

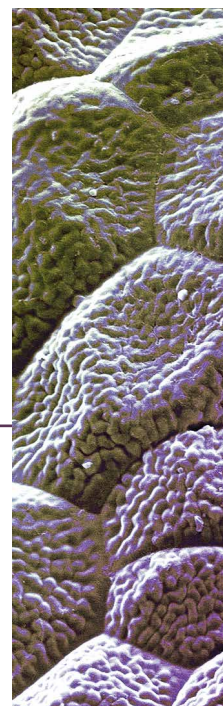


FASCYNUJĄCY MIKROŚWIAT



tekst: dr Agnieszka Sikora

Skaningowa mikroskopia elektronowa to rodzaj mikroskopii elektronowej, w której do badania struktury powierzchni materiałów oraz ich składu chemicznego zamiast wiązki świetlnej wykorzystuje się wiązkę znacznie mniejszą niż długość fali światła widzialnego, czyli wiązkę elektronów, co zapewnia dużo lepszą rozdzielczość niż w mikroskopii świetlnej. Mikroskop elektronowy służy do obserwacji i analizy różnych obiektów – materii organicznej i nieorganicznej w skali od mikro- do nanometrycznej.



Powierzchnia łupiny nasiennej wiesiołka dwuletniego (*Oenothera biennis*), pow. 1000x
/ fot. Jagna Karcz, Bartosz Baran – koloryzacja



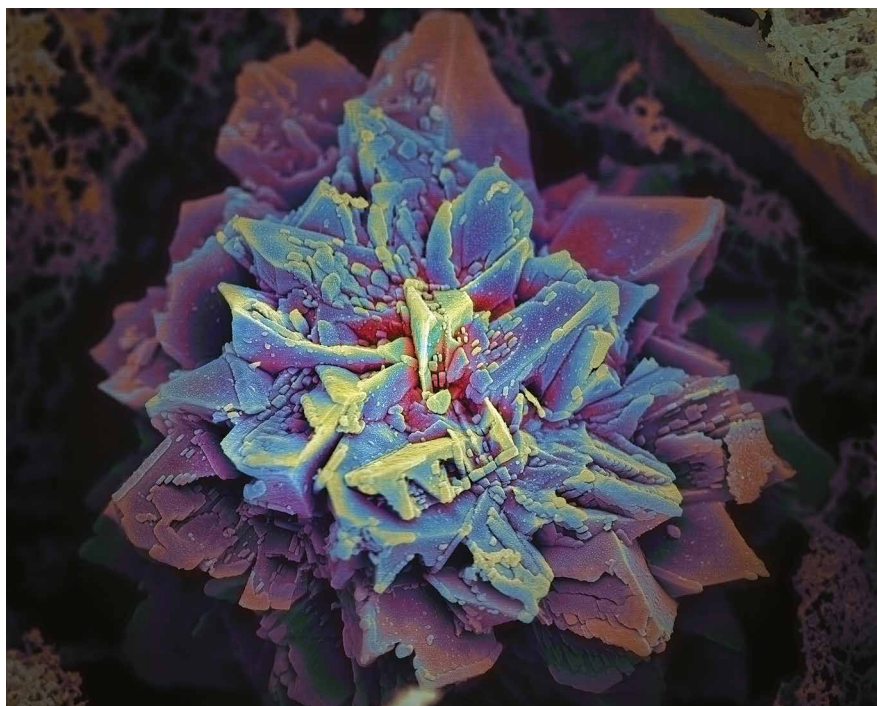
Podstawową i najpowszechniejszą techniką mikroskopową w dalszym ciągu pozostaje mikroskopia świetlna i od niej wszystko się zaczęło. Pierwsze bardzo proste urządzenia mikroskopowe konstruowano już w XVI wieku. Na przełomie XVII i XVIII wieku pojawiły się pierwsze mikroskopy świetlne. Współczesne mikroskopy to urządzenia o wysokim stopniu automatyzacji, zintegrowane z komputerem. Mikroskopia świetlna nie jest przeżytkiem, jest zawsze początkiem obserwacji – również w przypadku mikroskopii elektronowej. Pierwsze czynności, od których naukowcy zaczynają obserwację materii, prowadzone są przy użyciu mikroskopu świetlnego w celu wstępnej oceny materiału, a następnie po odpowiednim przygotowaniu rozpoczynają badania mikroskopem elektronowym. Mają oni do dyspozycji różne mikroskopy świetlne, np. mikroskopy fluorescencyjne, których działanie oparte jest na zjawisku fluorescencji i fosforescencji. Nowatorskim rozwiązaniem w mikroskopii świetlnej są mikroskopy konfokalne, w których do skanowania próbki wykorzystana jest wiązka światła laserowego. Dzięki tej technice analitycznej można badać żywe lub chemicznie utrwalone preparaty biologiczne i tworzyć trójwymiarowe (3D) rekonstrukcje badanego obiektu. Innym typem mikroskopii są mikroskopy sond skanujących. To urządzenia, które do uzyskania obrazu powierzchni

próbki wykorzystują sondę skanującą – przykładem może być mikroskop sił atomowych, który umożliwia uzyskanie trójwymiarowego obrazu powierzchni ze zdolnością rozdzielczą rzędu wymiarów pojedynczego atomu. Dzięki ciągłemu udoskonalaniu technik mikroskopowych naukowcy osiągają coraz większe powiększenia badanych obiektów i coraz dokładniejszą trójwymiarową wizualizację struktury materii.

W przypadku mikroskopii elektronowej zamiast wiązki świetlnej wykorzystuje się wiązkę elektronów. W wyniku interakcji wiązki elektronów z powierzchnią badanej próbki emitowana jest energia pod różnymi postaciami. Każdy rodzaj emitowanej energii jest rejestrowany za pomocą odpowiednich detektorów, a następnie przetwarzany na obraz próbki lub widmo promieniowania rentgenowskiego. Tym obrazem jest właśnie fotografia mikroskopowa, a fotografię skaningową określa się jako mikrofotografię. Oglądany obraz jest obrazem cyfrowym, w odcieniach szarości, powstałym w wyniku różnych technik rejestracji sygnałów emitowanych przez próbkę. Istotne jest to, że fotografia swoją treścią nawiązuje do prowadzonych badań naukowych, a spośród technik tworzenia obrazu nadal jest najbardziej obiektywna.

W mikroskopii elektronowej analizowane są struktury komórek roślinnych i zwierzęcych w bardzo dużych powiększeniach. Obecnie w najnowocześniejszych mikroskopach elektronowych transmisyjnych powiększenia sięgają kilku milionów. W mikroskopach elektronowych skaningowych natomiast – dzięki dużej głębi ostrości i bardzo dużej rozdzielczości w granicach 1 nm – można otrzymywać obrazy niemalże trójwymiarowe (trzeba dodać, że naukowcy mają do dyspozycji programy do obróbki fotograficznej, wzmacniające efekt trójwymiarowy struktury).

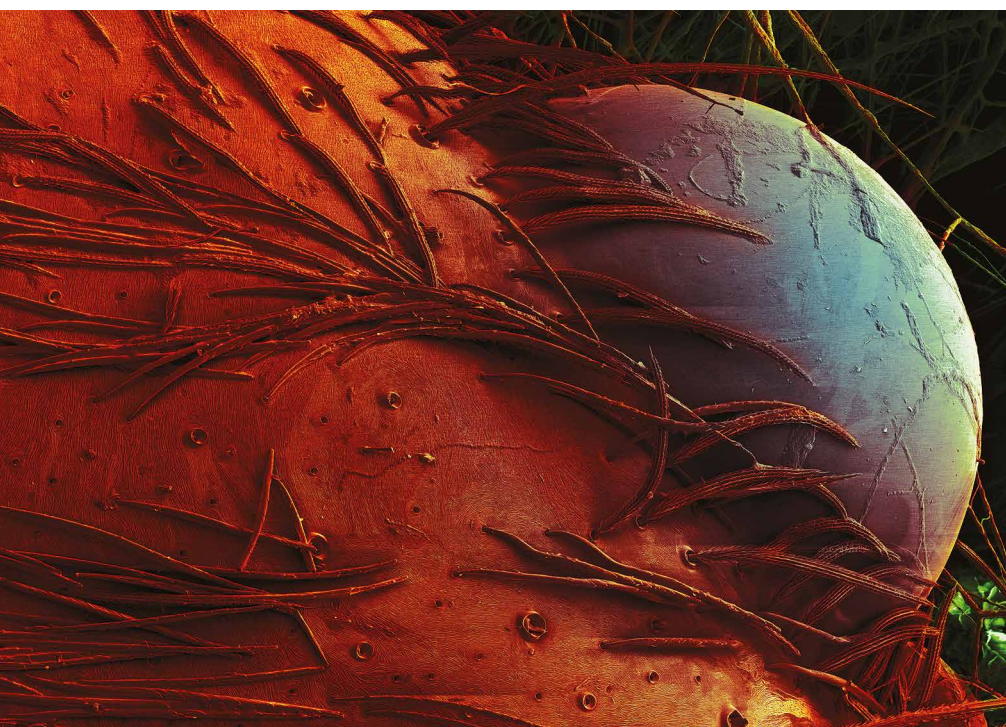
Druza z kryształami szczawianu wapnia w miększu owocu
cieszyńianki wiosennej (*Hacquetia epipactis*), pow. 5000×
/ fot. Jagna Karcz, Bartosz Baran – koloryzacja





Ziarna pyłku sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*), pow. 500×
/ fot. Jagna Karcz, Bartosz Baran –
koloryzacja

Fragment głowy z okiem wilczego
pajaka (*Xerolycosa nemoralis*),
pow. 300× / fot. Jagna Karcz,
Bartosz Baran – koloryzacja



Inną techniką obrazowania jest mikrotomografia komputerowa, która pozwala uzyskać bardzo precyzyjne, trójwymiarowe obrazy badanych obiektów wraz z ich strukturą wewnętrzną i nie wymaga specjalnego przygotowania preparatu. Obecnie powiększenia w mikroskopie skaningowym sięgają około miliona razy, ale są również mikroskopy z najwyższej półki technologicznej, w których powiększenia są znacznie większe. Warto zaznaczyć, że przy powiększeniu rzędu 100 czy 200 tysięcy widoczne są struktury w obrębie badanego obiektu w granicach kilkudziesięciu nanometrów – zazwyczaj takie powiększenie w większości badań jest wystarczające.

Dr Jagna Karcz z Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego prowadzi Laboratorium Skaningowej Mikroskopii Elektronowej (SEM-Lab), gdzie zajmuje się opracowaniem i zastosowaniem metod mikroskopii skaningowej w badaniach różnych obiektów biologicznych, w tym struktur powierzchniowych epidermy roślin podatnych na działanie czynników środowiska. Jest ponadto jednym z nielicznych w kraju specjalistów w zakresie karpologii (dział botaniki badający nasiona i owoce), a także popularyzatorem nauki. Od 2012 roku Laboratorium dysponuje wysokorozdzielczym skaningowym mikroskopem elektronowym z zimną emisją polową, komorą krio i spektrometrem rentgenowskim EDS – jednym z najnowocześniejszych mikroskopów tego typu w Polsce.

Naukowcy z Uniwersytetu Śląskiego analizują różne obiekty biologiczne, w tym tkanki roślinne i zwierzęce, bakterie, zarodniki i pyłki roślin, biomateriały,

ale także polimery, materiał kopalny, a przede wszystkim próbki środowiskowe pobierane w trakcie naukowych wyjazdów w teren. Badany materiał musi być odpowiednio przygotowany – suchy i przewodzący, ponieważ w próżni mikroskopowej narażony jest na niszczące działanie wiązki elektronów. Do dyspozycji badacze mają zatem bogaty i przetestowany na różnym materiale organicznym zestaw procedur chemicznych – poprzez utrwalanie, odwadnianie, suszenie i napylenie mogą tak przygotować próbkę, aby zachować nienaruszoną strukturę analizowanego obiektu. Istotne jest, aby materiał biologiczny był przewodzący, dlatego wymagane jest napylenie próbki cienką warstwą metalu szlachetnego (np. złota). Oprócz tego mikroskop jest wyposażony w system mrozący Cryo, w którym badaną próbkę można zamrozić w ciekłym azocie, a następnie obserwować jej nienaruszoną strukturę. Dodatkowo informację o strukturze powierzchni próbki uzupełnia metoda mikroanalizy chemicznej badanego preparatu. Ponieważ mikroskop jest wyposażony w spektrometr rentgenowski EDS, można równocześnie otrzymać obraz powierzchni danego obiektu, jak również zidentyfikować jego skład chemiczny.

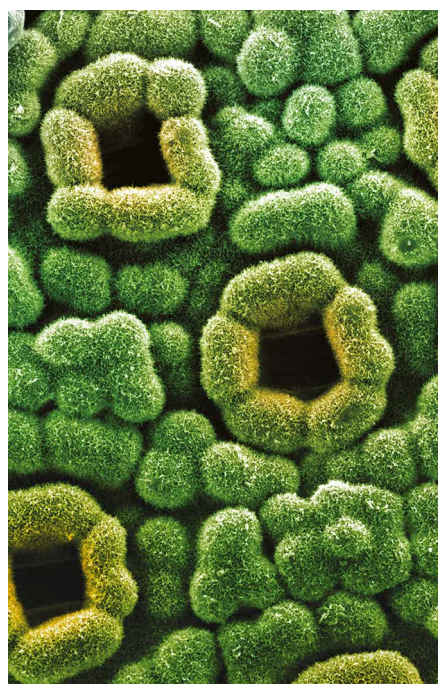
Ciekawym przykładem badań z wykorzystaniem techniki SEM jest analiza procesów degradacji powierzchni tworzyw sztucznych przez mikroorganizmy. Mikrobiolodzy badają m.in. biofilm bakteryjny, zoologowie analizują morfologię owadów w celach taksonomicznych, a botanicy penetrują teren pod kątem oddziaływań środowiskowych na populacje roślinne, np. analizują budowę roślin inwazyjnych w powiązaniu z badaniami molekularnymi.

Dr Jagna Karcz od wielu lat zajmuje się badaniem i fotografowaniem mikroświatów. Warto w tym miejscu dodać, że oryginalne obrazy z mikroskopu elektronowego są czarno-białe z całą gamą szarości, a uzyskano je dzięki elektronom wtórnym emitowanym przez próbkę, w której kontrast związany jest z topografią próbki – partie wypukłe są jasne, a partie wklęsłe – ciemne. Mikrofotografie swoją treścią nawiązują do prowadzonych badań naukowych, jak również

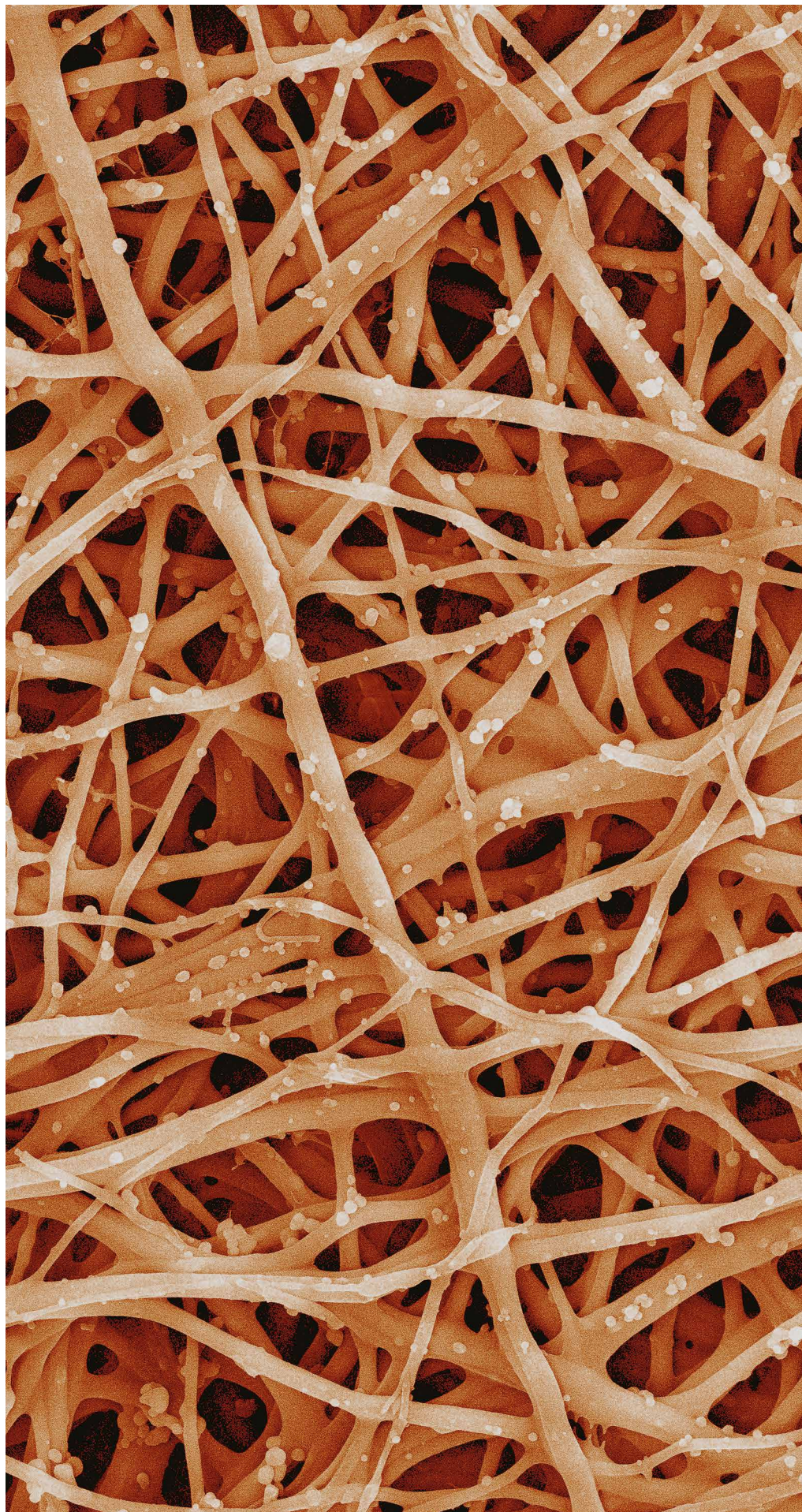
zając dydaktycznych na różnych kierunkach studiów: biologii, biotechnologii, ochronie środowiska. Tematyka obrazów jest bardzo różnorodna. Zobaczyć można powierzchnie naturalne różnych obiektów, czyli w takim stanie, w jakim faktycznie występują w środowisku, ale również zmodyfikowane struktury roślin i zwierząt, które powstały w wyniku oddziaływań środowiskowych (biotycznych i abiotycznych). Można zajrzeć w niezwykłą strukturę sieci pajęczych, które pokazują skomplikowaną konfigurację przestrzenną, a dodatkowo są świetnym materiałem do tworzenia matryc, na których możemy hodować różnego rodzaju komórki zwierzęce. Fotografie pokazują także proces degradacji powierzchni tworzyw sztucznych przez mikroorganizmy oraz misterne konstrukcje szkieletów gąbek występujących w zbiornikach wodnych. Dr Jagna Karcz w swoich fotografiach pokazuje, że nauka może być inspiracją i tematem fotografii, a otaczający nas świat jest fascynujący i nieodgadniony.

i

dr Jagna Karcz
Instytut Biologii,
Biotechnologii
i Ochrony Środowiska
Wydział Nauk
Przyrodniczych
Uniwersytetu Śląskiego



Powierzchnia górna igły cisa pospolitego (*Taxus baccata*), pow. 600x
/ fot. Jagna Karcz, Bartosz Baran – koloryzacja



Wewnętrzna powierzchnia jaja przepiórki, pow. 1000x
/ fot. Jagna Karcz, Bartosz Baran – koloryzacja