

آشنایی با میکروسکوپ

تعریف میکروسکوپ :

میکروسکوپ وسیله‌ای است که می‌توان با استفاده از آن اجسام ریز و ذره بینی، که با چشم غیر مسلح دیده نمی‌شوند را مشاهده نمود. اولین میکروسکوپ به شکل کاملاً ساده و ابتدایی، توسط رابرت هوک در قرن هفدهم (سال ۱۶۶۰ میلادی) ساخته شد. رابرت هوک توانست با استفاده از میکروسکوپ مرکب ابتدایی خود، برای اولین بار سلول چوب پنبه را در نمونه‌های گیاهی مشاهده کند. در سال ۱۶۷۴ میلادی، آنتونی وان لون هوک نیز توانست برای اولین بار با میکروسکوپ تک عدسی ولی پر قدرت خود، میکروارگانیسم‌ها را مشاهده نماید.

میکروسکوپ نوری :

همان گونه که از اسم این نوع میکروسکوپ بر می‌آید، منبع نوری این وسیله معمولی (نورخورشید، لامپ و غیره) می‌باشد؛ به طور کلی میکروسکوپ نوری از دو قسمت میکانیکی و اپتیکی (نوری) تشکیل شده است :

۱- قسمت مکانیکی : این قسمت شامل بدنه و اجزاء غیر نوری وابسته به آن مانند صفحه شاریو، پیچ‌های تنظیم و غیره می‌باشد.

۲- قسمت اپتیکی (نوری) : این قسمت از یک سری عدسی، منشور و آینه تشکیل شده است که به طور مختصر در قالب قسمت‌های عمل کننده مورد بررسی قرار می‌گیرند.

۳- قسمت‌های مختلف عمل کننده میکروسکوپ از بالا به سمت پایین شامل موارد زیر می‌باشد (شکل ۱) :

۱. سر (Head) : قسمت بالای میکروسکوپ را هد می‌نامند، که می‌تواند ثابت یا چرخان باشد.

۲. عدسی‌های شیئی (objective lens) : پس از قسمت هد عدسی‌های شیئی (Objective) قرار دارند، که توسط یک لوله رابط به قسمت هد میکروسکوپ راه دارند؛ از آنجا که میکروسکوپ‌های امروزی دارای چند عدسی شیئی هستند، لازم است این عدسی‌ها به گونه‌ای در بدنه میکروسکوپ تعبیه شوند که بتوان به راحتی به آنها دسترسی داشت. بدین منظور چند عدسی که عموماً سه الی پنج عدد (اکثراً چهار عدد) هستند به یک صفحه چرخان سوراخ دار که به صفحه رولور معروف است، متصل می‌شوند. این صفحه می‌تواند حول یک محور در سطح افقی چرخش نماید. صفحه مزبور با چرخش خود در هر مرحله یک عدسی شیئی را در مسیر دید و لوله رابط گفته شده قرار می‌دهد هنگامی که عدسی مورد نظر در جای خود قرار گیرد، حالتی قفل مانند به خود می‌گیرد، به طوری که باید اندکی فشار آن را از حالت مزبور خارج نمود. بنابراین حتی موقع تغییر و جا به جایی باید قفل شدن آن را احساس کرده و یا صدای ضعیف و بسیار آهسته آن را شنید، زیرا در غیر این صورت عملاً تصویری نخواهیم داشت.

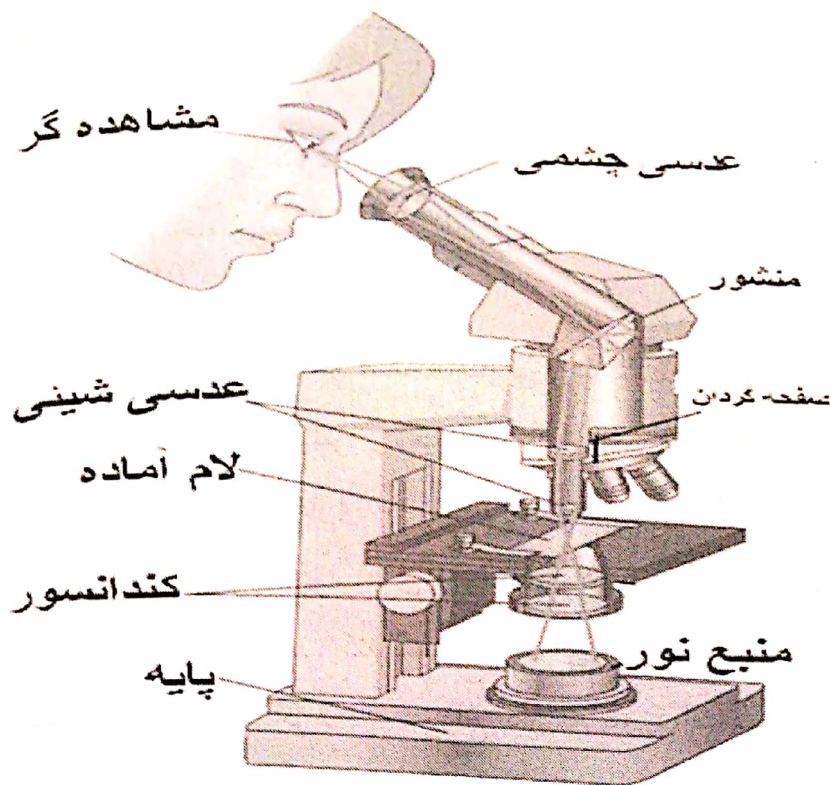
۳. صفحه شاریو (stage) : پس از عدسی چشمی صفحه تخت سوراخ داری به نام صفحه شاریو وجود دارد. این صفحه تخت محل قرار گیری لام حاوی نمونه و یا در برخی موارد خود نمونه است. در وسط آن سوراخی وجود دارد که نور از قسمت زیر آن وارد شده و از نمونه عبور نموده تا به عدسی شیئی برسد در کناره‌های این صفحه دو خط کش عمود بر هم بر بدنه صفحه تعبیه شده اند، که در واقع می‌توان با استفاده از آنها محل دقیق قسمت خاصی از نمونه را پیدا نمود. در زیر و سمت راست (گاهی هم سمت چپ) این صفحه دو پیچ هم محور قرار دارد، که باعث حرکت

نمونه به سمت بالا و پایین و همین طور سمت راست و چپ صفحه می‌شود. با کمک این پیچ‌ها محل خاص و مورد نظری از لام (نمونه) بر روی سوراخ صفحه در مقابل عدسی شیئی قرار می‌گیرد. البته محل گیره مانند متحرکی بر روی صفحه شاریو وجود دارد، که لام حاوی نمونه درون آن قرار گرفته و بر روی سطح صفحه ثابت می‌گردد.

۴. کندانسور (condenser): در زیر صفحه شاریو و متعلقات و ضمام آن، کندانسور با ضمامی از قبیل دیافراگم، فیلتر و غیره وجود دارد که انواع و اشکال آن و نیز متعلقات آن در مارک‌های تجاری مختلف، متفاوت است. کندانسور می‌تواند ثابت باشد، ولی عموماً در میکروسکوپ‌های رایج متحرک بوده و دارای فیلتر بنفش رنگی در قسمت زیرین خود می‌باشد. کندانسور وسیله‌ای است، که از چند عدسی هم‌گرا و یک صفحه چند تکه، متحرک و سوراخ دار به نام دیافراگم تشکیل شده است. وظیفه این قسمت متمرکز کردن نور است که از منبع نور به سمت صفحه شاریو گسیل می‌شود. کندانسور، با متمرکز کردن نور از تفرق آن جلوگیری می‌کند و دارای پیچی است که با استفاده از آن می‌توان قطر سوراخ دیافراگم را تنظیم نمود. بدین طریق، میزان نور خروجی از کندانسور کنترل می‌شود. در ضمن نور کندانسور با بالا و پایین شدن آن افزایش و کاهش می‌یابد.

۵. منبع نوری (Light source): اکثر میکروسکوپ‌ها به خصوص آن‌هایی که در قسمت‌های درمانی یا تحقیقاتی استفاده می‌شوند، در قسمت منبع نوری خود دارای لامپ الکتریکی هستند.

۶. پیچ‌های تنظیم: در کنار منبع نوری و بر روی قسمت پایینی دسته میکروسکوپ کمی پایین تر از صفحه شاریو، دو پیچ هم محور وجود دارد، که پیچ بزرگ تر، ماکرومتر و پیچ کوچک تر، میکرومتر نامیده می‌شود. این پیچ‌ها با بالا و پایین بردن صفحه شاریو سبب تغییر فاصله نمونه، در عدسی شیئی شده و شی را در فاصله کانون عدسی شیئی قرار می‌دهند با این کار میکروسکوپ تنظیم شده و تصویر قابل رؤیت می‌شود. حرکات سریع و تند صفحه شاریو با کمک ماکرومتر و حرکات آهسته و ظریف آن با استفاده از میکرو متر ممکن می‌گردد.



شکل ۱. میکروسکوپ نوری

طرز کار با میکروسکوپ :

برای کار با میکروسکوپ کافی است نمونه آماده شده بر روی لام را بر سطح صفحه شاریو و در محفظه گیره دار مخصوص نمونه قرار دهیم. این عمل در حالی صورت می‌گیرد که عدسی شیئی کوچک (کوچک ترین عدسی) در محل مخصوص مسیر رؤیت میکروسکوپ قرار گرفته باشد. زیرا این عدسی کوتاه ترین طول را داشته و دست به راحتی می‌تواند لام یا نمونه را در زیر میکروسکوپ قرار داده یا جابه جا نماید.

پس از قرار دادن لام و تنظیم اولیه میکروسکوپ توسط ماکرومتر و دیدن شمای کلی تصویر عدسی شیئی را عوض کرده و بر روی عدسی شیئی مورد نظر قرار می‌دهیم. مثلاً در مورد نمونه‌های مرطوب (wet) یا تر و فیکس نشده، مانند لام شمارش گلبول‌های قرمز، سفید، لام رسوب ادرار یا مدفوع، معمولاً عدسی کوچک را با چرخاندن صفحه رولور از مسیر خارج کرده و عدسی‌های ۱۰ و ۴۰ در مسیر رؤیت نمونه قرار می‌دهیم. ولی برای

لام‌های فیکس شده مانند لام‌های رنگ آمیزی شده خون، که برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید آماده شده اند و یا لام‌های میکروب شناسی از عدسی ۱۰۰ استفاده می‌نماییم. البته تذکر مجدد این نکته الزامی است، که در هنگام کار با عدسی ۱۰۰ برای جلوگیری از تفرق نور باید از روغن ایمرسیون استفاده کنیم؛ زیرا بدون آن نمی‌توان چیزی را در زیر میکروسکوپ مشاهده نمود. البته، گاهی بسته به شرایط خاص، کار تعویض عدسی شیئی نیز پله پله صورت می‌گیرد، مثلاً ابتدا آن را از ۴ به ۱۰ و سپس به ۴۰ تغییر می‌دهند. در هر حال معمولاً بسته به نوع کار و میزان ورزیدگی کاربر عمل تعیین و تعویض عدسی شیئی صورت می‌گیرد. پس از این کار شدت نور توسط پیچ روشن و خاموش و نیز کندانسور تنظیم می‌شود. زیرا نه نور ضعیف و نه نور شدید هیچ کدام، برای کار با میکروسکوپ و مشاهده دقیق جزئیات نمونه مناسب نیستند. بنا بر این یک کاربر خوب باید در هر مورد نور را مطابق با وضعیت دید خود، آن گونه که بتواند همه چیز، حتی نکات ظریف و جزئی را، به راحتی مشاهده نماید، تنظیم کند. سپس با استفاده از پیچ میکرومتر عمل تنظیم به طور دقیق صورت می‌گیرد، تا تصویر معمولاً واضحی به دست آید. برای دیدن جزئیات دقیق و بررسی ارگان‌های داخل سلولی گاهی میکرومتر را به سمت چپ یا به سمت راست می‌چرخانند (به صورت یک نوسان ملایم)، این عمل به مزویان کردن معروف است.

حفظ و نگهداری میکروسکوپ

باید توجه کنیم غیر از نمونه‌های فیکس شده که با عدسی ۱۰۰ دیده می‌شوند، سایر نمونه‌های مرطوب پس از آماده شدن باید توسط لامل پوشانده شده و سپس مورد بررسی و مشاهده میکروسکوپی قرار گیرند.

پس از اتمام کار میکروسکوپ، باید ابتدا نمونه را از روی صفحه شاریو برداشته و سپس لامپ آن را معمولاً خاموش کرد و عدسی را در وضعیت کوچک ترین عدسی قرار داد. سپس با یک پارچه مخصوص و یا گاز مرطوب سطح عدسی‌های مورد استفاده قرار گرفته را به خوبی پاک و تمیز نمود؛ زیرا آلودگی آنها در دراز مدت باعث کدر و تار شدن

عدسی‌ها می‌شود. گاهی از گزیلول برای پاک کردن عدسی ۱۰۰ استفاده می‌کنند، که کار چندان درستی نیست، زیرا خود آن نوعی ترکیب آلی و روغنی است و در طولانی مدت سبب خراب شدن عدسی می‌شود. بنابراین حتی برای تمیز کردن عدسی ۱۰۰ بهتر است از گاز مرطوب شده و آب مقطر و یا حداکثر گاز آغشته به الکل طبی استفاده کنند. پس از تمیز کردن عدسی‌های شیئی درپوش مخصوص میکروسکوپ را گذاشته و دو شاخه آن را از پریز برق خارج نموده و سیم آن را به دور پایه میکروسکوپ می‌پیچیم.

از نکات دیگری که باید به هنگام کار با میکروسکوپ مورد توجه قرار گیرد آن است که تا حد امکان از جا به جایی میکروسکوپ خودداری شود به طوری که همواره به طور ثابت در یک محل قرار داده شود. علاوه بر آن، نباید هرگز میکروسکوپ را بر سطح میز کشید یا هل داد، به خصوص موقعی که روشن است؛ زیرا ارتعاشات شدید باعث می‌شود که سیستم‌های مکانیکی آن از تنظیم خارج شده و قطعات مکانیکی دچار آسیب شوند یا لامپ میکروسکوپ بسوزد.