

نگاهی فنی به میکروسکوپ

چگونگی کاربری

پس از گذاشتن لام روی صفحه مخصوص میکروسکوپ و روشن کردن دستگاه از عدسی (لنز) $10\times$ به منظور بررسی کل لام از نظر پراکندگی یکنواخت سلولی، یافتن انگل در گستره خون و کنترل آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز در انتقال خون؛ از عدسی $40\times$ برای بررسی عادی گستره، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، شناسایی مرفولوژی سلول غیرطبیعی، مشاهده پلاسمودیوم و سایر انگل‌های خونی؛ از عدسی $100\times$ برای دیدن انکلوژیون‌های کوچک گلبول‌های قرمز (مانند هاول جولی بادی)، شناسایی نوع پلاسمودیوم و تعیین مرفولوژی گلبول سفید استفاده می‌شود. استفاده از این عدسی جهت کار روزمره سرعت کار را کند می‌کند و نیاز به روغن دارد.

نحوه نگهداری

- میکروسکوپ باید در یک محیط تمیز نصب شود که دور از مواد شیمیایی، نور مستقیم خورشید، منبع حرارت یا رطوبت باشد. اگر صفحه قرارگیری لام با سالین یا KOH آلوده شود، باید فوری تمیز شده تا از خوردگی جلوگیری شود. رطوبت و دمای بالا، باعث رشد قارچ‌ها شده که می‌تواند به سطوح اپتیک آسیب برسانند. نگهداری در یک محیط بسته باعث رشد قارچ می‌شود. در آب و هوای مرطوب نیاز به مصرف مواد خشک کننده مثل کلرید کلسیم در یک محیط کوچک داریم.
- بعد از استفاده از عدسی $100\times$ یا غوطه وری (ایمرسیون) باید آن را توسط ورقه عدسی، یا کاغذ جاذب یا پارچه نرم یا پنبه بدون کرک پاک کنید. سایر عدسی‌ها (چشمی و شیئی) را که آلوده به روغن شده اند، باید با کمی محلول تمیز کننده شامل دی اتیلن اتر ۷۰٪ و اتانول ۳۰٪ پاک کرد.

- عدسی‌ها نباید در الکل گذاشته شوند چون داربست آنها حل می‌شود. سایر قسمت‌ها با یک دترژان خفیف پاک شود. روغن و چربی ابتدا توسط اتریپروئوم و سپس محلول ۴۵٪ اتانول در آب مقطر تمیز شود.

- اگر داخل عدسی چشمی نیز غبار رفته باشد باید باز و تمیز گردد.

- در صورت نیاز، کندانسور و عدسی دیافراگم با پارچه نرم آغشته به گزیل یا تولون تمیز شود. آینه با پارچه آغشته به الکل ۹۵٪ تمیز شود. مراقب باشید دیافراگم بسیار حساس بوده و اگر آسیب ببیند معمولاً تعمیر نمی‌شود.

- بخش‌های مکانیکی متحرک باید به سهولت حرکت کنند. اگر هر قسمتی با سختی جابجا شود، نیاز به روغن کاری دارد.

باید روغن مکانیکی مناسب باشد چون روغن گیاهی خشک شده و سفت می‌گردد. این کار برای پیچ تنظیم coarse، پیچ تنظیم fine، حرکت کندانسور و صفحه لام به کار می‌رود. توصیه می‌شود به طور مرتب قسمت‌های متحرک تمیز و روغنکاری شود. این لغزندگی نه تنها باعث حرکت روان قسمت‌ها شده بلکه ساینده‌گی را کاهش داده و از خوردگی جلوگیری می‌کند. سطح ثابت صفحه لام باید خشک نگه‌داشته شود پس اگر لامی خیس باشد به سختی حرکت می‌کند و به صفحه لام فشار آورده و آن را خراب می‌کند.

کالیبراسیون

در هنگام خرید دستگاه جدید، توسط شرکت پشتیبان صورت می‌گیرد ولی در صورتی که کاربر مهارت در کالیبراسیون دستگاه را داشته باشد، به روش زیر عمل می‌شود:

روشن سازی

یک لام (با لامل) روی صفحه لام قرار داده، عدسی $10\times$ را انتخاب کرده و مراحل زیر را انجام دهید:

◀ تمرکز منبع نور
✓ با آینه:

از سطح صاف آینه استفاده کنید. دیافراگم را حداکثر باز کنید. کندانسور را بالا ببرید. یک تکه کاغذ سفید نازک در بالای کندانسور روی عدسی قرار دهید. این کاغذ باید تصویری از لامپ الکتریکی را نشان دهد که توسط حلقه‌ای از نور احاطه شده باشد. آینه را طوری تنظیم کنید تا تصویر لامپ درست در مرکز حلقه نور قرار بگیرد. در صورتی که از روشنایی محیط استفاده می‌شود آینه را طوری تنظیم کنید که روشنترین قسمت نور در مرکز قرار بگیرد.

✓ با نور توکار (لامپ)

نور را با پیچ تنظیم در وسط قرار دهید تا نتایج بالا به دست آید.

◀ تمرکز کندانسور

کندانسور را پایین قرار دهید. دیافراگم را باز کنید. لام را با عدسی $10\times$ امتحان کنید. تصویر را میزان کنید. دیافراگم را ببندید. یک حلقه کدر نور که توسط دایره‌ای تاریک احاطه شده در میدان ظاهر می‌شود. به آهستگی کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور میزان شده و لبه آن کاملاً واضح و شارپ شود. اگر لازم است محل آینه را تنظیم کنید تا حلقه نور درست در وسط یا روی منطقه روشن محاط با تاریکی بیافتد. پیچ کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور درست در مرکز میدان باشد. (در برخی از میکروسکوپ‌ها صفحه لام (stage) توسط پیچ بالا و پایین می‌رود در این صورت با حرکت صفحه لام تصویر را میزان کنید).

◀ تنظیم دیافراگم

دیافراگم را به طور کامل باز کنید. عدسی چشمی را در آورده و از لوله نگاه کنید. میدان را با یک حلقه نور می بینید. آهسته دیافراگم را ببندید تا حلقه نور فقط دو سوم میدان را بپوشاند.

غوطه وری (ایمرسیون) با روغن

وقتی پرتو نور از هوا گذر کرده و به شیشه می رسد می شکند و وقتی از شیشه به هوا بر می گردد دوباره پرتو نور شکسته و به جای اول خود بر می گردد. این موضوع در درشت نمایی کم اثر زیادی ندارد، اما در درشتنمایی بالا این شکست نور نه تنها باعث محدودیت میزان نوری است که به عدسی می رسد بلکه باعث محدودیت قدرت عدسی می شود. این شکست نور و محدودیت های آن را با کمک روغن و حذف هوای بین عدسی شیئی و لام تنظیم می کنیم، چون خاصیت اپتیک روغن مثل شیشه است. بدین ترتیب به جای اینکه نور از شیشه به هوا رفته و بشکند و دوباره از هوا به شیشه برگردد گویی تماما از شیشه عبور کرده است.

نحوه میزان کردن عدسی شیئی

◀ استفاده از عدسی (X10)

کندانسور را تا انتها پایین ببرید. عدسی شیئی را آنقدر پایین بیاورید تا درست روی لام قرار بگیرد. با کمک پیچ بزرگ تر، عدسی را بالا ببرید تا یک تصویر واضح دیده شود. اگر واضح نشد پیچ کوچک تر را در خلاف جهت تا ته بچرخانید. اگر باز هم تصویر واضح نشد کندانسور را کمی بالا ببرید.

◀ استفاده از عدسی (X40)

کندانسور را تا وسط پایین بکشید. عدسی شیئی را تا روی لام پایین بیاورید. با کمک پیچ بزرگتر، عدسی را بالا ببرید تا یک تصویر تار در میدان دیده شود. با پیچ کوچکتر آن را واضح کنید. اگر نشد کندانسور را برای روشنایی مناسب بالا ببرید.

◀ استفاده از عدسی 100X (غوطه وری):

بهتر است، لام رنگ شده و خشک به کار برید. یک قطره روغن محل مورد نظر بگذارید (از روغن مصنوعی استفاده کنید تا خشک نشود چون روغن چوب سدر به سرعت خشک می شود). کندانسور را تا جایی که ممکن است بالا ببرید. عدسی 100X را به طرف لام پایین آورید تا در تماس با روغن قرار گیرد ولی فشار ندهید. به کمک پیچ کوچک تر تصویر را میزان کنید.

لام و لامل

فاصله کاری عدسی، فاصله بین عدسی و چیزی است که باید دیده شود. هر قدر قدرت بزرگنمایی عدسی بیشتر باشد این فاصله کمتر است (جدول ۱). اگر لامل خیلی ضخیم باشد در درشت نمایی بالا نمی توان تصویر را میزان کرد.

فاصله کاری	عدسی شیئی
۰.۶ میلیمتر	X10
۰.۱۵-۰.۱۵ میلیمتر	X40
۰.۲۰-۰.۱۵ میلیمتر	X100

جدول ۱: رابطه فاصله کاری و عدسی شیئی

بنابراین در بررسی با عدسی X100 لامل نباید ضخیم تر از ۰/۱۵ میلی متر باشد. مسلما اگر لام Mount نشده باشد و لامل نداشته باشد، در بررسی با روغن غوطه وری چنین مشکلی مطرح نخواهد بود.

درخشندگی

در مباحث بالا نحوه تنظیم نور میکروسکوپ مشخص شد. عدم موفقیت در هر مرحله منجر به بروز درخشندگی و تداخل آن با ایجاد یک تصویر خوب می شود. علل درخشندگی را باید رفع کرد:

- **اشعه نوری که خارج از میکروسکوپ به چشم می رسد:** (نور پنجره یا هر منبع نور در اتاق)، این مسئله را می توان با قرار دادن میکروسکوپ در محل تاریک یا کم نور اتاق رفع کرد. اگر ممکن نبود به کمک یک سایه بان برای چشم این درخشندگی را حذف می کنیم.

- **منبع نور بزرگ تر از آنچه مورد نیاز است:**

(مقدار نور بیش تر از نور مورد نیاز عدسی شیئی باشد)، این مشکل را با استفاده از منبع نوری که فقط میدان دید را روشن نماید رفع می کنیم. پس برای هر عدسی یک منبع نور لازم داریم. منبع نور بزرگ برای درشتنمایی کم و منبع نور کم برای درشتنمایی زیاد.

- **کندانسور، با شکاف بزرگتر از آنچه مورد نیاز است:** (کندانسوری که نور زیاد به عدسی شیئی می دهد)، این مسئله را با افزایش کنتراست در میکروسکوپ حل می کنیم ولی باعث هدر رفتن قدرت می شویم و اگر منابع دیگر درخشندگی محدود شود شکاف کندانسور نیاز به کاهش زیاد ندارد.

- **انعکاس به عقب و جلو در نمونه بین لام و لامل یا هوای بین نمونه و عدسی شیئی:**

باعث درخشندگی شده و با انتخاب نمونه مناسب مثل روغن، کانادا بالزام یا مواد مونته ختنی می توان آن را کاهش داد. اگر لامل را حذف کنید و روغن غوطه وری به کار برید انعکاس کم شده و درخشندگی، کاهش می یابد.

- **اشعه نور در داخل عدسی شیئی، لوله میکروسکوپ یا چشمی:**

که رفع این مشکل نیاز به فرد متبحر یا سازنده میکروسکوپ دارد.

ایمنی

- سیم برق دستگاه پس از استفاده و خاموش کردن آن از پریز جدا شود.