

2 Microscopie

1. Uit welke drie hoofdonderdelen zijn alle lichtmicroscopen opgebouwd?

Fundamenteel is een microscoop opgebouwd uit een twee-lenzensysteem, een variabele lichtbron en een mechanisch instelbaar gedeelte om de brandpuntsafstand tussen de lenzen en het onderwerp te regelen.

2. Wat wordt bedoeld met:

condensor: bestaat uit een set lenzen die het licht van de lamp verzamelen en concentreren naar het lenzensysteem toe.

oplossend vermogen: de mogelijkheid van een lens twee aanliggende objecten te tonen als gescheiden objecten.

diafragma: wordt gebruikt om de lichthoeveelheid te regelen.

numerieke apertuur: de functie van de diameter van het objectief in relatie met de brandpuntsafstand. Hoe groter de numerieke apertuur is, hoe groter het oplossend vermogen is en des te kleiner het object is dat nog onderscheiden kan worden.

3. Leg uit waarom de vergroting van een microscoop niet zo belangrijk is als het oplossend vermogen.

Hoewel vergroting heel belangrijk is moet je je realiseren dat onbeperkt vergroten niet mogelijk is door enkel de vergroting van de lenzen te verhogen of door extra lenzen toe te voegen. Lenzen zijn beperkt door een eigenschap die oplossend vermogen wordt genoemd.

4. Zoek op je microscoop de waarde van de numerieke apertuur van het 10× objectief en het 100× objectief.

10x: NA 0,25 100x NA 1,30

5. Waarom gebruik je immersieolie voor het 100× objectief?

Immersieolie heeft dezelfde brekingsindex als glas. Op deze manier komen er meer lichtstralen direct in het objectief, waardoor er een scherp beeld ontstaat met een groot oplossend vermogen.

6. Waarom kun je het oplossend vermogen van een lichtmicroscoop niet vergroten door de golflengte van het licht te verkleinen?

Omdat het zichtbare deel van het elektromagnetische spectrum smal is en de grens van korte golflengte ligt bij het ultraviolette deel van het spectrum.

Experiment 1

Microscopisch onderzoek van gekleurde preparaten

- 1. Waarom mag je niet aan de macroschroef draaien als het 100× objectief voorgedraaid is?**
Kans is groot dat de lens in contact komt met het objectglaasje en beschadigd raakt.
- 2. Waarom mogen de lenzen niet schoongemaakt worden met tissue of met een zakdoek, maar moeten ze schoongemaakt worden met speciaal lenspapier?**
Coating van de lens kan beschadigd worden.

Experiment 2

Microscopisch onderzoek van waterpreparaten

- 1. Zoek in je leerboek biologie de volgende gegevens op van elke groep micro-organismen: de grootte in micrometers, of ze pro- of eukaryotisch zijn en in welk rijk ze worden ingedeeld.**

<i>Micro-organisme</i>	<i>Grootte (μm)</i>	<i>Pro/eukaryoot</i>	<i>Rijk</i>
bacteriën	1-10	pro	monera
cyanobacteriën	1-10	pro	monera
algen	40-60	eu	protisten
protozoën	10-100	eu	protisten
gisten	10-40	eu	fungi
schimmels	50-100	eu	fungi

- 2. Waarin verschillen bacteriën van schimmels?**
bacteriën zijn veel kleiner en hebben geen kern.
- 3. Waarin verschillen schimmels van algen?**
Beiden eukaryoten met celwand, maar schimmels hebben geen bladgroen.
- 4. Waarin verschillen bacteriën van cyanobacteriën?**
Beiden prokaryoten, maar bacteriën hebben geen bladgroen.

Experiment 3

Microscopisch onderzoek van levende bacteriën

- 1. Waarom zijn levende, ongekleurde preparaten van bacteriën moeilijker te bestuderen dan gekleurde preparaten?**

Levende bacteriën zijn klein en kleurloos.

- 2. Voor welke doeleinden is het essentieel om levende bacteriën te bestuderen?**

Om celactiviteiten waar te nemen, zoals beweeglijkheid en binaire deling; om de natuurlijk grootte en vorm van de cellen waar te nemen.

- 3. Wat is het verschil tussen werkelijke beweeglijkheid en Brownse beweging? Waardoor worden deze bewegingen veroorzaakt?**

Brownse beweging is een trillende beweging van de cellen te wijten aan hun bombardement door de watermoleculen in de suspensie. Verplaatsen de bacteriën zich over enige afstand, dan is dit werkelijke beweging. Deze voortbeweging wordt veroorzaakt door een of meer flagellen aan de bacterie.

- 4. Bereken de snelheid van Pseudomonas in kilometers per uur.**

Pseudomonas aeruginosa kan een snelheid bereiken van ongeveer $50 \mu\text{m/s}$. Dit komt overeen met $180.000 \mu\text{m/uur}$ en $0,00018 \text{ km/uur}$.

Experiment 4

Microscopisch meten van micro-organismen

- 1. Kan dezelfde kalibreerfactor worden gebruikt voor de andere objectieven? Leg uit.**

Nee. De absolute afstand tussen elk schaaldeel hangt af van het objectief dat wordt gebruikt. Een sterker objectief vergroot meer.

- 2. Als één schaaldeel van de objectmicrometer overeenkomt met 14 schaaldelen van de oculairmicrometer, wat is dan de afstand tussen twee lijnen van de oculairmicrometer? Geef je berekening aan.**

$0,01 \text{ mm} / 14 \text{ schaaldelen} = 0,0007 \text{ mm} = 0,7 \mu\text{m}$.

- 3. Verwacht je dezelfde metingen voor een bepaald micro-organisme als je de grootte bepaalt in een gekleurd preparaat en in een ongekleurd preparaat? Leg uit.**

Door hittefixatie krimpen cellen enigszins.