Je zastřešen Oddělením propagace a mediální komunikace MFF UK a podporován Katedrou didaktiky fyziky MFF UK, jejími zaměstnanci a Jednotou českých matematiků a fyziků. Realizace projektu byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy.

Toto dílo je šířeno pod licencí Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported.
Pro zobrazení kopie této licence navštivte <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>.

⁶Při skenování se projevují především Van der Waalovy síly, jednoduše řečeno síly přitažlivé a odpudivé mezi atomy příliš vzdálenými, aby utvořily vazbu.