

Mez rozlišení mikroskopu

Díky **mikroskopu** zlepšíme rozlišovací schopnost oka až o dva řády, tedy 0,001 mm. Úkolem mikroskopu je rozlišit jednotlivé objekty, popřípadě detaily, a zvětšit jejich obraz tak, aby odpovídal velikostním parametrům oka, neboli objektiv vytváří obraz a úkolem okuláru je zvětšit úhel pozorování do velikosti **vyhovující oku**.

Rozlišovací schopnost lidského oka

- bodová rozlišovací mez oka je přibližně 1'
- nejmenší velikost předmětu, který je oko schopno rozlišit je 0,1 – 0,15 mm

V případě unaveného oka se hodnoty liší.

Nejvhodnější mírou rozlišovací schopnosti mikroskopu, respektive jeho objektivu je **mez rozlišení**.

Mez rozlišení mikroskopu

Je to taková vzdálenost dvou bodů objektu, kdy je ještě rozlišíme, tzn. nesplynou v jeden bod.

Mez rozlišení mikroskopu ovlivňuje

- ohyb a interference světla
- numerická apertura
- kondenzor
- vady čoček

Ohyb a interference světla

Ohyb a interferenci vysvětlíme na preparátu, který budeme považovat za rovinnou optickou mřížku. Při průchodu světla mřížkou dochází k interferenci světla a vznikají maxima a minima. Paprsky dopadají na mřížku rovnoběžně a jejich směr je **kolmý** na rovinu mřížky. Pokud je mřížková konstanta dostatečně malá, nastane při průchodu paprsku šterbinou **interference světelných vln** a částečný ohyb jejich směru. Maximální světelný tok (https://cs.wikipedia.org/wiki/Sv%C4%9Bteln%C3%BD_tok) prochází skrze mřížku převážně v původním směru, ale v důsledku vlnových vlastností světla je částečně oslaben. V rovině kolmé na směr paprsku dochází k rozložení světla na střídavá maxima a minima. Intenzita maxim rychle klesá se vzrůstající vzdáleností od původního paprsku a rozlišujeme tak maxima a minima několikátého řádu v závislosti na vzdálenosti od původního paprsku. V důsledku ohybu a interference světla nebude u reálné optické soustavy obrazem bodu bod, ale rozptylová ploška, neboli rozptylový (ohybový) kroužek.

Abbeho kritérium rozlišitelnosti: Pro vznik rozlišeného sekundárního (skutečného) obrazu optické mřížky musí primární obraz obsahovat nejen maximum nultého řádu, ale navíc alespoň maximum prvního řádu. Obraz vzniká **superpozicí** svazků různých ohybových maxim – tzn. obraz je tím kvalitnější, čím větší množství ohybových maxim se jeho vzniku účastní. Pokud jsou dva objekty tak blízko sebe, že jejich rozptylové kroužky se zčásti překrývají, nebudou rozlišeny a budou zobrazeny jako jeden.

Na základě **Abbeho kritéria** můžeme formovat vztah pro mez rozlišení mikroskopu:

Platí: $d = \lambda / A$

λ vlnová délka použitého světla

A....numerická apertura

Numerická apertura

V literatuře se zkracuje N.A., nebo n.a. Jedná se o **bezrozměrné číslo**, které je číselným měřítkem pro schopnost mikroskopické optiky zachycovat informace, obsažené v pozorovaném objektu. Platí, že lepší kvalitu má ten objektiv (při totožném zvětšení), který má vyšší numerickou aperturu. **Numerická apertura** je proto nejvýznamnějším hlediskem pro srovnávání jakosti objektivů a cílem výrobců je mikroskop s co největší numerickou aperturou.

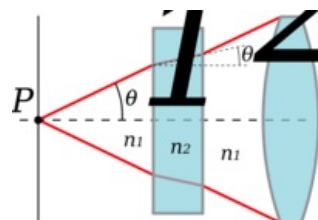
Platí: $A = n \cdot \sin \alpha$

n.... index lomu prostředí (mezi objektivem a preparátem)

αúhel mezi středním a okrajovým paprskem světla vstupujícího do objektivu

Kondenzor

Kondenzor musí být nastaven tak, aby co nejlépe koncentroval světelný tok do roviny preparátu a do vstupní pupily objektivu. Toho lze dosáhnout vhodným výškovým nastavením kondenzorového stolku a vhodným nastavením jeho numerické apertury. Numerickou aperturu kondenzoru můžeme ovládat aperturní clonou. Pro kondenzor obecně platí vztah meze rozlišení:



Numerická apertura vzhledem k bodu P závisí na polovičním vrcholovém úhlu θ maximálního světelného kužele, který může do čočky vstoupit nebo z ní vystoupit.

$$d = \lambda / (A_{\text{obj}} + A_{\text{kon}})$$

Při optimálním přizpůsobení objektivu a kondenzoru jsou jejich numerické apertury shodné. V praxi používáme $A_{\text{kond}} < A_{\text{obj}}$

Ze vztahu vyplývá, že schopnost objektivu rozlišit ve světle procházejícím kondenzorem dva blízko sebe ležící předmětné body a zobrazit je jako dva body, nikoli jako bod jeden, není určována zvětšením objektivu, nýbrž číselnou aperturou a délkou vlny použitého světla.

Objektiv má tím lepší rozlišovací schopnost, čím bližší dva body dovede rozlišit, neboli čím je vzdálenost „d“ mezi nimi menší.

Vady čoček

- sférická (https://cs.wikipedia.org/wiki/Sf%C3%A9rick%C3%A1_aberace) (kulová)
- chromatická (https://cs.wikipedia.org/wiki/Chromatická_aberace) (barevná)
- astigmatismus ([https://cs.wikipedia.org/wiki/Astigmatismus_\(optika\)](https://cs.wikipedia.org/wiki/Astigmatismus_(optika)))

Odkazy

Související články

- Vady optických soustav (https://www.wikiskripta.eu/w/Vady_optick%C3%BDch_soustav)
- Konstrukce a funkce světelného mikroskopu (https://www.wikiskripta.eu/w/Konstrukce_a_funkce_sv%C4%9Bteln%C3%A9ho_mikroskopu)

Zdroje

- HEJTMÁNEK, Milan. *Úvod do světelné mikroskopie*. 3. přeprac. a dopl. vyd. Olomouc: Vydavatelství University Palackého, 1993, 65 s. ISBN 80-706-7308-7.
- SMÉKAL, Petr. *Experimentální metody biofyziky II*. 1. vyd. Ostrava: Ostravská univerzita, 1995, 712 s. ISBN 80-704-2723-X.
- PROSSER, Václav a kol. *Experimentální metody biofyziky*. 1. vyd. Praha: Academia, 1989, 712 s. ISBN 80-200-0059-3.

Externí odkazy

- REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. *Rozlišovací schopnost optických přístrojů* [online]. [cit. 2015-11-29]. <<http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/525-rozlisovaci-schopnost-optickych-pristroju>>.
- REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. *Ohyb světla na štěrbině* [online]. [cit. 2015-11-29]. <<http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/459-ohyb-svetla-na-sterbine>>.
- 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>.

