مروری برانواع میکروسکوپ ها

میکروسکوپ یکی از وسایل آزمایشگاهی اصلی در همه ی آزمایشگاه ها است. در اینجا انواع آن مورد بحث و بررسی قرار گرفته و همه نوع میکروسکوپ به تفصیل معرفی می شود.

میکروسکوپ های مختلف دارای بزرگ نمائی های متفاوتند که عموماً با وجود عدسی های گوناگون، تصویر نمونه مورد نظر چند برابر می شود. اصول کلی در تمامی انواع میکروسکوپ ها براساس عبور نور با طول موج های متفاوت از چندین عدسی محدب است که هرچقدر طول موج نور به کار رفته در میکروسکوپ مزبور کوتاه تر باشد قدرت تفکیک و یا جداکنندگی آن میکروسکوپ بیشتر است. برای مثال قدرت تفکیک چشم انسان ۰/۱ میلی متر است و میکروسکوپ نوری معمولی ۰/۲٤ میکرون. بیشتر میکروسکوپ هایی که تاکنون ابداع شده اند، میکروسکوپ نوری بودند. میکروسکوپ های نوری میکروسکوپ هایی هستند که برای بررسی یک جسم، از پرتوهای نور استفاده می کنند و نور را به جسم موردنظر می تابانند. با این همه میکروسکوپ نوری یک ضعف عمده دارد که محدودیت قدرت تفکیک آن است.

به دلیل ماهیت موجی نور، موج های مختلف موجود در یک پرتو نور، با یکدیگر تداخل می کنند. به همین دلیل، وقتی با استفاده از عدسی یک پرتو نور را متمرکز می کنیم، بسته به طول موج نور و زاویه یی که عدسی می تواند نور را جمع کند، یک نقطه نورانی به پهنای ۲۰۰ نانومتر در جهت های X و Y و عمق ۵۰۰ نانومتر در راستای Z تشکیل می شود. در دهه ۱۹۳۰ انواع میکروسکوپ های الکترونی ابداع شد. هر چند این میکروسکوپ ها همچنان گران است، اما استفاده از آنها متداول شد. با ابداع میکروسکوپ های الکترونی(که از پرتوهای الکترون به جای پرتو نور استفاده می کند) قدرت تفکیک به شدت افزایش یافت، زیرا طول موج پرتوهای الکترون کمتر از طول موج فوتون است. فوتون «ذره» تشکیل دهنده نور است. هر چند با ابداع میکروسکوپ های الکترونی دنیای کاملاً تازه ای از جزئیات به روی ما باز شد که پیش از آن مشاهده نکرده بودیم، اما استفاده از آن برای تصویربرداری از نمونه های زیستی چندان مناسب نیست. برای آنکه بتوانیم نمونه ای را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشاهده کنیم، باید نمونه ها را در خلأ و به دور از هوا نگهداری کرد. علاوه بر این پیش از اینکه بتوان جسم را زیر میکروسکوپ تماشا کرد، باید با استفاده از روش هایی آن را آماده کرد. از جمله برش جسم به لایه های نازک با استفاده از فلزهایی مثل اورانیوم و سرب یا پوشاندن نمونه با انواع فلزهای رسانا. در هر مورد ماده زیستی شناختی مشاهده شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی دیگر زنده نیست. هر چند میکروسکوپ الکترونی در زیست شناسی و پزشکی کاربردهای فراوانی دارد، اما مطلوب آن است که بدون کشتن نمونه ها بتوانیم قدرت تفکیک را زیاد کنیم گرچه سلول های انسان ها و حیوانات

به قدر کافی بزرگ اســت و می توان با استفاده از میکروسکوپ های نوری آنها را مشــاهده کرد. درک این مکانیســم ها در پژوهش های پزشکی و ابداع روش های درمانی جدید بسیار ضروری است.

تقسیم بندی انواع میکروسکوپ

☑ میکروسکوپ های نوری

منبع نور در این میکروســکوپ نور مرئی است و از چندین عدسی محدب که در آن تعبیه شده است و نیز یک منشور که مسیر نور را تغییر می دهد عبور می کند(قدرت تفکیک ۰/۲٤ میکرون).

میکروســکوپ نــوری زمینه روشــن: قســمت هــای مهم یک میکروسکوپ نوری عبارتند از:

۱- عدسی چشمی: این عدسی برای مطالعه و مشاهده تصویر است.

۲- عدســی شیئی: این عدسی برای بزرگنمایی است و شامل چهار عدسی است:

الف) عدسی شماره ٤ (عدسی کوچک)

ب) عدسی شماره ۱۰ (عدسی خشک)

ج) عدسی شماره ٤۰ (عدسی خشک)

د) عدسی شماره ۱۰۰ (عدسی روغنی)

۳- کندانسور: کندانســور نور را جمع کرده و آن را به طور مستقیم روی نمونه هدایت می کند.

٤- دیافراگم: مقدار نور ورودی را کم و زیاد می کند.

۵- ماکرومتر: ماکرومتر صفحه میکروســکوپ را بالا و پایین برده و برای پیدا کردن تصویر نمونه به کار می رود.

٦- میکرومتر: تصویر تنظیم شــده را واضح تــر کرده و آن را برای مشاهده مشخص تر می کند.

بین عدسی شیئی (عدســی ۱۰۰) و نمونه فاصله ای در حدود ۸/۱ mm وجــود دارد که این فاصله را فاصله کانونی گویند و با روغن امرســیون این فاصله را پر می کنند. در غیر این صورت به علت وجود هوا و شکســت نور عبوری از نمونه, تصویر ناواضح خواهد بود.

☑میکروسکوپ ماوراء بنفش (Ultra Violet Microscope)

میکروســکوپ ماوراء بنفش یا میکروسکوپ U.V که منبع تغذیه آن نور اشعه U.V است. نسبت به میکروسکوپ نوری معمولی قدرت تفکیک بالاتری داشــته چراکه اشعه ماوراء بنفش طول موج کوتاه تری نسبت به نور مرئی دارد. عدســی شیئی به کار رفته در این میکروسکوپ از جنس کوارتز اســت. به دلیل مضر بودن اشــعه ماوراء بنفش برای چشــم انسان، از تصویر شــیء عکسبرداری شده و سپس بر روی صفحه مانیتور قابل مشاهده است (قدرت تفکیک ۶۰۰ آنگستروم).

☑میکروســکوپ فلورســانس (Fluorescence Microscope)

انواع خاصی از میکروسکوپ نوری که منبع نور آن پرتوهای فرابنفش اســت. برای مشــاهده نمونه زیر این میکروسکوپ ها بخــش ها یــا ملکول هــای ویــژه داخل ســلول با مواد فلورســانت یا نورافشــان رنگ آمیزی می شوند. زمانی که هدف، تشــخیص پروتئین های خاص یا جایگاه آنها در ســلول باشد، روش های معمولی رنگ آمیــزی که پروتئین هــا را به طور عام رنگ می کنند قابل اســتفاده نیست. برای رنگ آمیزی اختصاصی، معمولا از پادتــن هــای اختصاصی متصل بــه مواد فلورسانت استفاده می شود. مواد فلورسانت نــور را در طــول مــوج فرابنفش جذب می کنند و در طول موج بلندتری در طیف مرئی تابــش می کنند. تصویری که دیده می شــود حاصل نور تابش شده از نمونه اســت. رودامین و فلورســئین دو نوع از رنگ های معمول فلورســانت هستند که بــه ترتیب نور قرمز و ســبز از خود تابش می کنند.

کارکرد میکروسکوپ های فلورسانس

در ابتــدای قــرن بیســتم پدیــده

فلورسانس در ساخت میکروسکوپ به کار گرفته شد. فلورسانس یکی از پدیده های مربوط به نورتابی (لومین سانس) است. ما معمولاً وقتی جسمی را می بینیم که نور از آن جسم بازتاب می شود. رنگ جسم نیز به این موضوع وابسته است که جسم چه طول موجی را بازتاب می کند. در پدیده فلورسانس مولکول یک فوتون (یک ذره نور) با طول موج خاص را جذب و سپس آن را با طول موج بلندتری منتشر می کند. فلورسانس یکی از روش های بسیار متداول در تصویربرداری بافت های زیست شناختی است. مواد زیست شناختی معمولاً نور را به شدت متفرق می کنند و در نتیجه تماشای آن ورای سطح سلول دشوار است. در پدیده فلورسانس معمولاً طول موج نور گسیل شده از طول موج نور تابیده شده بیشتر است، بنابراین نور متفرق شده از سطح سلول را می توان از نور تابیده شده به سلول تفکیک کرد. برای انجام این کار از آینه های دورنگی استفاده می کنند. این آینه ها نور تابیده شده را دوباره به نمونه برمی گردانند، اما نور فلورسانس از آن عبور می کند، در نتیجه تماشای ساختارهای درونی سلول امکان پذیر می شود. برخی مواد زیست شناختی به طور طبیعی فلورسنت هستند، اما رنگ ها و پروتئین های فلورسنت فراوانی نیز وجود دارد که می توان از آنها برای رنگ آمیزی بخش های ویژه یک سلول مثل هسته استفاده کرد. حتی می توان آنها را به پروتئین های خاص درون سلول متصل کرد، در نتیجه پی گیری حرکت آنها درون سلول امکان پذیر می شود. استفاده از رنگ ها و پروتئین های نور کلید زدنی فلورسنت که به تازگی کشف شده است، کاربردهای بسیاری در تصویربرداری فلورسانس دارد. این مولکول ها می توانند دو حالت داشته باشند، یک حالت درخشان یا حالت فلورسنت و یک حالت تاریک یا غیرفلورسنت. کلیدزنی بین این دو حالت با تاباندن نور با دو طول موج متفاوت انجام می شود.

یکی از کاربردهای مولکول های نور کلیدزدنی ردیابی پروتئین ها است. اگر مولکول های فلورسنت به پروتئین های خاص متصل شوند و یک بخش کوچک از آنها فعال شود، پی گیری جابه جایی پروتئین ها بسیار آسان تر از حالتی است که همه پروتئین های درون سلول نور را گسیل کنند. علاوه بر این لحظه دقیق فعال سازی را می توان کنترل کرد.

به طور کلی مواد از لحاظ خاصیت فلورسانس دو نوعند:

◀ فلورسانس اولیه که این مواد ذاتاً خاصیت فلورسانس دارند یعنی از خود نور ساطع می کنند مثل ویتامین ها و رنگ ها.

◀ فلورسانس ثانویه که از خود خاصیت فلورسانسی نداشته و با رنگ آمیزی و معرف های گوناگون از قبیل سولفات بربرین و نارنجی آکریدین خاصیت فلورسانسی را به آنها القا می کنیم.

منبع تغذیه نور در این میکروسکوپ اشعه U.V است. در اینجا نیز از تصویر شیء عکس برداری شده که بر روی صفحه مانیتور قابل مشاهده است.

☑ میکروسکوپ زمینه سیاه (Dark Field Microscope)

مطالعه سلول های زنده با این میکروسکوپ ها نیز مقدور است. سیستم های نوری خاصی در تمام این نوع میکروسکوپ ها وجود دارد که تباین کافی بین اجزای سلول ایجاد کرده، مشاهده سلول های زنده را مقدور می سازند.

در میکروسکوپ زمینه سیاه نور حامله از منبع نوری به شکل مخروط در می آید و انوار از اطراف به نمونه تابیده می شود. این کار توسط کندانسور خاص این میکروسکوپ انجام می گیرد. در نتیجه تصویر نمونه به صورت روشن در یک زمینه تاریک مشاهده می شود. استفاده از میکروسکوپ زمینه سیاه برای مشاهده حرکت باکتری معمول است (مثل اسپیروکت تروپون ها پالیدوم عامل بیماری سیفیلیس).

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

☑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 به وجود آورند. بنابراین مطالعه سلول 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 سلول های 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.

مزیّت میکروسکوپ اختلاف فاز در این است که می توانیم با آن سلول های زنده را با جزئیات بیشتر مشاهده کنیم. تیم هایی مثل تثبیت نمونه می توانند دگرگونی هایی در ساختار درونی سلول به وجود آورند. بنابراین مطالعه سلول های زنده ای که هیچ گونه تیماری ندیده اند خیلی مطلوب است. می توان فرآیندهایی مثل تقسیم میتوز در سلول های زنده را نیز با این نوع میکروسکوپ ها مطالعه کرد. در برخی موارد، برای عکس برداری پیوسته و دراز مدت از سلول فعال، دوربین به میکروسکوپ وصل می شود.

در میکروسکوپ اختلاف فاز نور حاصله از منبع نوری به انوار مختلف شکسته شده و شکسته نشده تقسیم می شود. این کار توسط دیافراگم مخصوص این میکروسکوپ انجام می گیرد. انواری که می شکنند به جسم یا نمونه نفوذ نمی کنند اما انواری که نمی شکنند به جسم یا نمونه نفوذ می کنند در نتیجه بین نمونه و محیط اطراف آن اختلاف به وجود می آید و نمونه به صورت شفاف دیده می شود.

منبع تغذیه نور در این نوع میکروسکوپ نور مرئی است و برای بررسی بافت ها یا نمونه هایی که اختلاف انکساری نوری کمی دارند مورد استفاده قرار می گیرد. بدین منظور صفحه سوراخ داری به نام پلاک فاز در کندانسور تعبیه می شود.

☑ میکروسکوپ الکترونی (Electron Microscope)

قدرت جداسازی میکروسکوپ الکترونی از میکروسکوپ نوری بهتر است به این معنی که با میکروسکوپ الکترونی اجزای کوچک تری را می توان دید. قبلا گفته شد حد تفکیک (R) به طول موج نوری بستگی دارد که به نمونه می تابد. در حقیقت بین این دو رابطه مستقیمی وجود دارد یعنی هر چقدر طول موج تابشی کوچک تر باشد، R نیز کوچک تر و قدرت جداسازی بیشتر است. در میکروسکوپ الکترونی به جای استفاده از نور مرئی از امواج

الکترون ها استفاده می شود. در شرایط مناسب طول موج الکترون ها به nm ۰۰۵/۰ می رسد. در این طول موج بهترین R ممکن حدود nm ۰۰۲/۰ است. در عمل به علت محدودیت های دیگر، قدرت جداسازی میکروسکوپ های الکترونی هیچ وقت به این خوبی نیست. حد تفکیک با میکروسکوپ الکترونی برای ملکول های تخلیص شده ی زیستی، حدود ۱/۰ نانومتر و برای سلول ها ۲ نانومتر است که دست کم ۱۰۰ برابر بهتر از بهترین میکروسکوپ های نوری است.

دو نوع میکروسکوپ الکترونی به نام میکروسکوپ الکترونی گذاره و میکروسکوپ الکترونی نگاره وجود دارد. میکروسکوپ الکترونی گذاره (transmission electron microscope) زودتر اختراع شد و قدرت جداسازی بهتری دارد. در این نوع میکروسکوپ، الکترون ها هنگام برخورد به نمونه از برخی مناطق آن عبور می کنند و از مناطقی دیگر بازتابیده می شوند. عامل تعیین کننده در این امر در نهایت ویژگی اتم های تشکیل دهنده مناطق مختلف سلول است. الکترون های عبوری در دستگاه تشخیص داده می شوند و تصویری از نمونه حاصل می شود. سلول های زنده با میکروسکوپ

الکترونی قابل مشاهده نیست.

یکـی از تجهیـزات بـزرگ علمـی میکروسکوپ الکترونی است که براساس قوانین نوری کار می کند دراین دسـتگاه شار الکترون پر انرژی از یک منبع الکترون خارج شده وتحت شتاب به طرف هدف می رود در مسیر خود از روزنه های تعبیه شـده در یک فلز عبور کرده وبا عبور از لنزهای مغناطیسـی بر روی شی مورد نظر تابانده شده ودر نتیجه بازتاب نور تصویر شی دیده خواهد شد.

اطلاعاتـی را کـه میکروسـکوپ الکترونی ارائه می دهد:

◄ **توپوگرافی شئ:**

(نقشـه برداری) که با آشکار کردن مشـخصات سـطح و بافت داخلی شـئ می توان به خواصی مانند سفتی و میزان ار تجاعی بودن آن پی برد.

◄ **مورفولوژی(ریخت شناسی):** از آن رو که در این رویت شـکل و سایز ذرات مشخص است می توان به سختی و استحکام پی برد.

◄ **ترکیـب:** این میکروسـکوپ می تواند عناصر سـازنده شئ را مشخص کنـد. بنابراین می توان بـه خواصی مانند نقطه ذوب اکتیویته شئ نیز دست یافت.

◄ **بلور شناسـی:** میکرو سکوپ الکترونـی چگونگی چیده شـدن اتم ها را در مجـاورت یکدیگر می دهد وبه این تر تیب می توان آنها را از نظر رسـانایی و خواص الکتریکی بررسی کرد.

پیشـرفته تریـن میکروسـکوپ قرن حاضر، بـا قدرت تفکیک ۲ آنگسـتروم اسـت. در ایـن میکروسـکوپ بـا عبور پرتوهای الکترونی سـاطع شـده از رشته سـیمی تنگسـتن با طول موج بسیار پائین از عدسـی هـای متعدد کـه در نهایت بر روی یک صفحه فلورسنت یا صفحه مانیتور، عکسبرداری صورت گرفته و تصویر شیء قابل مشاهده است.

قدرت جداسـازی میکروسکوپ های الکترونی از میکروسکوپ نوری بهتر است به این معنی که با میکروسکوپ های الکترونی اجزای کوچک تر را می توان دید. قبلاً گفته شد که بین R و طول موج نور تابیده شـده به نمونه رابطه مستقیمی برقرار است، یعنی هر چقدر طول موج تابشـی کوچکتر باشـد، R نیز کوچک تر و قدرت جداسـازی بیشـتر است. طول موج نور مرئی بین ۳۰۰mm تا ۸۰۰mm و بهترین حد تفکیک میکروسکوپ های نوری ۲۰۰nm است.

در میکروسـکوپ هـای الکترونی به جای اسـتفاده از امواج نور مرئی، از امواج الکترون ها استفاده می شود. در شرایط مناسب، طول موج الکترون ها به۰/۰۰۵ نانومتر می رسـد، یعنـی حدود ۱۰۰/۰۰۰ برابـر کوتاه تر از طول موج نور مرئـی. در این طول موج، بهترین R ممکن حدود۰/۰۰۲ نانومتر اسـت. در عمل، به علت محدودیت های دیگر، قدرت جداسـازی میکروسـکوپ های الکترونی هیچ وقت به این خوبی نیسـت. حد تفکیک (R) با میکروسکوپ الکترونی برای مولکول های تخلیص شده زیسـتی، حدود ۰٫۱nm و برای سلول ها حدود ۲nm است که دست کم صد برابر بهتر از میکروسکوپ های نوری است.

دو نوع میکروسکوپ الکترونی بنام های میکروسکوپ الکترونی گذاره و میکروسکوپ الکترونی نگاره وجود دارد.

میکروسکوپ الکترونی گذاره

این میکروسـکوپ زودتر اختراع شده و قدرت جداسازی بهتری دارد. در این نوع میکروسکوپ، الکترون ها هنگام برخورد به نمونه از برخی مناطق آن عبور می کنند و از مناطقی دیگر بازتابیده می شوند. الکترون های عبوری در دسـتگاه تشخیص داده می شوند و تصویری از نمونه حاصل می شـود. جزئیـات روش های تثبیت، برش گیری و رنگ آمیزی برای میکروسکوپ الکترونی اختصاصی است. به عنوان مثـال، برای رنگ آمیزی نمونه از فلزات سـنگین مانند طلا اسـتفاده می شود تا الکترون ها از اندامک ها و ساختارهای درون سلولی، مثل ریبوزوم و مولکول های بزرگ سـلول مثل DNA، با میکروسکوپ الکترونی گذاره قابل تشـخیص هستند، اما جایگاه اتم های تشخیص دهنده مولکول ها معمولاً تعیین نمی شود.

میکروسکوپ الکترونی نگاره

میکروسـکوپ الکترونـی نـگاره (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 می 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 شود. قدرت جداسازی میکروسکوپ الکترونی نگاره حدود ۱۰ nm است.

این نوع ساده ترین میکروسکوپ الکترونی است. برای بررسی نمونه با این نوع میکروسکوپ، نمونه با لایه ای نازک از فلز سنگین به صورت یکنواخت پوشیده می 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 می شوند و تصویری سه بعدی از سطح نمونه حاصل می شود.

☑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. همان طور 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 شود و 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.

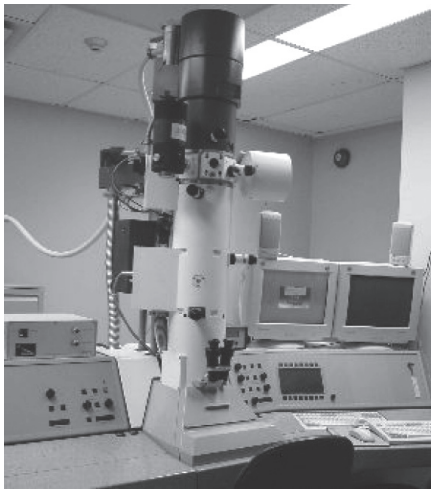
میکروسکوپ پرتو X نوع دیگری از میکروسکوپ های نوین است که کاربرد بیشتری برای نمونه های زیستی دارد. قدرت جداسازی آن چند صد آنگستروم و ضعیف تر از میکروسکوپ الکترونی است، اما سلول های زنده با آن قابل بررسی هستند.

☑ میکروسکوپ های پلاریزان

در بسیاری از مطالعات میکروسکوپی مثل مطالعه سنگ ها، مواد شیمیایی کریستالی و بسیاری از ترکیبات آلی مثل ساختمان کراتین، عضلات، کلاژن ها نیاز به استفاده از میکروسکوپ های پلاریزان است. جز اینها در مطالعات میکروسکوپی پلاریزان نور پلاریزه است.

نور پلاریزه

نور معمولی متشکل از فوتون ها هستند و دارای بردارهای الکتریکی و مغناطیسی عمود بر هم اند. این دو میدان بطور سینوسی در حال نوسانند و در ضمن در جهت عمود بر صفحه دو میدان و یا صفحه ارتعاشات این دو منتشر می‌شوند. ارتعاشات میدان الکتریکی نور غیر پلاریزه در یک نقطه در همه جهات است. اکثر مواد شیشه‌ای و بسیاری از مواد دارای این ویژگی هستند که وقتی یک دسته پرتو نوری به آنها وارد شود در آن صورت سرعت انتشار و نحوه انتشار نور در جهات مختلف در آنها مشابه و یکسان است و تنها تغییری که در نحوه حرکت دسته پرتو ضمن عبور از این مواد حاصل می‌شود آن است که بر اساس قوانین اسنل مسیر و جهت آنها نسبت به قبل از ورودشان به آن ماده تغییر می‌کند. اینگونه مواد را مواد ایزوتروپیک (isotropic) می‌نامند. مواد ایزوتروپیک در همه جهات دارای ضریب شکست مشابه هستند.



بعضـی مواد شـفاف و نیمه شـفاف دارای دو ضریب شکست اند، یعنی نحوه انتشـار نور در داخل ایـن مواد در جهات مختلـف متفاوت اسـت. وقتـی که یک دسـته پرتو نوری به داخل این گونه مواد وارد می‌شود اگر نور غیر پلاریزه باشد در آنصورت به دو دسته پرتو تقسیم می‌شود. این دو دسـته پرتـو در جهـات عمود بر هـم حرکت می کنند و ارتعاشـات میدان الکتریکی آنها کاملا بر هم عمود اسـت. هر دسـته پرتو بنـام نور پلاریزه شـده و صفحه ارتعاش آنها را صفحه پلاریزاسیون می‌نامنـد. موادی کـه دارای ایـن چنین خاصیتی هسـتند بنام مـواد غیر ایزوتوپ می‌نامنـد. بعضی مواقع نیز اینگونه مواد را مواد با ضریب شکسـت دو گانه می‌نامند. در بررسـی های پلاریزاسیون لازم است که ما نور پلاریزه داشـته باشیم این عمل را به وسیله یک صفحه پلاریزور می‌توان انجـام داد. نـور خـارج شـده از صفحه پلاریـزور یک نور پلاریزه اسـت. میدان الکتریکی ایـن فوتون ها تنهـا در امتداد محـور پلاریزاسـیون صفحـه پلاریزور ارتعاش می کند.

روش های تولید نور پلاریزه

نـور پلاریـزه را مـی توان بـه طرق مختلـف ایجاد کـرد. روش های معمول عبارتند از:

- بازتابش
- شکست مضاعف
- جذب انتخابی
- پراکندگی
- میکروسکوپ تداخلی
- میکروسـکوپ هـای تداخلـی

بـه وسـیله کمپانی‌های متعددی سـاخته می‌شـوند. این میکروسـکوپ ها دارای سـاختارهای متعـدد و متفاوتی هسـتند، اساس کار این میکروسکوپ ها بر مبنای تداخل نور عبور نموده از نمونه‌های شـفاف که دارای فازهای متفاوت هسـتند و یا تداخل نور منعکس شده از نمونه‌هـای کدر یا پرتوهای نـور دیگری که با این نورهـا دارای اختلاف راه هسـتند عمل می کند. بدین طریق سـاختار داخلی نمونه و یا سـطح آن قابل مشاهده می‌شـود. در صورتی که از طریق تداخل نورهای عبور کرده از نمونه تصویر به دسـت آید، روش عمل کنتراسـت تداخلی دیفرانسیلی (DIC) و در صورتی که تصویر از انعکاس سطح نمونه حاصل شود آن را میکروسکوپ تداخلی انعکاسی می‌نامند.

☑ میکروسکوپ اینورت

این دسـتگاه دارای قابلیت فازکنتراسـت و نصب دوربین عکاسی و فیلمبرداری اسـت و در بررسـی نحوه حرکت، تولید مثل، شناسایی، شـمارش زئو و فیتوپلانکتون ها و سـایر میکروارگانیسـم ها استفاده می شود.

از این میکروسـکوپ همچنین در شـرایطی مانند زمانی که نیاز به دسـتکاری نمونه ها داریم یا در مواقعی که به فضای بالای نمونه احتیاج اسـت مثلا برای بازوهـای میکانیکی و ابزارهـای کوچک نگه داری و دسـتکاری نمونه، در کاربردهای وابسته به فن استخراج و ذوب فلزات اسـتفاده می شـود. به صورتی که عملیات روی نمونه در محلی بالای صفحه انجام گیرد تا برای عدسـی های شـیئی که زیر نمونه اند، قابل رویت باشـد. به همین دلیل میکروسـکوپ مورد علاقه ی فلز شناسان است.

صفحه نمونه در میکروسکوپ اینورت همواره ثابت است و فوکوس آن با تنظیم عدسـی ها به وسـیله ی حرکت دادن عدسی های شیئی در امتداد محور عمودی انجام می شود تا عدسی ها به نمونه نزدیک یا دور شوند. مکانیسم فوکوس توسـط دو پیچ متحد المرکز انجام می شود تا تنظیم راحت و درست باشد. بسـته یه اندازه میکروسکوپ ٤ تا ٦ عدد عدسی شیئی با بزرگ نمایی های متفاوت در محور گردان تعبیه می شود.

☑ استریو میکروسکوپ

این دسـتگاه دارای بزرگ نمایی ۵۰ برابر و قابلیت نصب دوربین است و در بررسـی اجزا و موجوداتی که دارای بعد و حجم اند نظیر مرجان های دریایی، انواع ماکرو بنتوزها و سایر موجودات استفاده می شود.