به نام حضرت دوست که هر چه داریم از اوست

# گزارش کار: کار با میکروسکوپ

تهیه کنندگان : میلاد باقری احمد احمدی

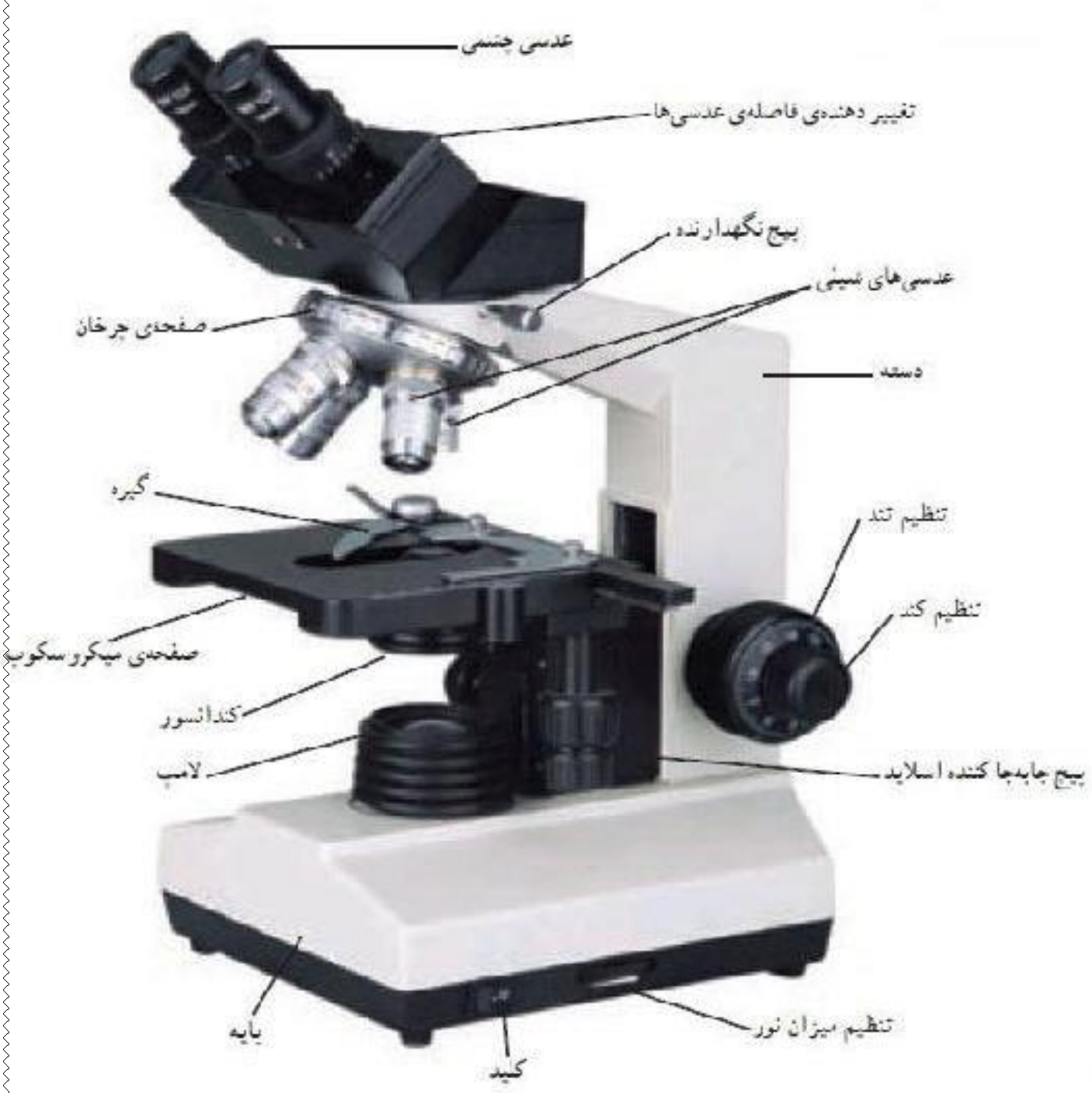
تاریخ تحویل ۱۳۹۳/۷/۲۹

سه شنبه ساعت : ۱۵-۱۷

استاد راهنما : دکتر کریمی

مهندس برهانی

دانشگاه گلستان رشته زیست شناسی


عدسی چشمی
تغییر دهنده‌ی فاصله‌ی عدسی‌ها
پیچ نگهدارنده
عدسی‌های شیئی
صفحه‌ی چرخان
دسته
گیره
تنظیم تند
تنظیم کند
صفحه‌ی میکروسکوپ
کندانسور
لامپ
پیچ جابه‌جا کننده اسلاید
پایه
تنظیم میزان نور
کلید

مقدمه

میکروسکوپ چیست ؟

میکروسکوپ یکی از وسایل آزمایشگاهی اصلی در آزمایشگاه گیاه شناسی است . که در اینجا انواع آن را مورد بحث و بررسی قرار داده و طرز کار با میکروسکوپ نوری معمولی را به تفصیل ارائه مینمائیم.

میکروسکوپهای مختلف دارای بزرگنمائی های متفاوتی میباشند که عموماً با وجود عدسیهای گوناگون، تصویر نمونه مورد نظر چند برابر میشود . اصول کلی در تمامی انواع میکروسکوپها براساس عبور نور با طول موجهای متفاوت از چندین عـــدسی محدب میباشد که هرچقدر طول موج نور بکار رفته در میکروسکوپ مزبور کوتاهتر باشد قدرت تفکیک و یا جـــداکنندگی آن میکروسکوپ بیشتر است . برای مثال قدرت تفکیک چشم انسان ۰/۱ میلیمتر میباشد و میکروسکوپ نوری معمولی 24/0میکرون

میزان بزرگنمایی مفید آن بین ۵۰ تا ۲۰۰۰ برابر مشخص شد. البته می‌توان میکروسکوپ‌هایی با بزرگنمایی بیش از ۲۰۰۰ برابر ساخت. مثلاً قدرت عدسی چشمی را بیشتر کرد. اما قدرت تفکیک نور ثابت است و درنتیجه حتی بزرگنمایی بیشتر می‌تواند دو نقطه از یک شی را بهتر تفکیک کند. هر چه بزرگنمایی شی افزایش یابد به میزان پیچیدگی آن افزوده می‌شود. بزرگنمایی شی در میکروسکوپهای تحقیقاتی جدید معمولاً X۳، X۶، X۱۰، X۱۲، ۴۰ Xو ۱۰۰ Xاست. در نتیجه بزرگنمایی در این میکروسکوپ بین ۱۸ تا ۱۵۰۰ برابر است. چون بزرگنمایی میکروسکوپ نوری بدلیل وجود محدودیت پراش از محدوده معینی تجاوز نمی‌کند برای بررسی بسیاری از پدیده‌هایی که احتیاج به بزرگنمایی خیلی بیشتر دارند مفید است. تحقیقات بسیاری صورت گرفت تا وسیله دقیق تری با بزرگنمایی بیشتر ساخته شود. نتیجه این پژوهشها منجر به ساختن میکروسکوپ الکترونی شد.

انواع میکروسکوپ از نظر نوع آشکارساز

میکروسکوپ‌های الکترونی

میکروسکوپ الکترونی روبشی

میکروسکوپ الکترونی عبوری

میکروسکوپ نوری

میکروسکوپ نوری عبوری

میکروسکوپ نوری بازتابی

میکروسکوپ‌های پراب پویشی

میکروسکوپ نیروی جانبی

میکروسکوپ نیروی اتمی

میکروسکوپ نیروی مغناطیسی

میکروسکوپ تونلی پویشی

میکروسکوپ میدان نزدیک نوری

میکروسکوپ ولتاژ پویشی

انواع میکروسکوپ آشکارساز

میکروسکوپ نوری

با توجه به گسترش روز افزون میکروسکوپها در شاخه‌های مختلف علوم پزشکی و صنعت هر روزه شاهد پیشرفتهای مختلف در صنعت میکروسکوپها می‌باشیم. این پیشرفتها شامل پیشرفت سیستم روزی طراحی اجزای مکانیکی ، پایداری استحکام و راحتی در استفاده از آنها می‌باشد. میکروسکوپهای نوری معمولی که در تحقیقات بیولوژیکی و پزشکی بکار می‌روند دو دسته می‌باشند. یک دسته دارای چشمه نوری مجزا از میکروسکوپ می‌باشند و دسته دوم میکروسکوپهایی می‌باشند که دارای چشمه نوری تعبیه شده در میکروسکوپ می‌باشند.

میکروسکوپهای معمولی مدرن مورد استفاده از نوع دوم می‌باشد و تقریبا ساخت و استفاده نوع اول منسوخ شده است.

اجزای اصلی میکروسکوپ نوری

پایه

یک قطعه شامل یک بخش پایین به صورتهای مختلف و گاهی بصورت نعل اسبی می‌باشد که بر روی میز محل مطالعه قرار می‌گیرد. پایه دارای ستون می‌باشد که اجزا مختلف به آن متصل می‌شود، وزن پایه نسبتا زیاد است و اجزائی که بر روی پایه سوارند عبارتند از: چشمه نور و حرکت دهنده لوله میکروسکوپ.

لوله

میکروسکوپهای مختلف تک چشمی (monocular) و یا دو چشمی (binocular) می‌باشند، وقتی به مدت طولانی می‌خواهیم از میکروسکوپ استفاده کنیم دو چشمی بهتر است، چون مانع خستگی چشم می‌باشد. لوله شامل دو گروه عدسی به نامهای چشمی و شیئی است.

عدسیهای شیئی

در میکروسکوپهای معمولی چهار عدسی شیئی بر روی صفحه چرخان نصب شده که ویژگیهای این عدسیها بصورت زیرا است:

عدسی شیئی آکروماتیک X10 (۱۶ میلیمتری با N.A = 0.3)

عدسی شیئی آکروماتیک X40 (۴ میلیمتری با N.A = 0.65)

عدسی فلورئیت X45 (۳۵ میلیمتری)

عدسی آکروماتیک X90 (۲ میلیمتری و N.A = 1.2)

دو عدسی اول در حالت خشک و دو عدسی بعدی در حالت ایمرسیون روغنی مورد استفاده قرار می‌گیرند. وظیفه عدسی شئی تهیه تصویر بزرگ شده از شیئی مورد نظر است عدسیهای شیئی وقتی

به صورت خشک بکار می‌روند، دارای N.A زیاد نمی‌باشند و لذا مدت تفکیک آنها است. استفاده از روش ایمرسیون روغنی می‌تواند موجب افزایش N.A و افزایش روزلوشن شود. عدسیهای شیئی معمولا بصورت عدسیهای مرکب می‌باشند. کیفیت در عدسیهای شیئی وابسته به شدت روشنایی تصویر می‌توان تفکیک می‌باشد.

عدسیهای چشمی

وظایفی که چشمی بر عهده دارند عبارتند از: بزرگ سازی تصویر معکوس حاصله از عدسی شیئی ، تشکیل تصویر مجازی از تصویر حاصله بوسیله عدسی شیئی ، اندازه گیری و سنجش اجزا واقع در تصویر. چشمیها دارای انواع مختلفی می‌باشند که دو نوع معروف و معمول آنها عبارتند از چشمی هویگنس (Huygenian) و چشمی رامزدن (Ramsden)

سیستم روشنایی

میکروسکوپها دارای محدودیتهای متعددی می‌باشند و لیکن در عمل اغلب روشنایی میکروسکوپ موجب محدودیت اصلی می‌شود. بنابراین تلاشهای زیادی در تهیه روشنایی و روش تهیه روشنایی مناسب برای میکروسکوپها گردیده است. پس تهیه نور مناسب می‌تواند نقش اساسی در وضوح تصویر داشته باشد. روشنی محیط نمی‌تواند برای تهیه تصویر مناسب و کافی باشد، لذا در تهیه روشنایی حتما باید از لامپها و چشمه‌های مصنوعی نوری استفاده می‌شود. لامپهای مورد استفاده در میکروسکوپها عبارتند از:

• لامپ هالوژن: این لامپ نور سفید ایجاد می‌کند و متشکل از یک رشته تنگستن در گاز هالوژن می‌باشد. حاصلضرب شدت نور حاصله در طول عمر این لامپ تقریبا ثابت است. از لحاظ قیمت در مقایسه با لامپ جیوه و گزنون ارزانتر می‌باشد و برای کارهای فتومیکروگرافی مفید است.

• لامپ تنگستن: این لامپها در میکروسکوپهای ارزان قیمت و آموزشی بکار می‌روند.

• لامپ گزنون: این نوع لامپ یک لامپ تخلیه الکتریکی است. این لامپها دارای پایداری بیشتری نسبت به لامپهای جیوه‌ای می‌باشند.

• لامپ جیوه‌ای: این لامپ همانند لامپ گزنون از طریق تخلیه الکتریکی ایجاد نور می‌نماید. لامپ جیوه‌ای حاوی مقدار کمی جیوه است که در اثر یونیزه شدن هوای داخل لامپ ، یونهای تولید شده موجب تبخیر و یونیزه شدن جیوه‌ها می‌شوند.

کندانسور

وظیفه کندانسور متمرکز سازی نور بر روی نمونه می‌باشد. کندانسور در زیر Stage که محل قرارگیری نمونه است واقع می‌شود.

• کندانسور آبه: این نوع کندانسور عموما در میکروسکوپهای معمولی بکار می‌روند. در این نوع کندانسورها دو عدسی بکار رفته است و دارای قیمت ارزان می‌باشند. این کندانسورها با عدسیهای شیئی و آکرومات CF با بزرگنمایی x۴ تا x۱۰۰ برای مشاهدات عمومی و کاربردهای تشخص مفید می‌باشند.

• کندانسور با عدسی متحرک: این کندانسور برای فتومیکروگرافی همراه با عدسی‌های شیئی و پلن آکرومات از نوع CF مفید می‌باشند.

• کندانسور آکرومات: این گروه کندانسور در مشاهدات و فتومیکروگرافی مورد استفاده قرار می‌گیرد این نوع کندانسور با عدسیهای شیئی x۴ تا x۱۰۰ می‌تواند بکار رود.

کندانسور آکرومات – آپلانت: این نوع کندانسور را پایه همراه با عدسی های شیئی آپوکرومات بکار برد این کندانسور ها برای فتومیکروگرافی جهت تصویرگیری از اجزا بسیار ریز بسیار مفید می باشد.

• کندانسور جهت عدسیهای شیئی با توان کم ، که این نوع کندانسور معمولا در بزرگنماییهای بسیار پایین مثل عدسی شیئی با بزرگنمایی x۴ تا x۴۶۰ مفید هستند.

چگونگی تشکیل و مشاهده تصویر اکثرا اشیایی که توسط میکروسکوپ مشاهده می‌شوند نسبت به نور شفاف می‌باشند و اجزای آنها تنها وقتی قابل مشاهده می‌باشند که این اجزا نسبت به

زمینه دارای کنتراست (کنتراست در شدت و یا رنگ) باشند. وقتی که نور سفید به یک جسم قرمز بتابد، تمامی طول موجهای موجود در نور سفید بجز نور قرمز در آن جذب می‌شود. بنابراین یک جسم با ناحیه قرمز را در یک زمینه سفید بخاطر آنکه دارای کنتراست رنگی می‌باشد می‌توان دید.

عدسی شیئی در میکروسکوپ که یک عدسی همگرا با فاصله کانونی کوچک است، تصویر حقیقی و وارونه و بزرگتر از شیئ را تشکیل می‌دهد. برای این منظور شیئ باید بین کانون عدسی شیئی و قرار گیرد، توان عدسی شیئی بزرگتر از توان عدسی چشمی است و تصویر اول را بزرگتر می‌کند (عدسی چشمی مثل ذره بین عمل می‌کند) و تصویر حاصل از عدسی شیئی باید در فاصله کانونی عدسی چشمی باشد. از این شیئ ، تصویر مجازی نهایی تشکیل می‌شود که بزرگتر است.

میکروسکوپ الکترونی (Electron Microscopy)

میکروسکوپ الکترونی نوعی میکروسکوپ مرکب است. اولین میکروسکوپ مرکب ، احتمالا در سالهای ۱۶۰۰ میلادی توسط دو نفر هلندی به نام هانس و زاکاریاس جنس ساخته شد. درسال ۱۸۷۳ ارنست آبه ثابت کرد که برای تشخیص دقیق دو ذره نزدیک به هم ، طول موج نور نباید بیشتر از دو برابر فاصله دو ذره از یکدیگر باشد. بالاخره درسال ۱۹۳۹ اولین میکروسکوپ الکترونی ساخته شد.

عملکرد هر اجزا به طور خلاصه

- یک یا دو عدد عدس ی چشمی : به وسیله آن می توان نونه مورد نظر را مشاهده کرد

۲ - دسته : به وسله آن میکوسکوپ را برداشته و جا به جا می کنیم

۳ - خط کش مدرج : به وسیله آن مختصات طولی و عرض ی یک ناحیه را مشخص میکنیم

۴ - کلید برق : روشن نمودن منبع نور که شامل یک عدد لامپ می باشد

۵ - پیچ تنظیم شدت نور : به وسیله آن نور لامپ کم یا زیاد می شود

۶ - پیچ حرکات طولی و عرض ی : به وسیله این پیچ لام را به بالا و پایین حرکت می دهیم

۷ – پیچ ماکرو یا حرکت تند : به وسیله این پیچ فاصه عدس ی تا لام را می توان تغییر داد

۸ – پیچ میکرو یا حرکت کند : طرز کار این پیچ مثل پیچ ماکرو می باشد با این تفاوت که تغییر فاصله عدس ی تا لام

بسیار جزیی است و فقط برای ایجاد وضوح بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد

۹ – پایه : سایر اجزای میکروسکوپ به این قسمت متصل می شوند

۱۰ – منبع نور : نور لازم جهت مشاهده نمونه را ایجاد می کند

۱۱ – دیافراگم : برای تنظیم میزان نوری که به لام می رسد مورد استفاده قرار می گیرد

۱۲ – پایه پلاتینی : محلی است که لام رو آن قرار میگیرد

۱۳ – گیره شاریو : برای نگهداری لام مورد استفاده قرار می گیرد

۱۴ – عدس ی شیئی : چهار نوع از این عدس ی در یک میکروسکوپ وجود دارد . نوری که از لام عبور می کند ابتدا به این عدس ی می رسد و با توجه به نوع آن عدس ی بزرگ نمایی آن تغییر می کند

۱۵ –صفحه گردان : به وسیله این قسمت می توان عدس ی را تغییر داد

مکانیزم

میکروسکوپ مرکب از یک لوله تشکیل شده که در دو انتهای آن دو عدسی شئی نزدیک به شی مورد مطالعه و عدسی چشمی قرار دارد. تصویری که توسط عدسی شئی بوجود می‌آید، بوسیله عدسی چشمی بزرگتر می‌شود. به این جهت بزرگنمایی آن بیش از قدرت یک عدسی است. در میکروسکوپهای پیشرفته ، دستگاه نوری پیچیده تر است. بدین ترتیب که در آنها علاوه بر لامپ ، یک کندانسور (مجموعه عدسیهای متمرکز کننده نور) و یک دیافراگم که شدت نور را کنترل می‌کند، قرار داده شده است. لامپی که در این نوع میکروسکوپها مورد استفاده قرار می‌گیرد، با ولتاژ کم کار می‌کند. لامپهای فراوانی برای این منظور وجود دارند که هرکدام نوری با شدت و طول

موج مورد نظر تامین می‌کنند. بنابراین برای تفکیک دو نقطه نزدیکتر از ۲۵۰۰ آنگستروم باید از میکروسکوپ الکترونی استفاده کرد.

زیرا طول موج الکترون از طول موج نور کمتر است. اولین میکروسکوپ الکترونی که ساخته شد، درست مانند میکروسکوپ نوری که شعاع نور را از داخل نمونه مورد مطالعه عبور می‌دهد، شعاع الکترون را از داخل مقطع بسیار نازکی عبور می‌دهد. چون تراکم مواد در تمام قسمتهای نمونه مورد مطالعه یکسان نیست، میزان الکترونی که از قسمتهای مختلف عبور می‌کند متفاوت است. درنتیجه تصویری از قسمتهای تاریک و روشن آن بدست می‌آید. میکروسکوپ الکترونی دارای یک قسمت لوله‌ای شکل است که الکترون می‌تواند آزادانه از آن عبور کند. در قسمت بالای لوله یک قطب منفی الکتریکی به شکل رشته سیم نازک وجود دارد که جنس آن از تنگستن است. این قسمت آنقدر حرارت داده می‌شود تا بتواند از خود الکترون آزاد کند.

این عمل با ایجاد اختلاف پتانسیل از ۲۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ ولت بین کاتد و آند صورت می‌گیرد. در نتیجه یک شعاع الکترونی بسوی پایین قسمت لوله‌ای شکل شتاب داده می‌شود. به این سیستم تفنگ الکترونی می‌گویند. در طول لوله عدسیهایی همگرا اندازه و روشنایی شعاع الکترونی را قبل از برخورد با نمونه مورد مطالعه کنترل می‌کنند. مقطع مورد بررسی روی یک صفحه مشبک دایره شکلی قرار داده می‌شود. شعاع الکترونی پس از عبور از مقطع و قبل از این که به حد بزرگنمایی نهایی برسد، از میان عدسیهایی شئی عبور کرده و تنظیم می‌شود. سپس توسط عدسیهایی بر روی صفحه زیر میکروسکوپ منعکس می‌شود. چگالی بزرگنمایی بیشتر میکروسکوپها از ۵۰ تا ۸۰۰۰۰۰ برابر است. صفحه زیر میکروسکوپ از مواد فسفردار (فسفید روی) پوشانیده شده که در مقابل پرتو الکترون از خود نور تولید می‌کند. در زیر این صفحه یک دوربین عکاسی قرار دارد که از تصویر روی صحنه عکس می‌گیرد.

اطلاعاتی که میکروسکوپ الکترونی ارائه می‌دهد.

• توپوگرافی شی (نقشه برداری): در این کار با آشکار کردن مشخصات سطح و بافت داخلی شی ، می‌توان به خواصی مانند سفتی و میزان ارتجاعی بودن آن پی برد.

• مورفولوژی (زیست شناسی): به دلیل اینکه در این رویت شکل و سایر ذرات مشخص است، می‌توان به نیروی استحکام پی برد.

• ترکیب: این میکروسکوپ می‌تواند عناصر سازنده شی را مشخص نماید. بنابراین می‌توان به خواصی مانند نقطه ذوب ، اکتیویته شی دست یافت.

• بلور شناسی: میکروسکوپ الکترونی چگونگی چیده شدن اتم را در مجاورت یکدیگر نشان می‌دهد. به این ترتیب می‌توان آنها را از نظر رسانایی و خواص الکتریکی بررسی نمود.

• میکروسکوپ فلورسانت (fluorescent microscope)

• انواع خاصی از میکروسکوپ نوری که منبع نور آن پرتوهای فرابنفش است.برای مشاهده نمونه زیر این میکروسکوپ ها بخش ها یا ملکول های ویژه داخل سلول با مواد فلورسانت یا نورافشان رنگ آمیزی می شوند. زمانی هدف تشخیص پروتئین های خاص یا جایگاه آنها در سلول باشد، روش های معمولی رنگ آمیزیکه پروتئین ها را به طور عام رنگ می کنند قابل استفاده نیست.برای رنگ آمیزی اختصاصی، معمولا از پادتن های اختصاصی متصل به مواد فلورسانت استفاده می شود.مواد فلورسانت نور را در طول موج فرابنفش جذب می کنند و در طول موج بلندتری در طیف مرئی تابش می کنند. تصویری که دیده می شود حاصل نور تابش شده از نمونه است. رودامین و فلورسئین دو نوع از رنگ های معمول فلورسانت هستند که به ترتیب نور قرمز و سبز از خود تابش می کنند.

• میکروسکوپ اختلاف فاز (phase contrast microscope)

• مزیت میکروسکوپ اختلاف فاز در این است که می توانیم با آن سلول های زنده را با جزئیات بیشتر مشاهده کنیم.تیمارهایی مثل تثبیت نمونه می توانند دگرگونی هایی در ساختار درونی سلول بوجود آورند. بنابراین مطاله سلوله های زنده که هیچ تیماری ندیده اند خیلی مطلوب است. می توان فرایند هایی مثل تقسیم میتوز(mitosis) در سلول های زنده را نیز با این میکروسکوپ ها مطالعه کرد. در برخی موارد برای عکس برداری پیوسته و دراز مدت از سلول فعال ، دوربینی به میکروسکوپ وصل می شود.مطالعه سلولهای زنده با میکروسکوپ تداخلی( interference

microscope) و میکروسکوپ زمینه سیاه(dark field microscope) نیز مقدور است. سیسم های نوری خاصی در تمام این نوع میکروسکوپ ها وجود دارد که به علت ویژگی آنها تباین کافی بین اجزای سلول ایجاد و مشاهده ی سلول های زنده مقدور می شود. استفاده از میکروسکوپ زمینه سیاه برای مشاهده ی حرکت باکتری معمول است، که در این مورد ایجاد تباین بین سلول باکتری زنده و محیط اطرافش مهم است.

• میکروسکوپ الکترونی نگاره (scanning electron microscope) نوع ساده تر میکروسکوپ الکترونی است برای بررسی نمونه با این میکروسکوپ ، نمونه با لایه ای نازک از فلز سنگین به صورت یکنواخت پوشیده شود. الکترون های تابیده شده به سطح نمونه از هیچ ناحیه ای از آن عبور نمی کنند، بلکه در برخورد با سطح نمونه باعث تولید الکترون های بازتابیده می شوند. این الکترون ها تشخیص داده شده و تصویری سه بعدی از سطح نمونه حاصل می گردد. قدرت جداسازی میکروسکوپ الکترونی نگاره حدود nm10 است.

• میکروسکوپ STM و میکروسکوپ پرتو X

• STM حروف اول Scanning Tunneling Microscope است این نوع میکروسکوپ در دهه ۱۹۷۰ اختراع شد و مخترعان آن در سال ۱۹۸۱ جایزه نوبل را دریافت کردند.همانطور که گفته شد طول موج محدودیتی برای میزان R تعیین می کند. نوآوری STM در این است که در آن امواج نوری یا امواج نوع دیگر به کار گرفته نمی شودو هیچ نوع عدسی در آن وجود ندارد.بیان دقیق نحوه کار این میکروسکوپ خارج از توان این مطلب است ولی به طور خلاصه سوندی که نوک آن به اندازه یک اتم است، ویژگی های نمونه را در ابعاد اتمی روبش می کند. STM ساختار سطحی نمونه را بررسی می کند.اما میکروسکوپ مشابه دیگر ویژگی های الکتریکی ، مغناطیسی و یا دمای نمونه را تعیین می کنند. در حال حاضر این میکروسکوپ ها برای نمونه های زیستی و بیشتر برای نمونه های غیر زیستی مورد استفاده قرار می گیرند.

• میکروسکوپ پرتو X نوع دیگری از میکروسکوپ های نوین است که کاربرد بیشتری برای نمونه های زیستی دارد. قدرت جداسازی آن چند صد آنگستروم و ضعیفتر از میکروسکوپ الکترونی است ، اما سلول های زنده با آن قابل بررسی هستند.

میکروسکوپ ماوراء بنفش ( Ultra Violet Microscope )

میکروسکوپ ماوراء بنفش یا میکروسکوپ U.V. که منبع تغذیه نور ، اشعه U.V. میباشد. نسبت به میکروسکوپ نوری معمولی قدرت تفکیک بالاتری داشته چراکه اشعه ماوراء بنفش طول موج کوتاهتری نسبت به نور مرئی دارد . عدسی شیئی بکار رفته در این میکروسکوپ از جنس کوارتز میباشد. بدلیل مضر بودن اشعه ماوراء بنفش برای چشم انسان، از تصویر شیء عکسبرداری شده و سپس بر روی صفحه مانیتور قابل مشاهده است ( قدرت تفکیک ۶۰۰ آنگستروم ).

میکروسکوپ زمینه سیاه ( Dark Field Microscope )

منبع تغذیه نور در این نوع میکروسکوپ نور مرئی میباشد و با ایجاد انکسار نور توسط آئینه های محدب و مقعر شیء یا نمونه مورد بررسی، شفاف و نورانی در زمینه سیاه دیده میشود.

اجزای میکروسکوپ نوری

۱- اجزای نوری : اجزای نوری عمدتاً مشتمل بر منبع تغذیه نور و قطعات مرتبط با آن میباشد ، از قبیل لامپ با ولتاژ ۲۰ وات ، فیلتر تصحیح نور و کندانسور که کندانسور مشمل بر پنج قطعه است که نور را تصحیح کرده و بر روی نمونه یا شیء مورد بررسی متمرکز میکند:

۱ – فیلتر رنگی ( تصحیح نور ) ۲ – دیافراگم که حجم نور را تنظیم میکند

۳ – دو عدد عدسی محدب ۴ – پیچ نگهدارنده کندانسور ۵ – پیچ تنظیم دیافراگم

اجزای مکانیکی :

۱ – پایه ( Base ) : کلیه قطعات میکروسکوپ بر روی پایه مستقر میباشد . در برخی از مدلهای میکروسکوپ نوری منبع نور ، فیوز و کابل برق در پایه تعبیه میگردد .

۲ – دسته ( Handle ) : جهت حمل و نقل میکروسکوپ از دسته استفاده میشود . نکته قابل توجه آنکه به هنگام جابجایی میکروسکوپ آن را روی میز کار نمی کشیم .

۳ – لوله میکروسکوپ ( Barrel ): مشتمل بر عدسی شیئی ( Ocular lens ) و عدسی چشمی (Objective lens) که با بزرگنـمائی های مختلف طراحی می شوند. عـدسی شیـئی دارای بزرگنمائی های X4، X10، X40، X60 و X100 و عدسی چشمی دارای بزرگنمائی های X10، X15، X18 میباشد که بسته به نوع میکروسکوپ متفاوت است. عدسی شیئی معمولاً از چندین عدسی محدب که در آن تعبیه شده است تشکیل میگردد.

۴ – صفحه گردان یا متحرک ( Revolver ) : عدسیهای شیئی بر روی این صفحه قرار میگیرند و با چرخاندن آن موقعیت عدسیهای شیئی تغییر میکند.

۵ – پیچ حرکات تند ( Macrometrique ) : این پیچ بر روی دسته تعبیه شده است و باعث میگردد که صفحه پلاتین با سرعت بیشتری در جهت عمودی جابجا شود.

۶ – پیچ حرکات کند ( Micrometrique ) : این پیچ بر روی پیچ حرکات تند قرار داد و صفحه پلاتین را در جهت عمودی و درحد میکرون جابجا میکند .

۷ – صفحه پلاتین ( Platine plate ) : صفحه ای است که نمونه مورد نظر روی آن قرار میگیرد و در جهت طول و عرض دارای دو خط کش مدرج میباشد که جهت ثبت و یادداشت مکان یک نمونه خاص بکار میرود .

۸ – پیچ طول و عرض : این پیچ زیر صفحه پلاتین قرار دارد که آن را در جهت طول و عرض جابجا میکند .

بزرگنمائی یک میکروسکوپ حاصل ضرب بزرگنمائی عدسی شیئی در بزرگنمائی عدسی چشمی میباشد .

بنابر این تفاوت های برجسته ی دو میکروسکوپ الکترونی و نوری عبارتند از :

میکروسکوپ نوری:

۱- منبع تابش نور است و طول موج آن ۴۰۰تا۷۰۰ nm می باشد

۲- لنز آن‌از جنس شیشه است.

۳- تحت‌تاثیر میدان مغناطیسی نمی باشد.

۴-بیشترین بزرگنمایی ۱۵۰۰-۲۰۰۰ برابر می باشد.

۵- قدرت تفکیک آن ۰,۱-۰,۲ می باشدnm

۶-تصویر بصورت رنگی می باشد (رنگ طبیعی نمونه‌مشاهده می شود)

۷- بزرگنمایی‌با تغییر نوع عدسی که بر صفحه گردان نصب شده، انجام می‌شود.

۸- منبع‌تابش زیر آنها قرار دارد.

میکروسکوپ الکترونی:

۱- منبع تابش ، الکترون می باشد که طول موج آن‌حدود ۰,۰۰۵nmمی باشد

۲-عدسی‌هااز مواد فرو مغناطیسی و یک سیم پیچ مسی ساخته‌شده‌اند و با تغییر جریان در سیم پیچ، فاصله کانونی آنها تغییر میکند.

۳-بزرگنمایی با تغییر فاصله کانونی عدسی‌ها انجام‌می‌شود.

۴-منبع تشعشع روی آنها قرار دارد.

۵- در خلاء کار می‌کنند (چرا که مسیر آزاد الکترون‌ها در هوا بسیار کم است)

۶- بخاطروجود خلاء موجودات زیستی در زیر میکروسکوپ می‌میرند

۷- تحت‌تاثیر میدان مغناطیسی می باشد.

۸-بیشترین بزرگنمایی۱۶۰۰۰۰- ۲۵۰۰۰۰ برابر می‌باشد.

۹- قدرت‌تفکیک آن ۲۰۰-300 nm می باشد

۱۰- تصویر آن‌سیاه و سفید می باشد.

۱)دلیل استفاده از روغن ایمرسیون چیست؟

در بزرگنمایی های بالا که به نور بیشتری نیاز است از شرایط ایمرسیون استفاده می شود که ضمن آن مایع موجود در فاصله فرونتال کار یک عدسی محدب را انجام می دهد.چون ضریب شکست محیط ایمرسیون از لام شیشه ای بیشتر است ,پرتو های نوری را همگرا کرده,به ابژکتیو می رساند.به این ترتیب از هدر رفتن پرتو جلوگیری می شود و تصویر واضح تری به دست می آید.

دلیل استفاده از لامل برای مشاهده نمونه چیست؟

وظیفه‌اصلی لامل فیکس و مسطح کردن نمونه های جامد و نمونه های مایع (به صورت لایه ای صاف وهموار) می باشد. این‌امردر میکروسکوپ هایی با قدرت تفکیک بالا بسیار حائز اهمیت می باشد زیرا این میکروسکوپ ها بر ناحیه بسیار کوچک وباریکی متمرکز می شوند. لامل ضخامتی صاف و مسطح را برای مشاهده‌فراهم می کند.

لامل‌دارای وظایف دیگری نیز می باشد، این وسیله نمونه را به صورت ثابت و بی حرکت نگاه‌داشته و نمونه را در برابر گرد وغبارضربه های ناگهانی محافظت می کند. همچنین مانع از تماس لنز شیئی با نمونه می شود. به هنگام مشاهده ی نمونه باروغن ایمرسیون و یا ایمرسیون آب ، لامل مانع از تماس مایع ایمرسیون‌با نمونه می شود.

لامل رامی توان با استفاده از چسب به لام چسباند و از این طریق مانع از نفوذ آب به نمونه واکسیداسیون و دهیدراسیون آن شد.

۲)انواع شیشه هایی که در ساخت عدسی به کار می روند نام برده و کاربرد آنها را بنویسید.

کرون: برای ساخت عدسی های محدب الطرفین( زیرا قدرت پراش آن کم می باشد.)

فلنیت: برای ساخت عدسی های مقعر الطرفین( زیرا قدرت پراش آن زیاد می باشد.)

فلوئورین: برای ساخت عدسی های محدب الطرفین و مقعرالطرفین.

کوارتز: برای ساخت عدسی های محدب الطرفین و مقعرالطرفین( این نوع عدسی از سایرین بهتر است و در میکروسکوپ های UV نیز استفاده می شود.

۳)اعداد روی لوله های عدسی شیئی نمایانگر چه مفاهیمی می باشند؟

بزرگنمایی، مدخل روزنه، شماره سریال، طول لوله میکروسکوپ، ضخامت لامل مناسب.

ج) لامل :

صفحه شیشه ای بسیار نازک با ابعاد مختلف استاندارد که روی لام قرار می گیرد و برای مطالعه لام زیر میکروسکوپ از لامل استفاده می شود

چرابابد در زیر لامل آب وجود داشته باشد؟

این‌کار برای جلوگیری از خشک شدن نمونه و همچنین کمک به عبور بهتر و مستقیم نور ازمیان آن می باشد.

روش کار با میکروسکوپ :

قبل از شروع کار باید لنز میکروسکوپ را روی ضعیف ترین عدس ی یعنی عدس ی شماره 4 قرار دهیم . سپس لامپ میکروسکوپ را روشن کرده و از طریق دیافراگم یا پیچ رادیویی که در زیر صفحه پلاتینی میکروسکوپ قرار دارد شدت نوری که به لام می رسد را تنظیم می کنیم .

.سپس نوبت به تنظیم عدسی شیئی می رسد .اولین عدس ی که ما از آن استفاده میکنیم عدسی شماره 4 می باشد . با چرخاندن پیچ ماکرو عدسی شیئی بالا و پایین می رود . به وسیله پیچ ماکرو باید آن قدر لنز را بالا و پایین ببریم تا تصویری هر چند غیر واضح ایجاد شود . سپس برای اینکه وضوح تصویر را انجام دهیم از پیچ میکرو استفاده می کنیم . طرز کار پیچ میکرو و ماکرو مثل هم می باشد با این تفاوت که پیچ میکرو عدسی شیئی را خیلی آهسته تر حرکت می دهد و ما با استفاده از آن می توانیم تصویر واضح ایجاد کنیم . به وسیله پیچ حرکات طولی و عرض ی می توانیم قسمت های دیگر لام را هم مشاهده کنیم و به وسیله خط کش مدرج می توانیم مختصات آن نقطه را یادداشت نماییم تا در موقع لزوم دباره به آن نقطه برویم و نمونه را مشاهده کنیم. سپس نوبت به تغییر لنز می رسد .

اولین نکته در تغییر لنز این است که هنگامی که لنز را تغییر می دهیم لنز نباید با سطح لام برخورد کند . عدسی را از 4 به 10 تغییر می دهیم سپس به داخل عدس ی چشمی نگاه می کنیم . اگر تصویر وجود داشت فقط به وسیله پیچ میکرو تصویر را واضح تر می کنیم . در غیر این صورت اگر تصویر وجود نداشت ابتدا به وسیله پیچ ماکرو تصویر را آورده و سپس به وسیله پیچ میکرو تصویر را واضح می کنیم .

تغییر لنز

10به 40 هم به همین روال است اما در تغییر لنز از 40 به 100 باید دقت کرد . ابتدا لنز را بین 40 و 100 قرار می دهیم سپس یک قطره روغن روی نقطه مورد نظر می ریزیم و بعد لنز را روی 100 قرار می دهیم .روغن باعث جلو گیری از شکستن لام می شود

برای راهنمایی بیشتر به میلاد باقری دانشجوی ورودی ۹۳ زیست مراجعه کنید.

Milad9bagheri@yahoo.com

میکروسکوپ دانشکده دانشگاه گلستان