Mikroskop včera a dnes a jeho využití ve fyzikálním praktiku

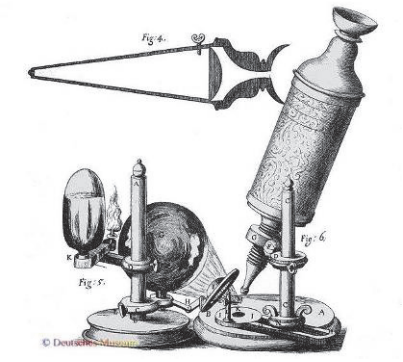
JIŘÍ TESAŘ[1], VÍT BEDNÁŘ[2]
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích[1], Západočeská univerzita v Plzni[2]

Abstrakt

Úvodní část příspěvku je věnována historii, vývoji a základním principům mikroskopu. Následně jsou nastíněny konkrétní možnosti zařazení mikroskopu do fyzikálního praktika: kalibrace a určení zvětšení, měření různých preparátů a komparace ochranných proužků některých českých a evropských bankovek. Poslední část se zabývá možnostmi on-line mikroskopického měření pomocí okulárové kamery a příslušného software.

Historie a popis mikroskopu

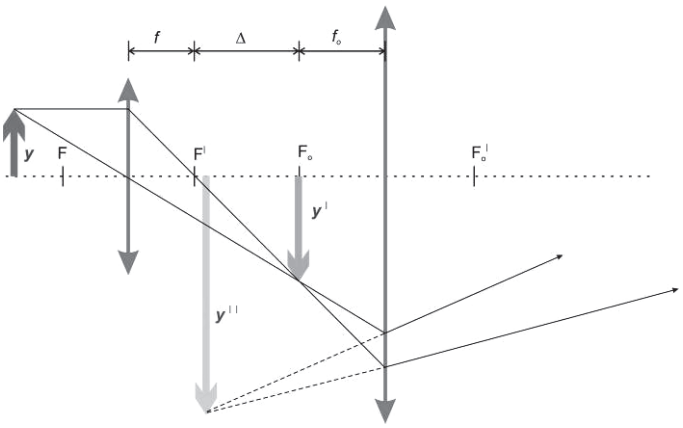
První, kdo začal používat mikroskop ke sledování biologických objevů byl Holanďan *Anton van Leeuwenhoek* (1632-1723), který je nazýván otec mikroskopie. Byl to on, kdo spatřil a popsal bakterii, kvasinky, hemživý život v kapce vody a cirkulaci krvinek v kapilárách. Angličan *Robert Hooke* (1635-1703) postavil přesnou kopii Leeuwenhoekova mikroskopu a tu poté zdokonalil. Jak vypadaly takovéto historické mikroskopy vidíme na obrázku č. 1.



Obr.1. Historický mikroskop (převzato Deutsches Museum).

O zdokonalení konstrukce optických prvků a rozšíření výroby mikroskopů se ve 2. polovině 19. století zasloužila především firma, která nese jméno podle svého zakladatele *Carl Zeiss*. Tento vynikající praktik v oboru optiky a přesné mechaniky spojil své zkušenosti s teoretickými poznatky *Ernsta Karla Abbeho* a podařilo se jim sestrojit mikroskopy, které předčily zobrazovací parametry dosavadních mikroskopů. Proslulost této značky přetrvává až do dnešní doby.

Vznik obrazu v mikroskopu můžeme zjednodušeně popsat následovně: *Objektiv* (soustava čoček s velmi krátkou ohniskovou vzdáleností) vytváří skutečný převrácený obraz objektu, jež se promítá mezi ohnisko okuláru a okulár. Okulárem tento obraz pozorujeme jako pod lupou a vidíme zdánlivý zvětšený obraz, viz obrázek 2.



Obr. 2. Vznik obrazu v mikroskopu.

Pro úhlové zvětšení mikroskopu γ_{m} platí známý vztah:

$$\gamma_{\mathrm{m}} = \frac{\Delta}{f_1} \cdot \frac{d}{f_2}$$

Kde Δ je optický interval mikroskopu,

d je konvenční zraková vzdálenost,

f_1 je obrazová ohnisková vzdálenost objektivu,

f_2 je předmětová ohnisková vzdálenost okuláru.

První zlomek ve vztahu udává příčné zvětšení Z_{ob} objektivu, druhý zlomek je úhlové zvětšení γ_{ok} okuláru. Úhlové zvětšení mikroskopu γ_{m} je dáno součinem $Z_{\mathrm{ob}} \cdot \gamma_{\mathrm{ok}}$.

Konstrukce dnešních optických mikroskopů je principiálně stejná, ale jejich technické provedení je nesrovnatelné. Pro lepší pozorování bývají často konstruovány se dvěma okuláry a jejich zvětšení většinou dosahuje hodnot 50× až 1000× – viz obrázek 3.

Obr. 3. Popis mikroskopu.

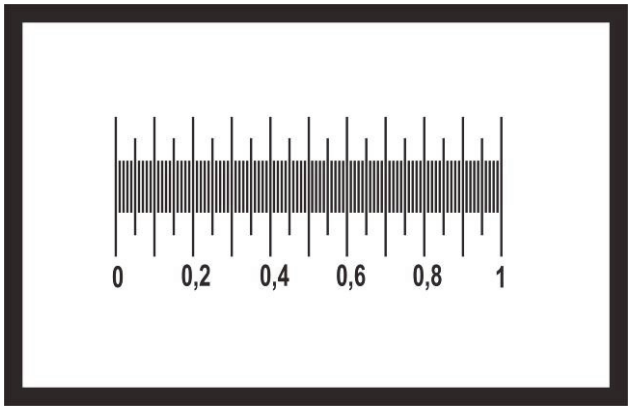
Mikroskop ve fyzikálním praktiku

Na první pohled se zdá, že mikroskop je především prostředek pro pozorování v biologii nebo jiných laboratořích a ve fyzikálním praktiku nenalezne uplatnění. Ale tuto myšlenku vyvrací úloha, kterou jsme zavedli do fyzikálního měření na PF JČU a kterou lze využít i pro studenty středních škol s hlubším zájmem o fyziku.

Toto praktikum lze rozdělit do několika částí:

a. Kalibrace mikroskopu, ověření zvětšení udávané výrobcem

K tomuto měření potřebujeme mikroskop s měřícím okulárem, který má stupnici 10 cm dělenou po 1 mm. Dále potřebujeme tzv. objektivový mikrometr, tj. etalon, což je skleněná destička velikosti podložního sklíčka, na které je vyryt obdélník, v němž je 1 mm rozdělen stupnicí na 100 dílků, tj. jeden dílek představuje 10 μm (viz obrázek 4).



Obr. 4. Objektivový mikrometr (etalon).

Vlastní práci s mikroskopem, tj. vložení preparátu, jeho posunutí do zorného pole, zaostření obrazu pomocí posunu stolečku a vhodné nastavení osvětlení, většinou studenti znají z hodin biologie. Největší problém dělá zobrazení „dvou stupnic“ – jejich odlišení a správná identifikace k etalonu a k okuláru.

Srovnáním stupnice v měřícím okuláru a stupnice v objektivovém mikrometru určíme zvětšení pro příslušný mikroskop. Takto určená hodnota se vždy přesně neshoduje s údajem výrobce. V našem konkrétním měření má měřící okulár zvětšení 10× a jednotlivé objektivy zvětšení 4×, 10×, 40× a 100×. Následující tabulka ukazuje drobné odchylky udávané a změřené hodnoty zvětšení:

Zvětšení udávané			**Zvětšení vypočtené**		
okuláru	**objektivu**	**mikroskopu**	**vzdálenost v okuláru [mm]**	**vzdálenost na etalonu [mm]**	**zvětšení mikroskopu**
10	4	40	40	1	40
10	10	100	100	0,985	102
10	40	400	100	0,26	385
10	100	1000	100	0,1	1000

Tab. 1. Zvětšení mikroskopu.

b. Určení velikosti měřených vzorků

Z hlediska studentů se jako zajímavé jeví určení velikosti běžných předmětů a porovnání určených hodnot pro různá zvětšení mikroskopu. Nejprve je nutné připravit si vhodný preparát. Dočasný preparát jednoduše vytvoříme z podložního sklíčka na něž do kapky vody vložíme měřený předmět a překryjeme krycím sklíčkem. Trvalé preparáty vytvoříme obdobně, pouze s tím rozdílem, že místo vody použijeme k tomu určený lak. Pokud chceme vytvořit preparáty – vzorky z rozměrnějších těles, musíme z nich získat tenké vzorky, které nařežeme speciální řezačkou. Tu mají většinou v kabinetu biologie. V našem praktiku konkrétně měříme: průměr vlasu, vousu, tenkého drátku a optického vlákna. Pro zajímavost uvádíme některé naměřené hodnoty:

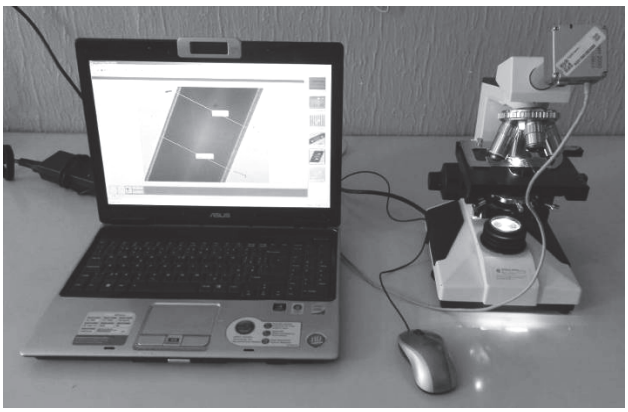
Měřený preparát	**Zvětšení mikroskopu**	**Změřená hodnota [mm]**	**Velikost [mm]**	**Zvětšení mikroskopu**	**Změřená hodnota [mm]**	**Velikost [mm]**
vlas	385×	19	0,049	1000×	50	0,050
vous	385×	64,5	0,168	100×	17	0,170
drátek	385×	34	0,088	1000×	90	0,090
opt. vlákno	385×	8	0,021	1000×	20	0,020

Tab. 2. Velikost změřených preparátů.

Pomocí mikroskopu můžeme také pozorovat a případně i měřit ochranný proužek na bankovkách. Jeho šířka je v řádu mm, ale zjistíme, že uvnitř proužku je vyražena hodnota bankovky a označení koruny, tj. „Kč“. I zde sledujeme některé zajímavosti, např. ostrost okrajů čísel a písmen u bankovek staršího a novějšího data vydání, resp. českých bankovek a bankovek Eura.

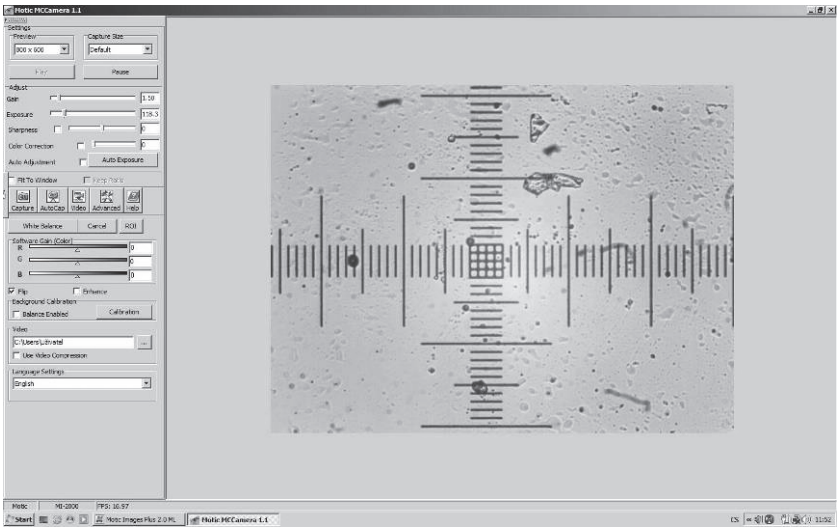
c. Mikroskopická měření pomocí CCD kamery

Připojením CCD kamery k mikroskopu místo okuláru získáváme společně s dodávaným softwarem silný nástroj, jak studentům přiblížit moderní technologie. CCD kameru připojíme přes USB kabel k PC a pokud máme nainstalovaný příslušný software (v našem případě Motic Images Plus 2.0, který odpovídá použité CCD kameře a má provedeno příslušné nastavení) můžeme začít „měřit“ – viz obrázek 5.



Obr. 5. Mikroskop s CCD kamerou připojený k notebooku.

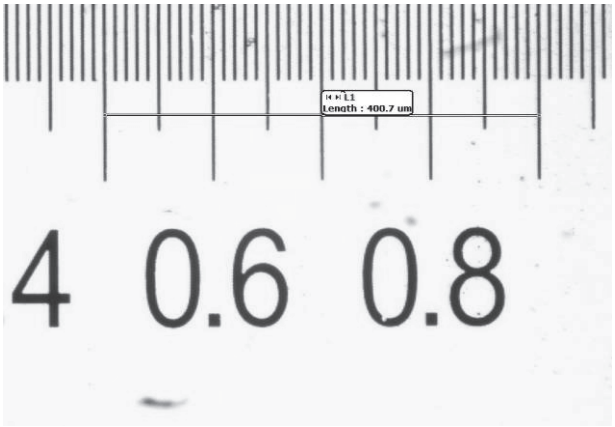
Postup měření je analogický jako při klasickém snímání preparátů. Spustíme program Motic Images Plus, pomocí něhož aktivujeme CCD kameru v prostředí Motic MC Camera, na pracovní ploše se pak objeví snímaný obraz, viz obrázek č. 6.



Obr. 6. Snímání obrazu preparátu – Motic MC Kamera.

Po jeho zaostření ho musíme nejprve „sejmout“, tj. uložit do paměti a přenést zpět do Motic Images Plus, v kterém provádíme vlastní měření a v kterém také můžeme tento obrázek uložit do zvoleného formátu a případně s ním dále pracovat.

Abychom z obrazu získaného CCD kamerou určili rozměry pozorovaných těles musíme v programu Motic Images Plus (podobně jako při předchozím měřením s měřicím okulárem) provést nejprve kalibraci. K tomuto úkonu se lépe hodí etalon, který je kalibrovaný ve dvou směrech na sebe kolmých, tj. v osách x a y. Při vlastním měření potom nesmíme zapomenout, že při změně objektivu musíme také změnit nastavení v kalibrační tabulce na příslušnou hodnotu. Obrázek č. 7. ukazuje správnost nastavené kalibrace.

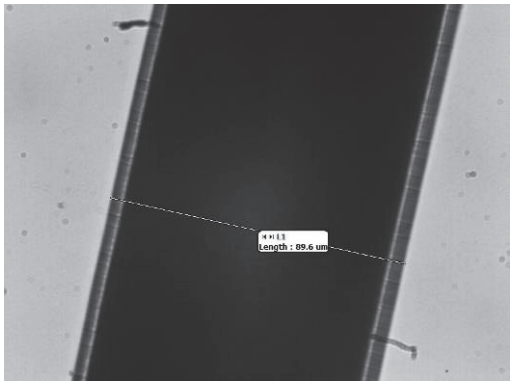


Obr. 7. Ověření nastavení kalibrace (naměřená hodnota 400,7 μm)

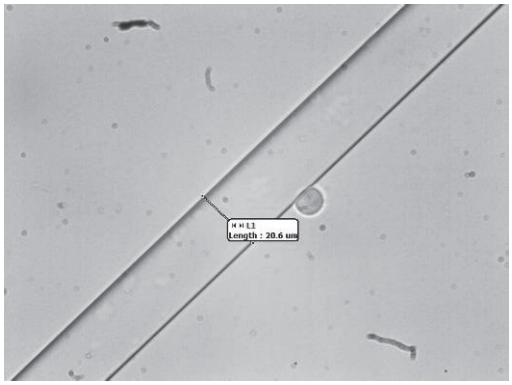
Uvedený software umožňuje nejen měřit délku úseček, ale i křivek, dále také plochy, velikost úhlů, dělat výřezy apod. Pro zajímavost uvádíme obrázky některých prepará-

tů i s vyobrazením měření jejich rozměrů pro porovnání s hodnotami získanými klasickým měřením.

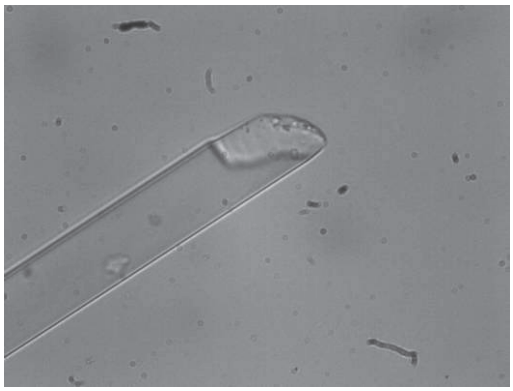
Z hlediska fyzikálního je pro studenty přínosný obrázek „zalomeného“ konce optického vlákna, který ukazuje na největší úskalí této technologie a to je napojování optických vláken k sobě.



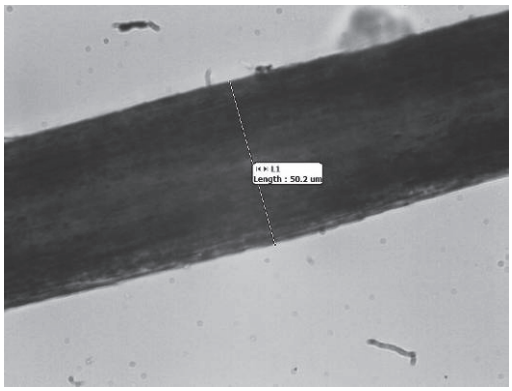
Obr. 8. Měděný drátek – objektiv 40× (naměřená hodnota 89,6 μm).



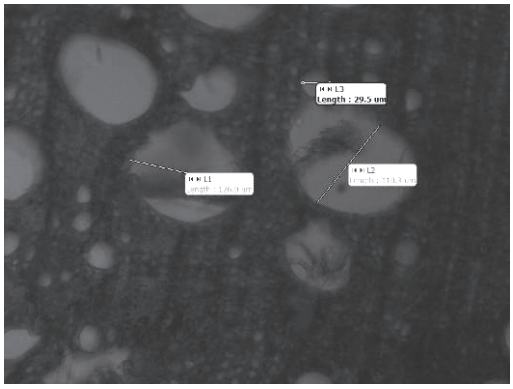
Obr. 9 Optické vlákno – objektiv 40× (naměřená hodnota 20,9 μm).



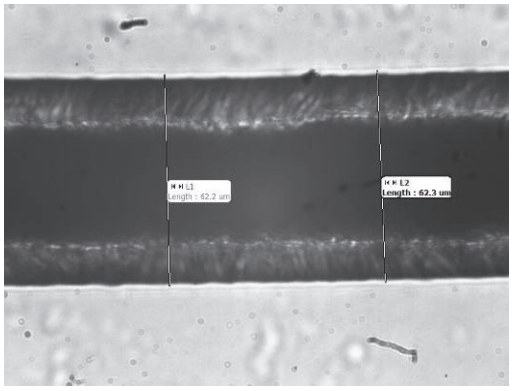
Obr. 10. Zalomení optického vlákna – objektiv 40×.



Obr. 11. Lidský vlas – objektiv 40× (naměřená hodnota 50,2 μm).



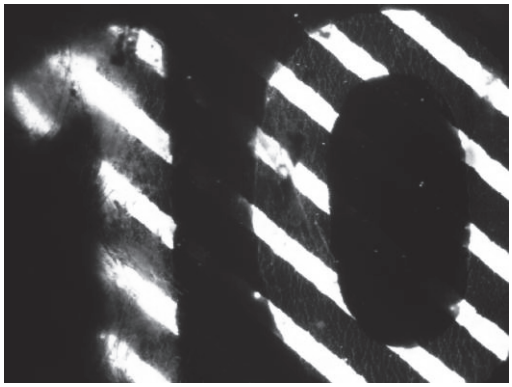
Obr. 12. Dubové dřevo – objektiv 10× (naměřené hodnoty 126,0; 29,5; 110,3 μm).



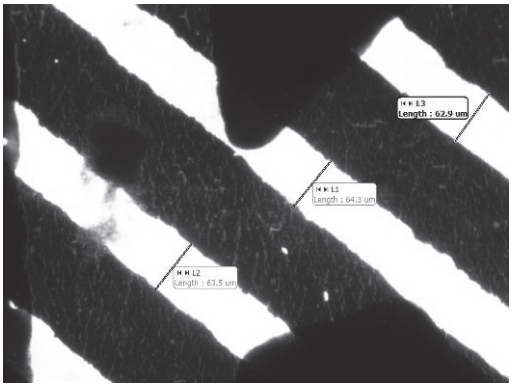
Obr. 13. Psí srst – objektiv 40× (naměřené hodnoty 62,2; 62,3 μm).

Také obrázky ochranných proužků bankovek různého provedení ukazují rozdílné technologické postupy při jejich výrobě.

Obr. č.14 Bankovka 100 EUR – objektiv 4×.



Obr. č.15 Bankovka 1000 Kč – objektiv 4×.



Obr. 16. Bankovka 1000 Kč – objektiv 10× (naměřené hodnoty 63,5; 64,3; 62,9 μm).

Obr. 17. Bankovka 100 Kč – objektiv 4×.

Cílem tohoto příspěvku bylo ukázat možnost zařazení mikroskopu do fyzikálních praktik, včetně využití moderních technologií, které představuje on-line měření za pomoci CCD kamery. Studenti si na atraktivních námětech prohloubí své teoretické poznatky o mikroskopu a zároveň si upevní praktické dovednosti při práci s mikroskopem. Komparací naměřených rozměrů preparátů s dosavadními představami pak studenti zlepšují svůj odhad a vytvářejí si reálnou představu o rozměrech miniaturních těles. Samozřejmě, že výčet uváděných měřených preparátu není vyčerpávající, ale pouze nastiňuje některé osvědčené náměty.

Literatura

[1] Brož J. a kol.: *Základy fyzikálních měření (I),* SPN Praha 1983
[2] Horák, Z., Krupka, F.: *Fyzika (sv. 2)*, SNTL/ALFA 1976
[3] http://cs.wikipedia.org/wiki/Mikroskop (17. 08. 2012)
[4]http://www.fch.vutbr.cz/~zmeskal/obring/presentace_2003/04_opticke_mikroskopy.pdf