

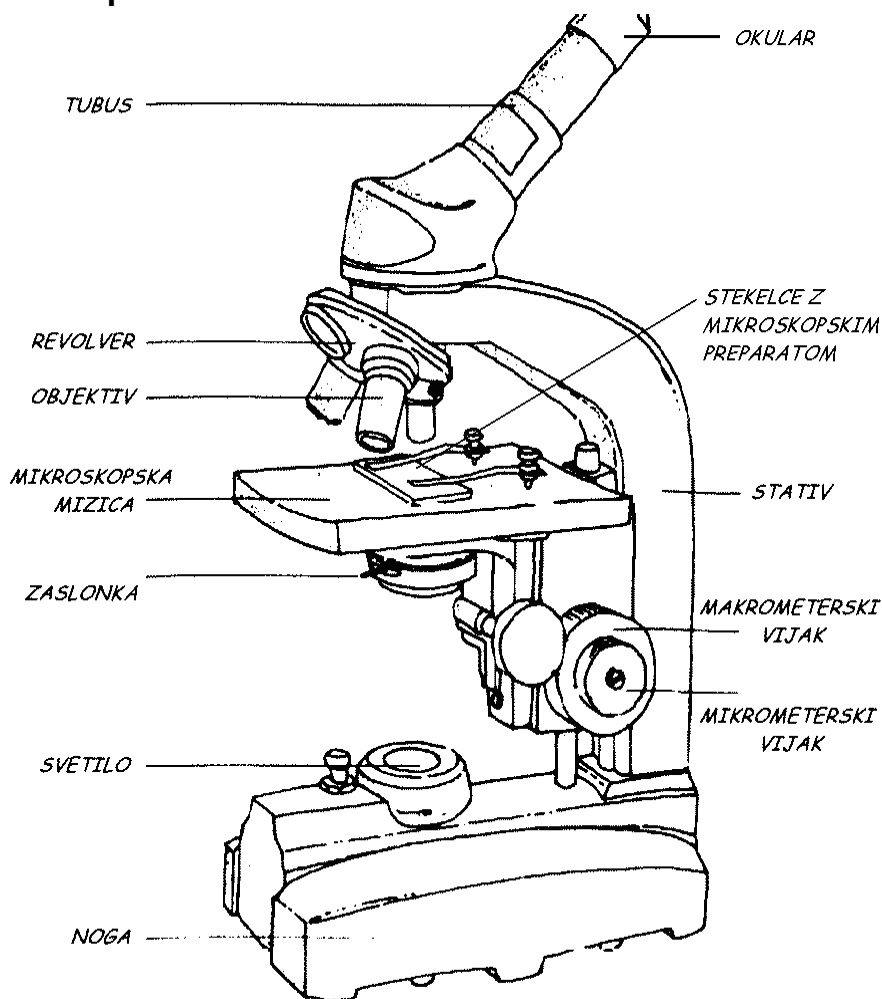
MERJENJE Z MIKROSKOPOM

Uvod

Mikroskop

Mikroskop (iz grških besed *mikrós* - majhno in *skopeîn* – gledati, videti) je posebna optična naprava, ki je sestavljena iz sistema leč, za opazovanje predmetov, ki so premajhni, da bi jih lahko videli s prostim očesom. Mikroskope v osnovi ločimo v tri skupine: svetlobni mikroskopi, elektronski mikroskopi in SPM (*»scanning probe microscope«*)

Zgradba mikroskopa:



Pot svetlobe skozi mikroskop

Svetloba potuje skozi mikroskop v tem vrstnem redu:

- 1.) svetilo
- 2.) zaslonka
- 3.) mikroskopska mizica
- 4.) stekelce/mikroskopski preparat

- 5.) objektiv
- 6.) tubus
- 7.) okular

Povečava mikroskopa

Povečavo mikroskopa izračunamo tako, da pomnožimo povečavo okularja s povečavo objektiva.

Pri vaji smo uporabljali mikroskop z okularjem z 10-kratno povečavo in s štirimi objektivimi (s 4-, 10-, 40- in 100-kratno povečavo), torej smo imeli 4 povečave:

- 1.) p mala 40x
- 2.) p srednja 100x
- 3.) p velika 400x
- 4.) p največja 1000x

Mikroskopiranje

Mikroskopiranje je ena najpogostejših tehnik v biološkem raziskovanju. Pri tej tehniki s pomočjo mikroskopa opazujemo večkrat povečano sliko.

Mikroskopirati začnemo pod objektivom z najmanjšo povečavo. Preparat, ki mora biti pod objektivom, gledamo skozi okular. Nato premikamo makrometrski vijak, dokler slika preparata ne postane jasna in sliko izostrimo še z mikrometrskim. Zaslonko premikamo toliko časa, dokler ni preparat enakomerno osvetljen. Ko je slika izostrena na mali povečavi in je del preparata, ki ga hočemo opazovati, na sredini, nastavimo objektiv z večjo povečavo. Pod večjimi objektivimi izostrimo sliko samo z mikrometrskim vijakom; s pravilno nastavitvijo mikrometrskega vijaka preprečimo, da bi z objektivom zadeli preparat.

Namen in cilji

Cilji vaje:

- seznanitev z deli mikroskopa
- naučiti se mikroskopiranja pod malimi in veliki povečavami
- ugotoviti, kako se ugotovi in izračuna premer vidnega polja
- naučiti se oceniti velikost opazovanih objektov

Delovna hipoteza: večja kot je povečava, manjše je vidno polje.

Postopek

Material:

- mikroskop
- papirnat trak z različno velikimi krogi
- objektno in krovno steklo
- preparat vinske mušice in krvnega razmaza
- voda

Velikost vidnega polja pod malo povečavo

Na papirnem traku so bili narisani krogci z različnim premerom. Opazovali smo kroge pod najmanjšo povečavo (p 40x) in določili, da se z vidnim poljem ujema krog s premerom 5mm (5000 μm)

Velikost vidnega polja pod srednjo povečavo

Velikost vidnega polja pri srednji povečavi (p 100x) smo izračunali po formuli:

$$\frac{\text{srednja povečava}}{\text{mala povečava}} = \frac{\text{premer vidnega polja pri mali povečavi}}{\text{premer vidnega polja pri srednji povečavi}}$$

in smo dobili, da je premer vidnega polja pri srednji povečavi 2000 μm .

Merjenje debeline lasu

Izdelali smo mikroskopski preparat lasu, tako da smo dva lasa dveh različnih oseb položili na objektno stekelce, ju prekržali in prekrili s krovnim stekelcem. Nato smo lase opazovali pri srednji povečavi (p 100x) in ocenili, da je debelina lasu 157 μm .

Merjenje velikosti vinske mušice (*Drosophila melanogaster*)

Opazovali smo preparat vinske mušice in pod srednjo povečavo (p 100x) ocenili, da je premer nejne glave približno 730 μm .

Merjenje velikosti eritrocita

Opazovali smo preparat krvnega razmaza in pri veliki povečavi (p 400x) smo ocenili, da je premer enega eritrocita okoli 7 μm .

Premer vidnega polja pri veliki povečavi smo izračunali po formuli

$$\frac{\text{velika povečava}}{\text{mala povečava}} = \frac{\text{premer vidnega polja pri mali povečavi}}{\text{premer vidnega polja pri veliki povečavi}}$$

Izračunali smo, da je premer vidnega polja pri veliki povečavi (p 400x) 500 μm .

Merjenje velikosti migetalkarja

Na objektnem steklu smo kapljico vode pokrili s krovnim steklom in opazovali preparat. Našli smo več organizmov in pod 400-kratno povečavo ocenili, da je dolžina migetalkarja 71 μm .

Rezultati

tabela 1: velikost vidnega polja

povečava	premer vidnega polja
40x	5000 μm
100x	2000 μm
400x	500 μm

tabela 2: velikost opazovanih objektov

objekt	ocenjena velikost
Debelina lasu	157 μm
Premer glave vinske mušice	730 μm
Premer eritrocita	7 μm
Dolžina migetalkarja	71 μm

Razprava

Pri mikroskopiranju moramo biti zelo natančni, saj se lahko hitro zgodi, da se zaradi napačnega dela poškoduje preparat, stekelce ali mikroskop sam, ali pa dobimo nepravilne rezultate.

Mikroskop obrne sliko dvakrat, in sicer po vertikalni in horizontalni osi. To je zelo pomembno, sploh pri opazovanju živih bitij, saj se gibljejo v popolnoma drugačni smeri, kot vidimo mi. Opazovanje živih organizmov in ocenitev njihove velikosti se je izkazala za najtežjo od nalog, ravno zaradi tega, ker se stalno premikajo in jih moramo stalno iskati.

Vidno polje je pri manjši povečavi večje kot pri večji povečavi, kar pomeni, da se z večanjem povečave zmanjšuje premer vidnega polja, vendar se povečuje razločnost opazovanega predmeta. Vsekakor pa se poveča samo slika predmeta in ne predmet sam.

Taka »merjenja« niso natančna, saj smo napravili več napak pri merjenju. Prva napaka se je pojavljala že pri merjenju vidnega polja pri majhni povečavi s krogci, saj metoda ni zelo natančna, bi pa bila natančnejša s še več različno velikimi krogci. Druga napaka je bila, da smo velikosti objektov ocenjevali samo na podlagi velikosti premera vidnega polja oz. velikosti vidnega polja, pri ocenjevanju pa nismo uporabili nobenih dodatnih merilnih instrumentov. Kljub temu nam je večinoma uspelo dokaj pravilno oceniti velikost objektov (naše rezultate smo primerjali s podatki na internetu). Natančneje bi lahko ocenili velikosti, če bi imeli na stekelcih narisano mikrometrsko mrežo ali če bi videno fotografirali in potem iz fotografije ocenili velikost ob pomoči merilnih instrumentov.

Zmnožek povečave ter premera vidnega polja je pri istem mikroskopu vedno konstanta. Iz tega dejstva smo izhajali pri računanju velikosti vidnega polja za ostale povečave.

Zaključek

Pri mikroskopiranju moramo biti natančni, da ne bi česa poškodovali ali dobili napačnih rezultatov.

Mikroskop obrne sliko dvakrat, kar je zelo pomembno, sploh pri opazovanju živih bitij, ker se premikajo v nasprotni smeri, kot to mi zaznamo.

Vidno polje je pri manjši povečavi večje kot pri večji povečavi. Poveča se slika predmeta in ne predmet sam.

Taka »merjenja« niso natančna zaradi napak pri merjenju.

Zmnožek povečave ter premera vidnega polja je pri istem mikroskopu vedno konstanta.

Z vajo smo dosegli namene in cilje dela.

Literatura

- Kamenšek - Gajšek, Majda, Mozetič, Tanja, in Slapnik, Andreja. 2007. Biologija človeka : Delovni zvezek. Ljubljana: DZS. ISBN 978-86-341-2983-0.
- Metode in tehnike dela, ki jih biologi uporabljajo pri svojem delu [online]. Dostopno na: http://www.svarog.si/biologija/index.php?page_id=7538
- Mikroskop [online]. Dostopno na: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Mikroskop>