



میکروسکوپ

تاریخچه

- انسان از ابتدای تاریخ ، روشهای بزرگ نشان دادن اشیا را برای دریافت اطلاعات بیشتر درباره آنها مورد بررسی قرار داد، اما در این راه پیشرفت زیادی نداشت. تا اینکه بعضی از شیشه های دوربین را کشف کرد و به مدد آنها توانست اشیا کوچک را بزرگ کند و به مطالعه آنها بپردازد. متجاوز از دو هزار سال قبل رومیها دریافتند که شیشه مدور می تواند اشعه خورشید را در یک نقطه متمرکز سازد. اما تا سال ۱۵۰۰ میلادی که مردم از قدرت بزرگ نمایی آگاه شدند و آن را برای مطالعه گیاهان و حیوانات بکار بردند، از این پدیده استفاده نشد.
مخترعین اولیه :

- در اوایل قرن هفدهم ، چندین نفر از دانشمندان میکروسکوپ های ساده ای ساختند. اما این میکروسکوپ ها دقیق نبودند و از لحاظ اندازه ، شکل مطلوبی نداشتند.

- لیونهایک یکی از اولین مخترعینی بود که مشاهدات خود را در زیر میکروسکوپ ثبت کرد و یادداشتهای دقیقی تهیه نمود. او حیوانات ریز و کوچک استخر را برای مطالعه زیر میکروسکوپ قرار می داد.
در موزه میلدرگ در هلند یکی از میکروسکوپ های اولیه نگهداری می شود که احتمالاً بوسیله این دانشمندان ساخته شده است.



تاریخچه

- **ساختمان و معایب میکروسکوپ های اولیه**
- میکروسکوپ های اولیه از لحاظ ساختمان کاملا ساده بودند و از دو عدسی و دو لوله متحرک تشکیل می شدند. برای درشت کردن شی و تنظیم میکروسکوپ ساده ، لوله ها را به داخل و خارج حرکت می دادند و فقط اشیا غیر شفاف می توانست در این میکروسکوپ ها آزمایش شود.
- در اواخر سال ۱۶۰۰ یک صنعتگر ایتالیایی، میکروسکوپی برای مشاهده نمونه های شفاف ساخت. تصویر میکروسکوپ های اولیه واضح نبود ، استفاده از روغن چراغ برای روشن نمودن و نشان دادن نمونه های آزمایش نیز وضع را بدتر می کرد.
- در انگلستان «رابرت هوک» ، دانشمند معروف کوشش کرد عدسیهای بهتری بسازد. اما محصول کار او ناامید کننده بود. در این زمان مشاهدات ریز میکروسکوپ از لحاظ علمی حائز اهمیت گردید. زیرا عامل بیماری به قدری ریز است که با چشم غیر مسلح نمی توان آن را دید.

موارد استفاده از میکروسکوپ

- با پیشرفت علم ، استفاده از میکروسکوپ هم بیشتر شد. امروزه در بیمارستانها ، کارخانجات ، سازمانهای تحقیقی ، آموزش و پرورش ، دانشگاهها و آزمایشگاهها از میکروسکوپ استفاده می شود.
- آسیب شناسان از میکروسکوپ به منظور کمک به تشخیص برای درمان بیماریها استفاده می کنند. حتی جراح از میکروسکوپ ویژه ای برای اعمال ظریف جراحی (جراحی گوش و چشم و ...) استفاده می کند.
- از میکروسکوپ در آزمایشگاهها درباره موضوعات گوناگون از گیاه شناسی گرفته تا فلزشناسی برای مطالعه استفاده می گردد. در امور صنعتی و هنری و الکترونیک ، میکروسکوپ را به کار می گیرند.
- در آموزش و پرورش و دانشگاهها استفاده از میکروسکوپ ضروری است و پیشرفت مداوم در علم و تکنولوژی، استفاده بیشتر از این دستگاه علمی را ضروری می نماید.



انواع میکروسکوپ

• میکروسکوپ آزمایشگاهی (نوری)

اساس کار این میکروسکوپ‌ها بر اساس استفاده از نور مرئی است که از طریق سیستم عدسی متمرکز می‌شود و امکان بزرگنمایی را فراهم می‌آورد. از این میکروسکوپ می‌توان در بخش بیوشیمی، هماتولوژی، سایتولوژی، هیستولوژی و میکروبیولوژی استفاده نمود.

• میکروسکوپ جراحی

از این میکروسکوپ جهت بزرگنمایی ساختارهای تحت جراحی (اعصاب، عروق خونی و لنفی، جراحات و ...) در حین عمل استفاده می‌کنند. بسیاری از انواع این میکروسکوپ‌ها دارای ثابت‌کننده هستند که نیاز به دخالت جراح را به حداقل رسانده، وی می‌تواند بر روی روند جراحی تمرکز نماید. اساس کار این میکروسکوپ‌ها مشابه میکروسکوپ‌های آزمایشگاهی است اما قابلیت‌هایی جهت استفاده در محیط اتاق عمل به آن اضافه شده است.

• میکروسکوپ الکترونی

این نوع میکروسکوپ‌ها، بزرگنمایی تا هزار برابر میکروسکوپ‌های نوری ایجاد می‌کند میکروسکوپ‌های الکترونی درجه تازه‌ای جهت مطالعات بیولوژی سلولی در نفرولوژی و انکولوژی فراهم آورده است. تشخیص بیماری‌های عفونی (از جمله HIV، عصبی، قلبی، ریوی، پوستی، کبدی، اختلالات خونی و مشکلات متابولیک) با این وسایل، تسهیل شده است.

اجزای اصلی میکروسکوپ (از انواع مختلف)

سه قسمت اصلی میکروسکوپ عبارت است از:

- **بدنه میکروسکوپ (ساختار اصلی)،**

بدنه میکروسکوپ از عدسی‌ها، دوربین دو چشمی، شکاف‌دهنده پرتو نور، تغییر دهنده بزرگنمایی، کنترل‌کننده کانون قرارگیری جسم، عدسی شیء و یک اتصال دو طرفه به پایه میکروسکوپ تشکیل شده و وظیفه انجام انواع بزرگنمایی‌های اپتیک از اجسام کوچک را جهت داشتن تصویری واضح‌تر و بزرگ‌تر از محل انجام فرایند بررسی جسم را به عهده دارد.

- **منبع نور میکروسکوپ**

اکثر مواقع به شکل یک منبع نور سرد است که بر روی پایه نصب شده و توسط فیبرهای نازک با هدایت نور به محل مورد نظر، جسم را از طریق دو مسیر متفاوت با کاهش سایه‌های موجود نمایان‌تر می‌سازد.

- **پایه میکروسکوپ**

از یک سری اتصالات چرخان با قابلیت حفظ تعادل تشکیل شده که امکان حرکت آرام برای قرار گرفتن در بهترین مکان را جهت مشاهده جسم فراهم می‌کند. همچنین امکان قفل نمودن میکروسکوپ بر روی یک تکیه‌گاه فلزی نیز وجود دارد تا حتی‌الامکان کمترین لرزش ممکن حین استفاده از میکروسکوپ بر روی ناحیه قرار داده شده روی بدن ایجاد گردد.



اجزای اصلی میکروسکوپ نوری

• پایه

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

• لوله

میکروسکوپیهای مختلف تک چشمی (monocular) و یا دو چشمی (binocular) می باشند، وقتی به مدت طولانی می خواهیم از میکروسکوپ استفاده کنیم دو چشمی بهتر است، چون مانع خستگی چشم می باشد. لوله شامل دو گروه عدسی به نامهای چشمی و شیئی است.

• عدسیهای شیئی

وظیفه عدسی شئی تهیه تصویر بزرگ شده از شیئی مورد نظر است عدسیهای شیئی معمولا بصورت عدسیهای مرکب می باشند. کیفیت در عدسیهای شیئی به شدت روشنائی تصویر وابسته است.

اجزای اصلی میکروسکوپ نوری

• عدسیهای چشمی

- وظایفی که عدسیهای چشمی بر عهده دارند عبارتند از: بزرگ نمودن 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 می باشند که دو نوع معروف و معمول آنها عبارتند از چشمی هویگنس (Huygenian) و چشمی رامزدن (Ramsden) چشمی هویگنس متشکل از دو عدسی سطح محدب می باشد که یک طرف هر کدام مسطح و یکطرف محدب می باشد.



اجزای اصلی میکروسکوپ نوری

• سیستم روشنایی

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

لامپ هالوژن: این لامپ نور سفید ایجاد می کند و متشکل از یک رشته تنگستن در گاز هالوژن می باشد. از لحاظ قیمت در مقایسه با لامپ جیوه و گزنون ارزانتر می باشد.

لامپ تنگستن: این لامپها در میکروسکوپهای ارزان قیمت و آموزشی بکار می روند.

لامپ گزنون: این نوع لامپ یک لامپ تخلیه الکتریکی است. این لامپها دارای پایداری بیشتری نسبت به لامپهای جیوه ای می باشند.

لامپ جیوه ای: این لامپ همانند لامپ گزنون از طریق تخلیه الکتریکی ایجاد نور می نماید. لامپ جیوه ای حاوی مقدار کمی جیوه است که در اثر یونیزه شدن هوای داخل لامپ، یونهای تولید شده موجب تبخیر و یونیزه شدن جیوه ها می شوند.

• کندانسور

وظیفه کندانسور متمرکز کردن نور بر روی نمونه می باشد. کندانسور در زیر Stage که محل قرارگیری نمونه است واقع می شود. کندانسور substage نور منبع را روی صفحه ی نمونه، متمرکز می کند و میزان کافی نور همگرا شده، برای میکروسکوپ برای رسیدن به رزولوشن کامل را فراهم می کند

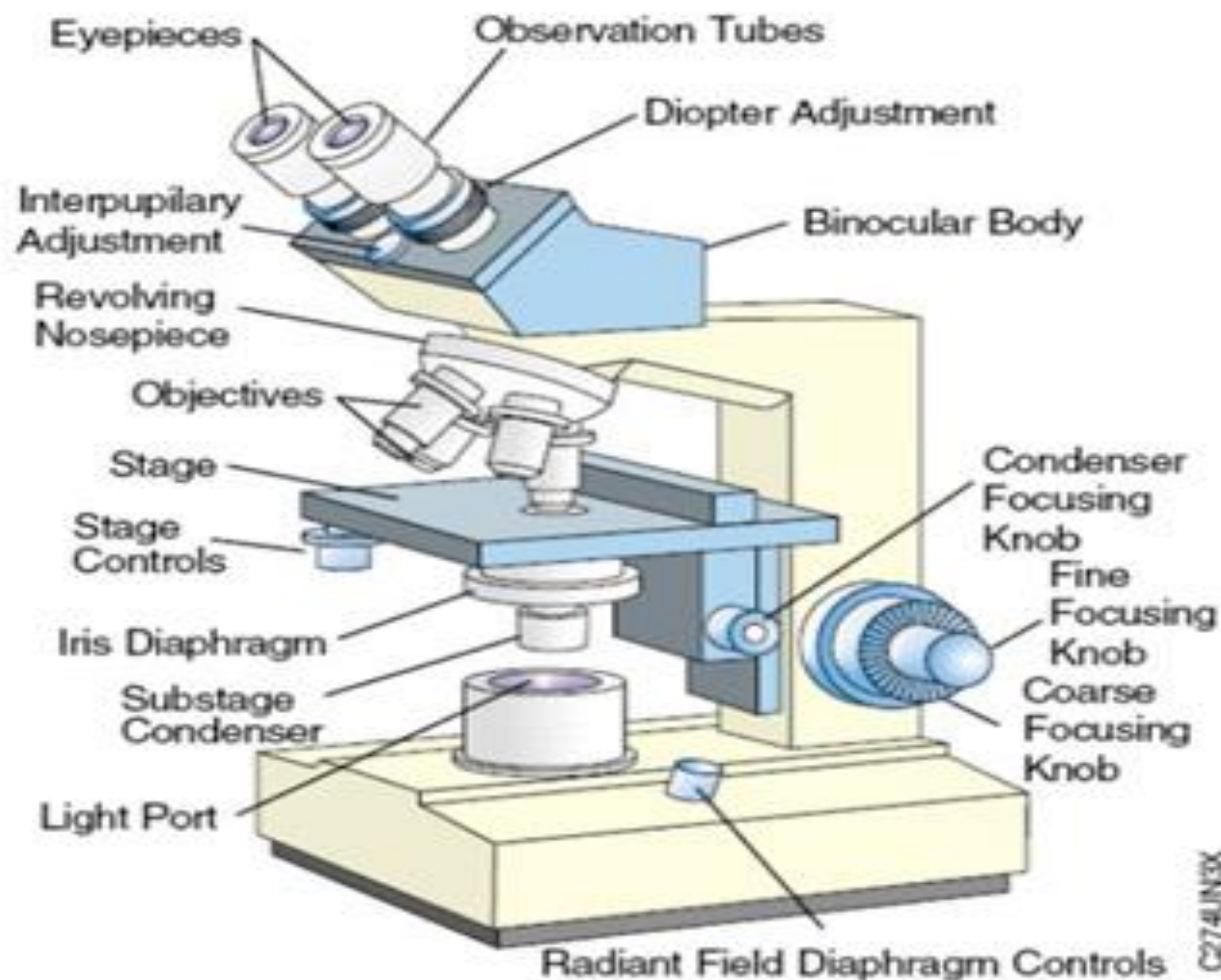
اجزای اصلی میکروسکوپ نوری

• Stage

صفحه ای است در زیر هدف که نمونه را نگه می‌دارد. در مرکز آن سوراخی است که از طریق آن نور برای روشن کردن نمونه عبور می‌کند. Stage معمولاً بازوهای برای نگهداشتن اسلایدها دارد.

در بزرگنمایی‌های بیش از ۱۰۰ برابر حرکت دادن اسلاید با دست امکان پذیر نیست. یک stage مکانیکی که معمولاً در میکروسکوپ‌های با قیمت متوسط به بالا وجود دارد امکان حرکات ریز اسلاید را از طریق کلیدهای کنترل که نمونه و اسلاید را به مقدار موردنظر حرکت می‌دهند فراهم می‌کند. اگر یک میکروسکوپ از اول stage مکانیکی نداشته باشد، می‌توان این مشخصه را به آن اضافه کرد.

تمام stageها برای متمرکز کردن به سمت بالا و پایین حرکت می‌کنند؛ در مورد stageهای مکانیکی اسلایدها در دو محور افقی هم برای تعیین موقعیت نمونه و بررسی جزئیات آن حرکت می‌کنند.



C274UN3X

شکل ۸- اجزای پایه ی یک میکروسکوپ نوری

سانتریفیوژ

تاریخچه سانتریفیوژ

مهندس انگلیسی به نام [Benjamin Robins](#) ، دستگاه بازویی چرخشی برای شناسایی داروها ایجاد کرده بود . در سال ۱۸۷۹ ، دانشمند دیگری، برای اولین بار سانتریفیوژهای امروزی را برای جداسازی خامه از شیر مورد استفاده قرار داد . در سال ۱۸۷۹ ، [Gustaf de Laval](#) ، نشان داد که از سانتریفیوژ میتوان برای کارهای تجاری استفاده کرد.



سانتریفیوژ

تاریخچه سانتریفیوژ

توجه به میکرو سانتریفیوژ ها ، در سال ۱۹۶۲ ، توسط شرکت آلمانی " Netheler & Hinz Medizintechnik " - که امروزه با نام eppendorf شناخته می شود - توسعه یافت و این شرکت سیستم میکرولیتری را برای اهداف آزمایشگاهی مورد استفاده قرار داد . تیوب های پلاستیکی میکرو و میکرو سانتریفیوژ ها در آزمایشگاه ها برای تجزیه و تحلیل درمقیاس میکرولیتر مورد استفاده قرار می گیرد . میکرو سانتریفیوژ های اولیه دارای یک دستگیره برای کنترل زمان و فضا برای ۱۲ میکروتیوب بودند که در یک زاویه ثابت می چرخیدند ولی فناوری های پیشرفته امروزی مانند خنک کننده ، برنامه ریزی ، تشخیص عدم تعادل خودکار ، کاهش سروصدا ، تغییر سیستم های روتور و ... باعث پیشرفت های بسیار زیادی در این زمینه شده هست .

انواع سانتریفیوژ

• تقسیم بندی بر حسب سرعت چرخش شامل موارد زیر است:

۱- سانتریفوژهای با دور بالا

۲- سانتریفوژهای با دور پایین

۳- سانتریفوژهای اولترا

سانتریفوژهای دور پایین که در هر دو فرم یخچال دار و بدون یخچال موجود هستند، بیشتر برای سانتریفوژ کردن سلول های خونی یا ذرات حجیم استفاده شده و برای جداسازی ذرات ریز سرعت آن کافی نیست.

سانتریفوژهای دور بالا برای بیشتر فراورده ها استفاده می شود و همگی یخچال دار می باشند. دو نوع سانتریفوژ با دور بالا وجود دارد: کم ظرفیت و پرظرفیت.

سانتریفوژ کم ظرفیت با نمونه برداری گسسته می تواند میکروارگانیزم ها، سلول ها، ویروس ها و ارگان های سلولی را جدا کند. سانتریفوژ پرظرفیت مدل پیوسته برای به دست آوردن مخمر و باکتری از محیط کشت، پروتئین از نمونه ها و ویروس از نمونه های رقیق شده کاربرد دارد. سانتریفوژ اولترا، برای تفکیک مواد تشکیل دهنده سلولی کاربرد دارند و همگی دارای یخچال هستند. زیرا در دوره های بالا اصطکاک هوا باعث گرم شدن دستگاه و در نتیجه تخریب پروتئین ها می شود. اولتراها معمولا در مراکز تحقیقاتی استفاده می شود.

طبقه بندی سانتریفیوژ

- سانتریفیوژ هماتوکریت
- میکروسانتریفیوژ
- سانتریفیوژ شستشودهنده سلول

طبقه بندی سانتریفیوژ

سانتریفیوژ هماتوکریت

- سانتریفیوژ هماتوکریت، هماتوکریت خون (نسبت حجم سلول های قرمز به حجم کلی) را مشخص می کند. این آزمایش مهم خون، در تشخیص کاهش خون و (افزایش بیش از حد گویچه های قرمز خون) و آنمی (کم شدن هموگلوبین زیر سطح نرمال) به کار می رود. روش های دستی و ماشینی متعددی برای اندازه گیری هماتوکریت خون وجود دارد.
- در روش خودکار توسط سانتریفیوژ، شمارنده ذرات الکترونیکی و تجهیزات لیزری، حجم سلول ها را اندازه گیری می کنند. روش های خودکار در غالب دستگاه های آنالایزر و هماتولوژی وجود دارد. روش میکروهیاتوکریت به علت نیاز کمتر به حجم نمونه، بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد و در آن از سانتریفوژهای دور بالا استفاده میشود. سانتریفیوژ میکروهیاتوکریت دارای روتوری است که لوله های موئین حاوی نمونه بصورت افقی روی آن قرار می گیرند.

طبقه بندی سانتریفیوژ

میکروسانتریفیوژ

- میکروسانتریفوژها، دستگاه هایی هستند که برای نمونه های با حجم کم (غالباً کمتر از ۱/۵ml) همانند نمونه های گرفته شده از اطفال، ساخته شده اند. میکروسانتریفوژها در مدل های دور پایین و دور بالا موجود هستند. در دور پایین حداکثر سرعت ۱۳۰۰۰ rpm بوده که برای خون و سایر محصولات خونی کاربرد دارد. در مدل های دور بالا، حداکثر سرعت ۲۸۰۰۰ rpm نیز رسیده و برای جمع آوری سلول ها و میکروارگانیزم ها کاربرد دارد.
- غالباً لوله هایی که در



- میکروسانتریفوژها استفاده می شوند از پلاستیک یک بار مصرف ساخته شده و دارای یک سطح مقطع مخروطی، هستند.

طبقه بندی سانتریفیوژ

سانتریفیوژ شستشودهنده سلول

سانتریفیوژ شستشودهنده سلول برای شستشو، مخلوط کردن و شستشوی مجدد گویچه های قرمز خون قبل از آزمایش آنتی گلوبین، استفاده می شوند. به علت مراحل متعدد موجود در این روش انجام دستی آن باعث اتلاف وقت می شود.

روش استفاده از سانتریفیوژ

- سانتریفوژها دارای یک سرپوش هستند که غالباً جهت ایجاد امنیت، در هنگام استفاده به طور خودکار قفل می شوند یا دارای یک قطع کننده جریان هستند که هنگامی که سرپوش باز است دستگاه روشن نمی شود. کنترل کننده های دستگاه، خارج از محفظه بوده یا روی یک Control Panel قرار گرفته اند. معمولاً یک نمایشگر، پارامترهای کلیدی دستگاه مانند سرعت برحسب rpm، دما و زمان را پایش می کند. کاربر، نمونه ها را در محل های موجود در روتور قرار داده و سرپوش را می بندد. سپس rpm مناسب، دما (اگر دمای خنک مورد نیاز است) و زمان مورد نظر را انتخاب کرده و دستگاه را روشن می کند. برخی از دستگاه ها، سرعت توقف را نیز تنظیم می کنند و برخی دارای ریزپردازنده هایی هستند که با وارد کردن یک کد تمامی پارامترهای مورد نیاز براساس آن کد، به طور خودکار تنظیم می شوند. هنگامی که کاربر با مواد خطرناک سروکار داشته باشد، رعایت اقدامات ایمنی ضروری است. علاوه بر این به غیر از سرپوش خارجی، سرپوش ایمنی داخلی نیز وجود دارد. در عین حال اهرم های مخصوص برای قرار دادن نمونه ها موجود هستند. سایر وسایل حفاظت کننده مانند محافظ صورت و عینک، محافظ چشم نیز از دیگر وسایلی هستند که احتمال خطر در مقابل پاتوژن های موجود در فرآورده های خونی یا سایر موارد را کاهش می دهند. قسمت هایی از سانتریفوژ که در تماس با مواد خطرناک بیولوژیک بوده اند باید ضدعفونی شوند (معمولاً با هیپوکلریت ۱۰٪).

ملاحظات خرید

- خریدار باید سانتریفوژی مناسب با نیازهای آزمایشگاهی خود خریداری کند. برای مثال در آزمایشگاه هایی که نمونه ها زیاد هستند، خرید یک سانتریفوژ قابل برنامه ریزی ضروری است ولی در آزمایشگاه های کوچک با تعداد کم نمونه، ضرورتی ندارد.
- رعایت ملاحظات ایمنی، از نکات ضروری در خرید یک سانتریفوژ است. سانتریفوژ باید دارای سرپوش ایمنی قفل شونده با سیستم قطع دستگاه، در هنگام باز شدن سرپوش داشته باشد. از دیگر موارد ایمنی موجود، پوشش محافظ داخلی و صفحه نمایشگر هشداردهنده است. سانتریفوژ باید تمیز باشد، صفحه نمایشگر به راحتی قابل خواندن باشد، به آلامهای هشداردهنده مجهز باشد که در هنگام بد کار کردن، عدم بالانس روتور یا باز بودن سرپوش به صدا درآیند.

ملاحظات خرید

در موارد خرید دستگاه سانتریفوژ، فاکتورهای ذیل از نکات مهم و قابل بررسی است:

- ابعاد: ابعاد سه بعدی دستگاه، نمایانگر حجم و جایگیری آن است.
- وزن (Weight): وزن دستگاه از فاکتورهای مهم هنگام خرید و نصب است.
- نمایشگر (Display): دیجیتال یا آنالوگ بودن نمایشگر دستگاه می تواند از جنبه فنی و دقت مورد بحث باشد.
- حداکثر سرعت (Max speed): این فاکتور معمولاً در دستگاه های سانتریفوژ نشان دهنده حداکثر سرعت گردش روتور سانتریفوژ است.
- حداکثر ظرفیت (Max Capacity): برای یک دستگاه سانتریفوژ، این مطلب که حداکثر چقدر بار را می تواند بدون افت زیاد دور موتور تحمل کند، مهم بوده و از لحاظ فنی موردنظر است.
- سردکننده (Cooling): وجود سردکننده در این نوع دستگاه ها، محیط سرد مناسب برای عمل سانتریفوژ کردن، در کاربردهای خاص را مهیا می سازد و از طرفی در دستگاه های با دور بالا از گرم شدن محفظه داخلی سیستم جلوگیری می کند.
- منبع تغذیه (Power Supply): مانند سایر سیستم ها از برق شهر با فرکانس مربوطه استفاده می شود