

# МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ: ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ, ФАЗОВО- КОНТРАСТНАЯ, ТЕМНОПОЛЬНАЯ.

Выполнил: Игликов А.А.  
Студент 211 группы.

2013 год.

# МИКРОСКОПИЯ. МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ

- **Микроскопия** (лат. *μικροσ* — мелкий, маленький и *σκοπος* — вижу) — изучение объектов с использованием микроскопа. Подразделяется на несколько видов: оптическая микроскопия, электронная микроскопия, рентгеновская или рентгеновская лазерная микроскопия, отличающиеся использованием электромагнитных лучей с возможностью рассмотрения и получения изображений микроэлементов вещества в зависимости от разрешающей способности приборов (микроскопов).



# ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

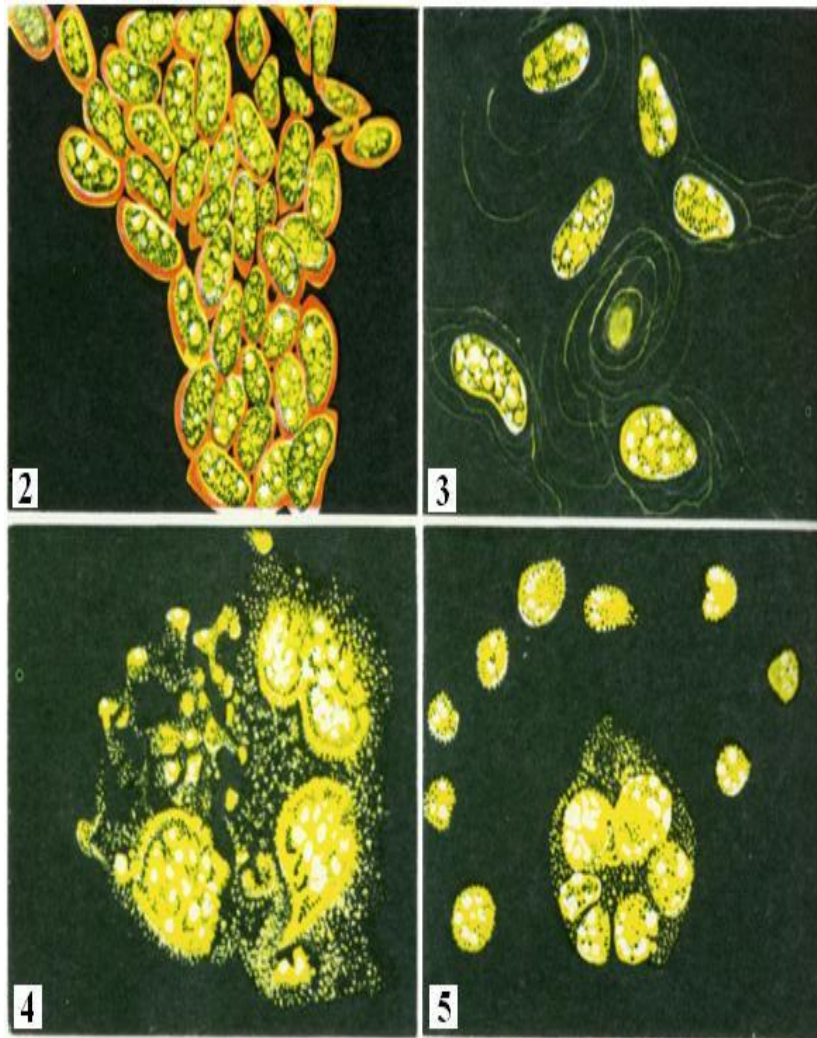
- Люминесцентный метод микроскопии занимает важное место в исследовании микроорганизмов. Люминесценцией (или флюоресценцией) называют излучение клеткой света за счет поглощенной энергии. Только немногие бактерии (люминесцирующие) способны светиться собственным светом в результате интенсивных процессов окисления, протекающих у них со значительным выделением энергии.



- Большинство микроорганизмов приобретает способность люминесцировать, или флюоресцировать, при освещении их ультрафиолетовыми лучами после предварительной окраски специальными красителями — флюорохромами. Поглощая короткие ультрафиолетовые волны, объект излучает более длинные волны видимой части спектра. Вследствие этого разрешающая способность микроскопа повышается. Это дает возможность исследовать более мелкие частицы. Чаще используют красители- флюорохромы: акридин оранжевый, аурамин, корифосфин, флюоресцеин в виде очень слабых водных растворов.



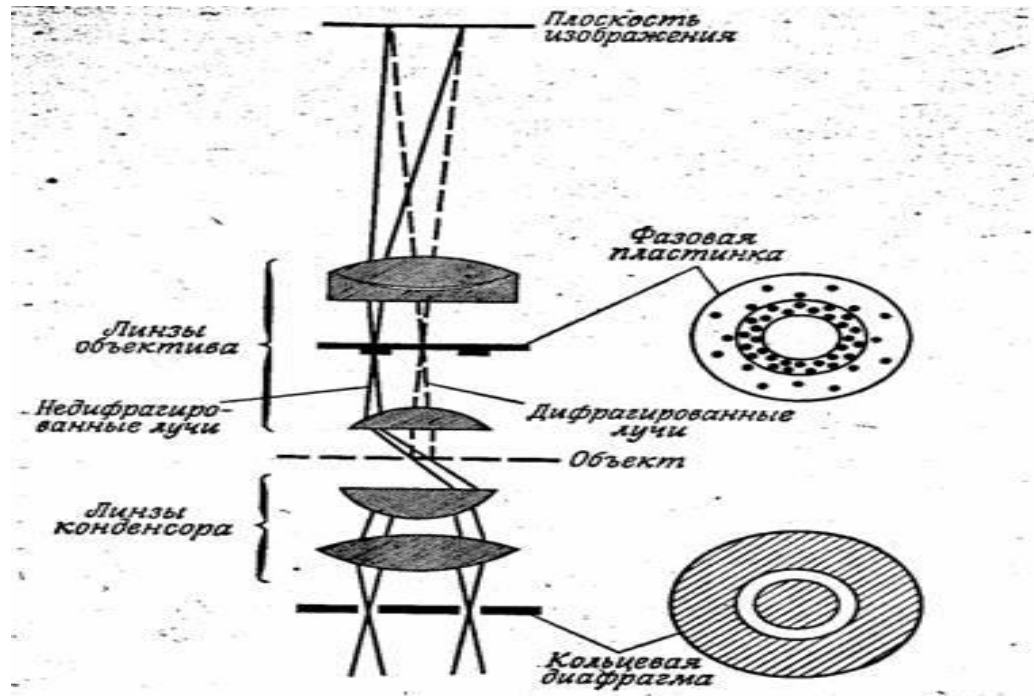
○ При окраске корифосфином коринебактерии дифтерии дают желто-зеленое свечение в ультрафиолетовом свете, микобактерии туберкулеза при окраске аурамин-родамином — золотисто-оранжевое. Для успешной микроскопии необходим яркий источник света, в качестве которого используют ртутно-кварцевую лампу высокого давления. Между источником света и зеркалом помещают сине-фиолетовый светофильтр, который пропускает только короткие и средние волны ультрафиолетового света. Попав на объектив, эти волны возбуждают в нем люминесценцию. Чтобы увидеть ее, на окуляр микроскопа надевают желтый фильтр, который пропускает длинноволновый свет флюоресценции, возникающий при прохождении лучей через объект. Короткие волны, не поглощенные исследуемым объектом, убираются, отсекаются этим фильтром.



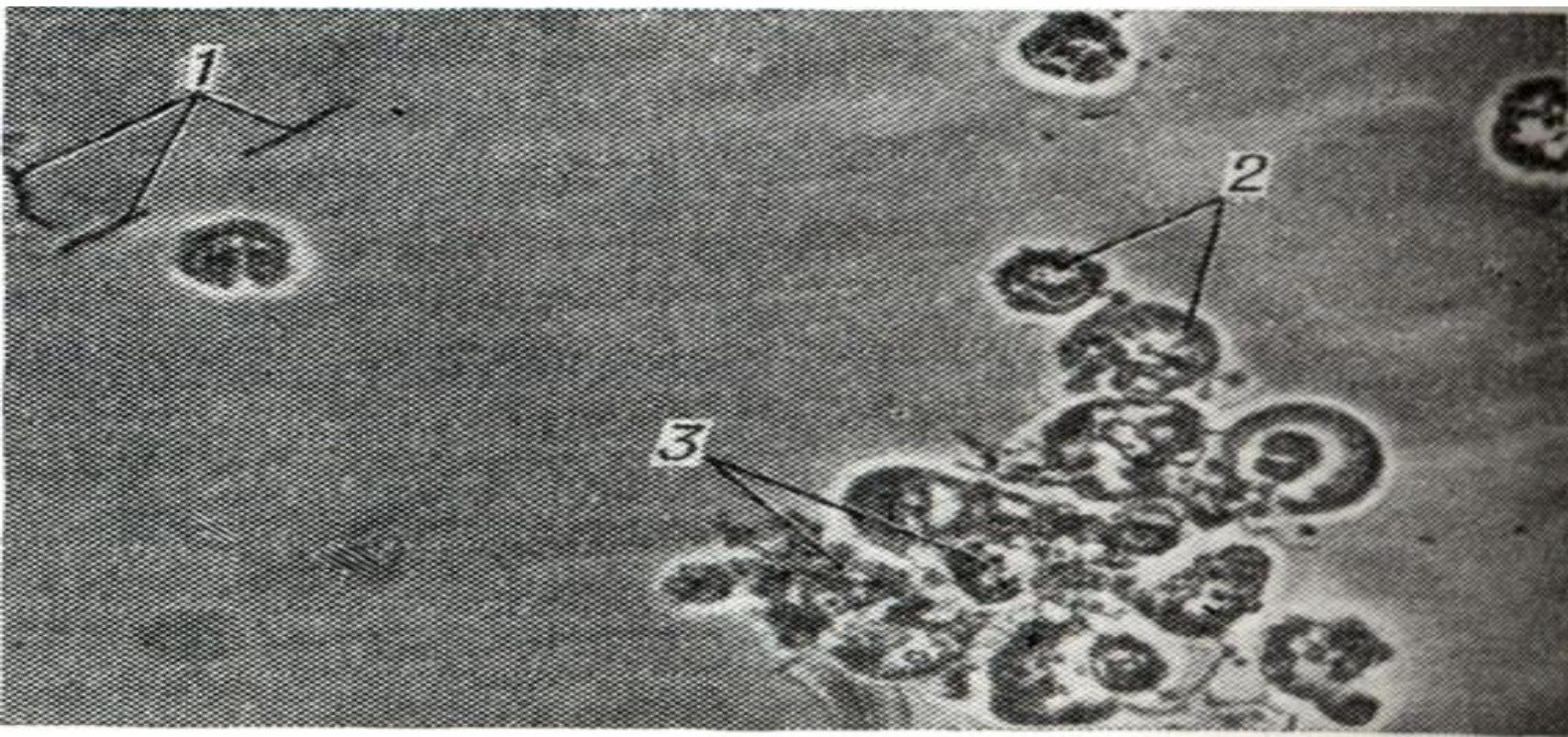


# ФАЗОВО-КОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Фазово-контрастная микроскопия - основана на дифракции луча света в зависимости от особенностей объекта излучения. При этом изменяется длина и фаза световой волны. Объектив специального фазово-контрастного микроскопа содержит полупрозрачную фазовую пластинку. Живые микроскопические объекты или фиксированные, но не окрашенные микроорганизмы и клетки из-за их прозрачности практически не изменяют амплитуду и цвет проходящего через них светового луча, вызывая лишь сдвиг фазы его волны. Однако, пройдя через изучаемый объект, лучи света отклоняются от полупрозрачной фазовой пластинки.



- ◉ . В результате между лучами, прошедшими через объект, и лучами светового фона возникает разность длины волны. Если эта разность составляет не менее  $1/4$  длины волны, то появляется зрительный эффект, при котором темный объект отчетливо виден на светлом фоне или наоборот в зависимости от особенностей фазовой пластинки. Разновидностью фазово-контрастной микроскопии является амплитудно-контрастная, или аноптральная микроскопия, при которой применяют объектив со специальными пластинками, изменяющими только яркость и цвет фонового света. В результате расширяются возможности исследования живых неокрашенных объектов.



# ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ

- Голландский физик, математик и химик Фриц Цернике в 1930 году начал работать в области оптики. В этом же году он открыл фазово-контрастный метод. В течение 1930—1940-х годов Цернике внёс свой вклад и в других вопросах оптики, в то время как фазово-контрастный метод не был замечен широкими кругами учёных. Новый метод оставался вне поля зрения научного сообщества вплоть до Второй мировой войны, когда во время немецкой оккупации Голландии открытие Цернике было использовано для создания первых фазово-контрастных микроскопов. В течение войны многие производители стали выпускать фазово-контрастные микроскопы, и они стали широко применяться в биологических и медицинских исследованиях.



# ТЕМНОПОЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Темнопольная микроскопия основана на способности микроорганизмов сильно рассеивать свет. Для темнопольной микроскопии пользуются обычными объективами и специальными темнопольными конденсорами. Существует несколько типов таких конденсоров, различающихся по устройству.

Основная особенность темнопольных конденсоров заключается в том, что центральная часть у них затемнена и прямые лучи от осветителя в объектив микроскопа не попадают. Объект освещается косыми боковыми лучами и в объектив микроскопа попадают только лучи, рассеянные частицами, находящимися в препарате. Темнопольная микроскопия основана на эффекте Тиндаля, известным примером которого служит обнаружение пылинок в воздухе при освещении их узким лучом солнечного света.

