میکروسکوپ های 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). چشمی هویگنس متشکل از دو عدسی سطح محدب می‌باشد که یک طرف هر کدام مسطح و یکطرف محدب می‌باشد.

در نوع هویگنس سطح محدب هر دو عدسی بطرف پایین می‌باشد و بین این دو عدسی دیافراگم قرار گرفته ، دیافراگم در محل کانون عدسی بالای عدسی چشمی واقع است. عدسی پایین پرتوهای رسیده از عدسی

شی را جمع آوری نموده و در محل دیافراگم یا در نزدیکی آن متمرکز می‌نماید. عدسی چشمی این تصویر را بزرگ نموده و البته بصورت یک تصویر مجازی بزرگ شده به چشم فرد مشاهده‌گر منتقل می‌کند.

کار دیافراگم کاهش خیره کننده‌گی نور رسیده به چشم بیننده است.چشمیهای هویگنس به چشمیهای منفی معروفند و دارای بزرگنمایی ۱۰ و ۵ می‌باشند. چشمی هویگنس دارای قیمت نسبتا ارزان و کارایی مناسب می‌باشد، اشکال عمده آن محدود بودن میدان دید و عدم تامین راحتی کافی برای چشم است. چشمیهای رامزدن به چشمیهای مثبت معروفند، این چشمیها با دقت خوبی انحرافات عدسیهای آپکروماتیک را تصحیح می‌نمایند.

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

نور به صورت موج سینوسی پیوسته انتشار نمی‌یابد و لیکن می‌توان تصور کرد که یک فوتون همچون یک بار ولی با سرعت ۳۰۰۰۰۰ کیلومتر در ثانیه حرکت می‌کند. و چون این ذرات بطور پی‌درپی در حال تعقیب یکدیگرند، لذا در عمل راهی جز نمایش آنها به صورت یک موج پیوسته نیست. فوتونهای نوری می‌توانند دارای طول موجهای متفاوتی باشند، رنگ نور بوسیله طول موج آن تعیین می‌شود. مخلوط نورهای مختلف موجب تحریک شبکیه چشم می‌شود که انسان احساس رنگ سفید می‌نماید.

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.