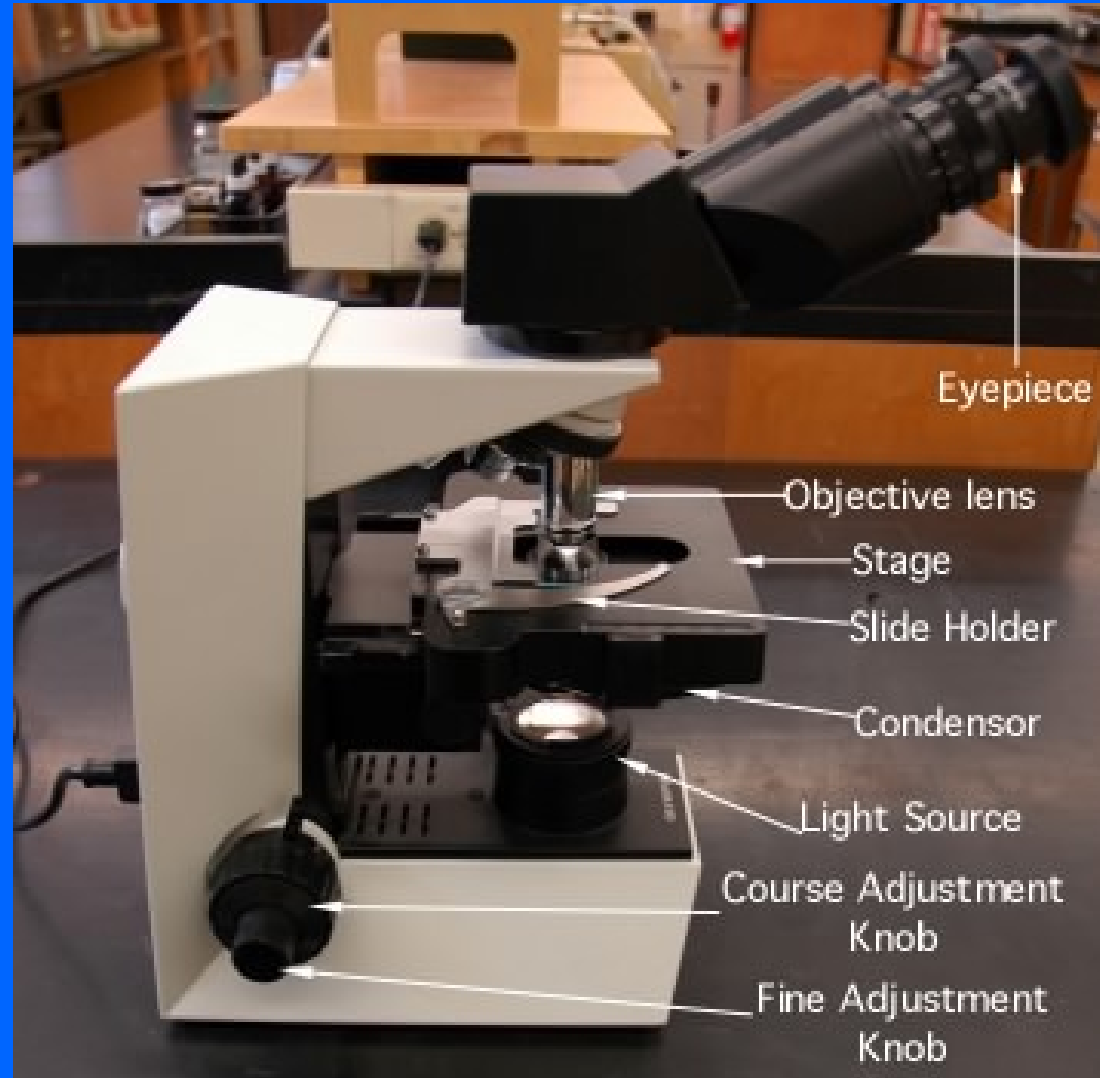


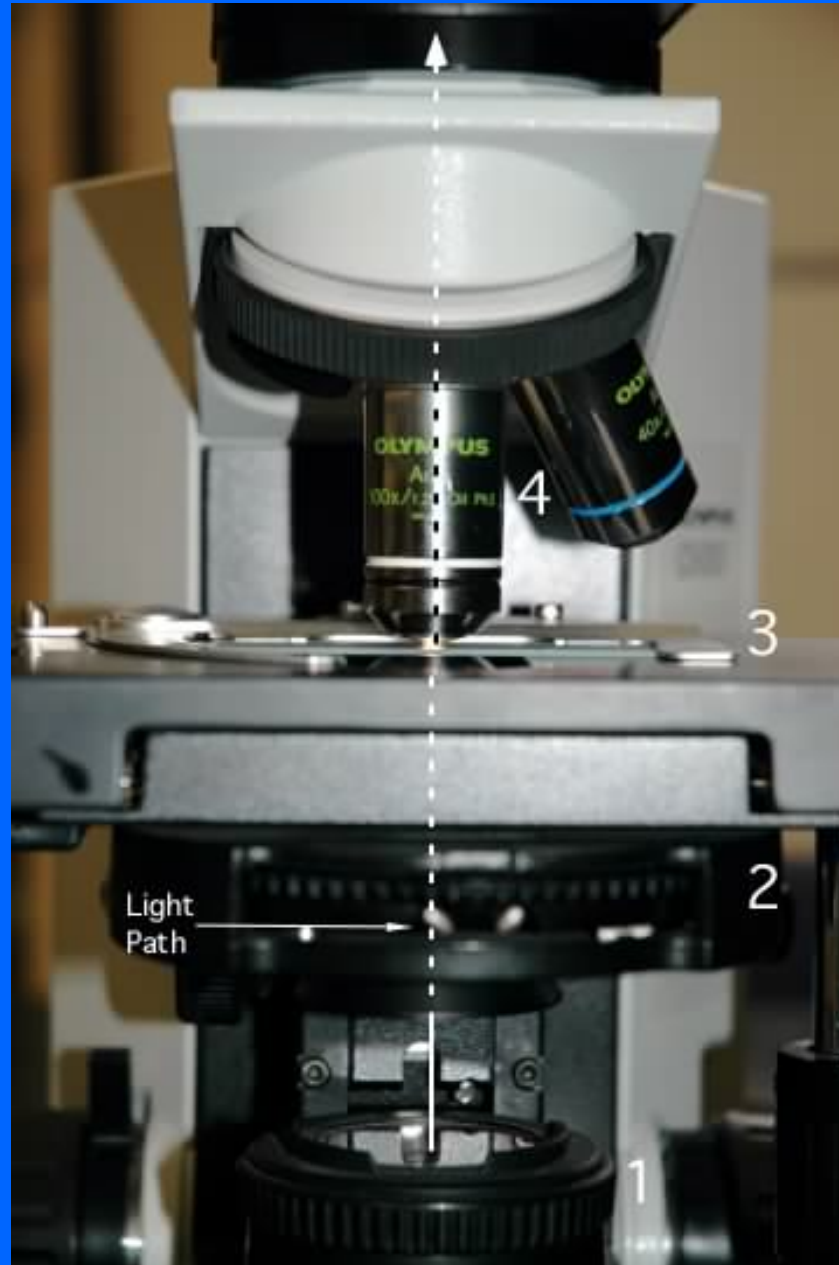
Microscope

**Nikon's First
Microscope
(circa early 1900s)**



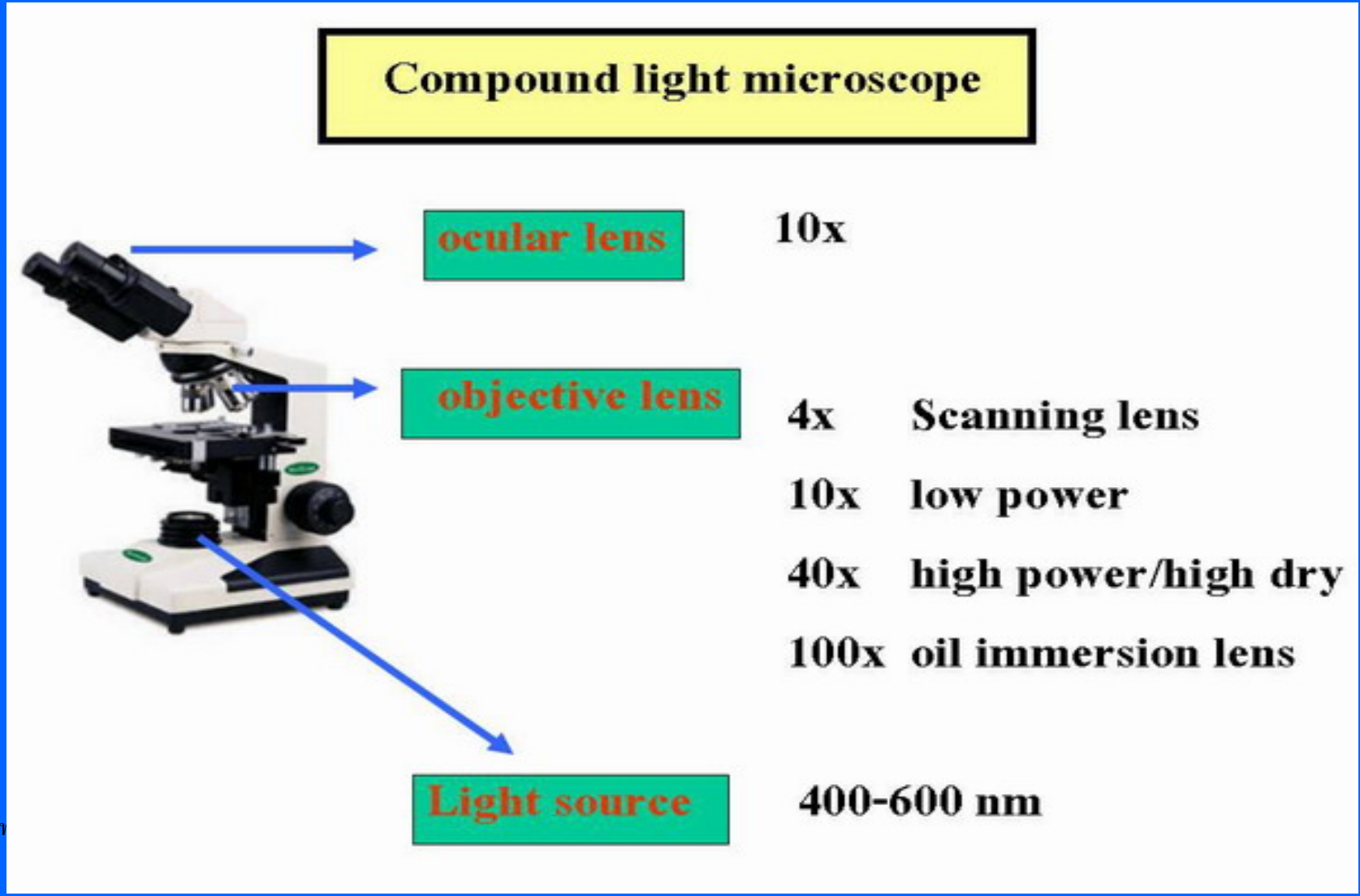
กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดา (Compound light microscope)
เป็นกล้องชนิดเลนส์ประกอบ ซึ่งประกอบด้วยเลนส์ใกล้วัตถุ และ
เลนส์ใกล้ตา





กำลังขยาย

เราสามารถคำนวณกำลังขยายของกล้องได้โดย นำกำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุคูณด้วยกำลังขยายของเลนส์ใกล้ตา

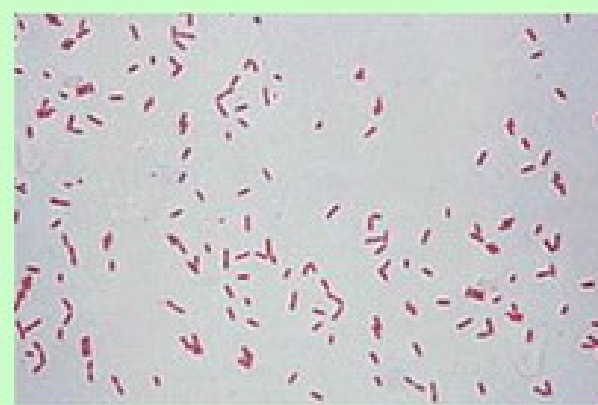


Brightfield Microscope

ใช้ศึกษารูปร่างของจุลินทรีย์

สามารถใช้ได้ทั้งจุลินทรีย์ที่ไม่มีการย้อมสี และจุลินทรีย์ที่ย้อมสี

แต่ไม่สามารถใช้ส่องดูจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กกว่า 0.2 ไมโครเมตร
เช่น ไวรัสได้

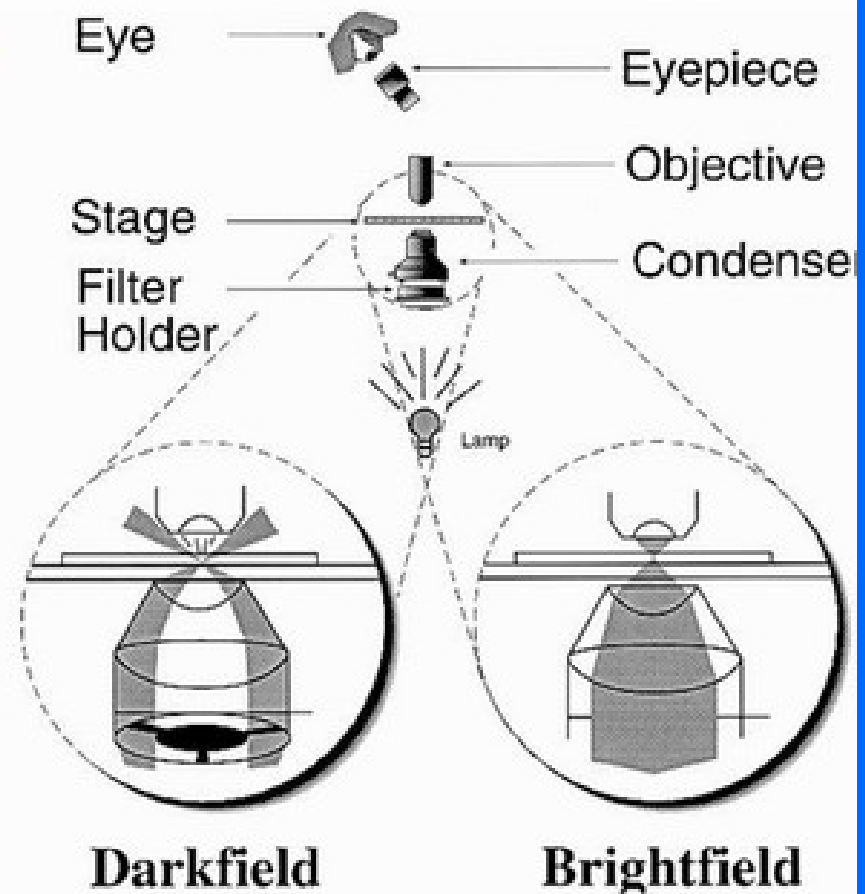
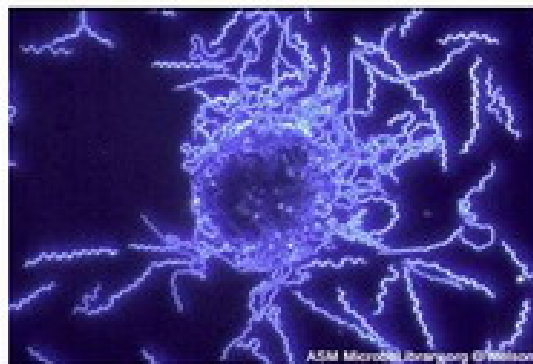


Darkfield Microscope

มีแผ่นทึบกันทางเดินของแสงก่อนถึง **condenser lens** ทำให้เห็นภาพวัตถุสว่างบนพื้นสีดำ

นิยมใช้กับจุลินทรีย์ประเภท **spirochetes**

ตัวอย่างที่นำมาตรวจไม่ต้องผ่านการย้อมสี



Phase-Contrast Microscope

ใช้ดูเซลล์ที่มีชีวิตไม่ผ่านการย้อมสีทำให้เห็นความแตกต่าง บอกรายละเอียดภายในวัตถุได้



มี Annular diaphragm ปรับทางเดินของแสง ทำให้แสงผ่านวัตถุออกมาเป็นหลายระยะขึ้นกับความลึก และความหนาแน่นของวัตถุที่ต่างกัน

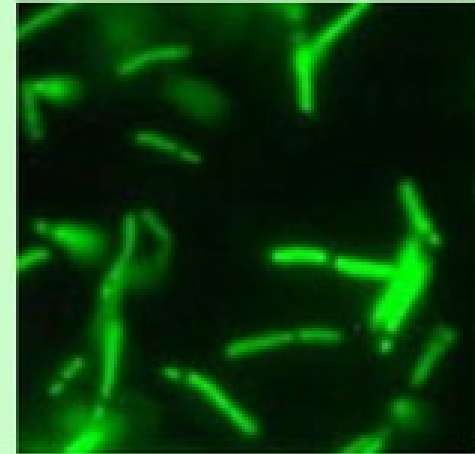


Fluorescence Microscope

ใช้สีย้อมชนิดเรืองแสง

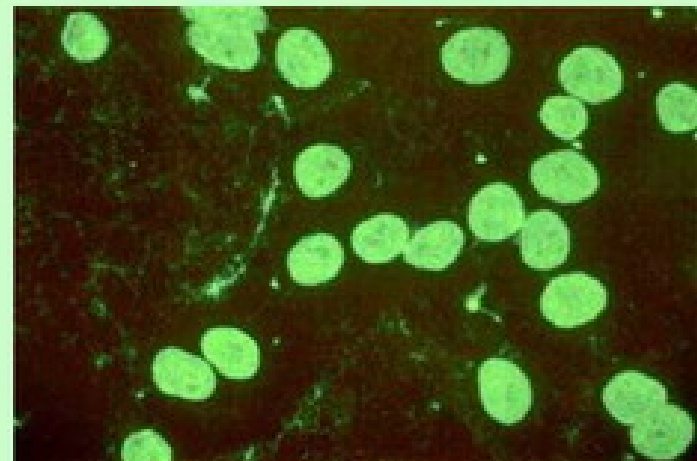
มี UV เป็นแหล่งกำเนิดแสง (200-400 nm)

เห็นภาพเรืองแสงปรากฏบนพื้นดำ



ใช้กับ fluorescence antibody technique

- rabies
- TB



กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ (Stereoscopic microscope)

กล้องชนิดนี้เป็นกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่ทำให้เกิดภาพสามมิติ ใช้ในการศึกษาวัตถุที่มีขนาดใหญ่ แต่ตาเปล่าไม่สามารถแยกรายละเอียดได้ จึงต้องใช้กล้องชนิดนี้ช่วยขยาย กล้องชนิดนี้มีข้อแตกต่างจากกล้องทั่วไป คือ

1. ภาพที่เห็นเป็นภาพเสมือนมีความชัดลึกและเป็นภาพสามมิติ
2. เลนส์ใกล้วัตถุมีกำลังขยายต่ำ คือ น้อยกว่า 10 เท่า
3. ใช้ศึกษาได้ทั้งวัตถุโปร่งแสงและวัตถุทึบแสง
4. ระยะห่างจากเลนส์ใกล้วัตถุกับวัตถุที่ศึกษาจะอยู่ในช่วง 63-225

มิลลิเมตร



กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron Microscope) หรือ E.M.

ประดิษฐ์ขึ้นครั้งแรกให้ประเทศเยอรมนี เมื่อปี พ.ศ. 2475 โดยนักวิทยาศาสตร์ 2 ท่าน คือ แมกซ์ นอลล์ (Max Knoll) และเอิร์นสต์ รุสกา (Ernst Ruska) โดยแสงที่ใช้เป็นลำแสงอิเล็กตรอน ซึ่งมีขนาดเล็กมาก ทำให้มีกำลังขยายสูงมาก ลำแสงอิเล็กตรอนมีความยาวคลื่นประมาณ 0.025 อังสตรอม (\AA) ($1 \text{\AA} = 10^{-4}$ ไมโครเมตร) ดังนั้นจึงทำให้กล้องจุลทรรศน์มีค่าริโซลูชัน ประมาณ 0.0004 ไมโครเมตร และมีกำลังขยายถึง 500,000 เท่า หรือมากกว่า

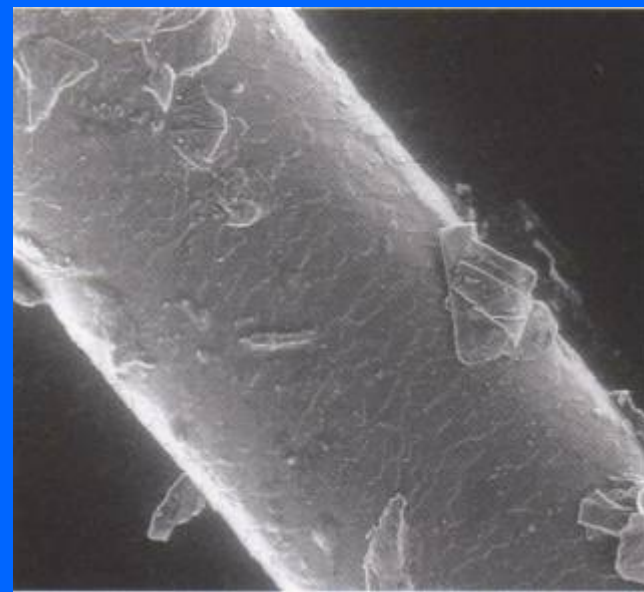
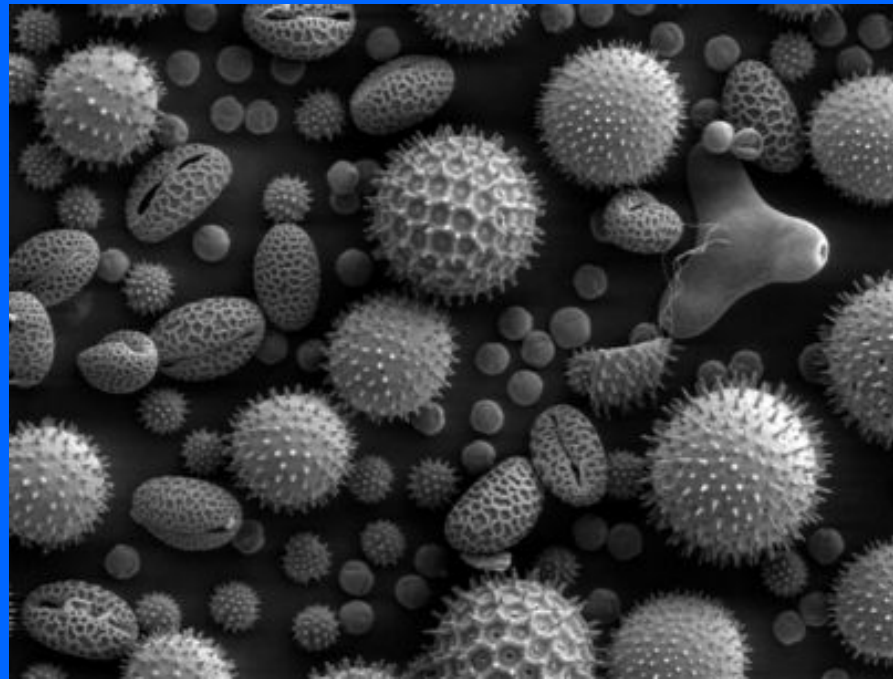
แหล่งกำเนิดแสงอิเล็กตรอน คือ ปืนยิงอิเล็กตรอน (Electron gun) ซึ่งเป็นขดลวดทั้งสแตน มีลักษณะเป็นรูปตัววี เมื่อขดลวดทั้งสแตนร้อนขึ้นโดยการเพิ่มกระแสไฟฟ้าเข้าไปให้ขดลวด ทำให้อิเล็กตรอนถูกปล่อยออกมาจากขดลวด เนื่องจากอิเล็กตรอนมีขนาดเล็กมาก เพื่อป้องกันการรบกวนของลำแสงอิเล็กตรอน จึงต้องมีการดูดอากาศออกจากตัวกล้องให้เป็นสุญญากาศ เพื่อป้องกันการชนกันของมวลอากาศกับลำแสงอิเล็กตรอน ซึ่งทำให้เกิดการหักเหได้

ระบบเลนส์เป็นเลนส์ระบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic lens) แทนเลนส์แก้วในกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เลนส์แม่เหล็กไฟฟ้าประกอบด้วยขดลวดพันรอบแท่งเหล็ก เมื่อกระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปทำให้เกิดสนามแม่เหล็กขึ้น สนามแม่เหล็กไฟฟ้าทำให้ลำแสงอิเล็กตรอนเข้มข้นขึ้น เพื่อไปตกที่ตัวอย่างวัตถุที่จะศึกษา เลนส์ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนประกอบด้วยเลนส์รวมแสง (Objective) และ Projector lens โดย Projector lens ทำหน้าที่ฉายภาพ จากตัวอย่างที่จะศึกษาลงบนจอภาพ (ทำหน้าที่คล้ายกับ Eyepiece ของกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา) จอภาพฉายด้วยสารเรืองแสงพวกฟอสฟอรัส เมื่อลำแสงอิเล็กตรอนตกลงบนจอ จะทำให้เกิดเรืองแสงเป็นแสงสีเขียวแกมเหลือง ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ผู้ศึกษาก็สามารถเห็นภาพบนจอได้

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในปัจจุบันมี 2 ชนิดคือ

1. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Transmission electron microscope) เรียกว่า TEM ซึ่งเอิร์น รุสกา สร้างได้เป็นคนแรก เมื่อปี พ.ศ. 2475 ใช้ในการศึกษาโครงสร้างภายในของเซลล์ โดยลำแสงอิเล็กตรอนจะส่องผ่านเซลล์ หรือตัวอย่างที่ศึกษา ซึ่งต้องมีการเตรียมกันเป็นพิเศษและบางเป็นพิเศษด้วย

2. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope) เรียกว่า SEM เอ็ม วอน เอนเดนนี่ (M. Von Ardenne) สร้างสำเร็จเมื่อปี พ.ศ. 2481 โดยใช้ศึกษาผิวของเซลล์หรือผิวของตัวอย่างวัตถุที่นำมาศึกษา โดยลำแสงอิเล็กตรอนจะส่องกราดไปบนผิวของวัตถุ ทำให้ได้ภาพซึ่งมีลักษณะเป็นภาพ 3 มิติ



Electron Microscope

แหล่งกำเนิดแสงเป็น electron beam / lens ใช้ electromagnetic lens

จากสมการ
$$R = \frac{\lambda}{2N.A}$$

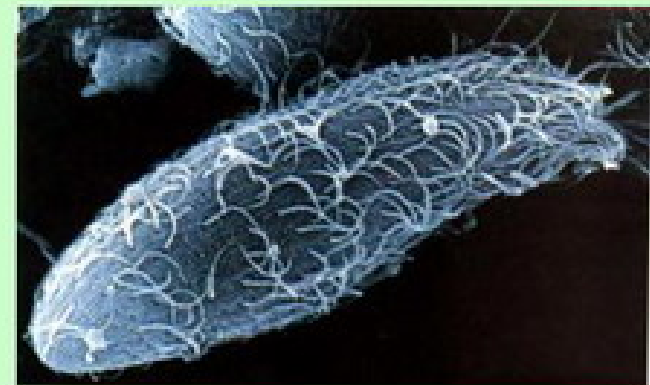
TEM (Transmission Electron Microscope)

กำลังขยายสูงสุด 1,000,000 เท่า



SEM (Scanning Electron Microscope)

กำลังขยายสูงสุด 10,000 เท่า



ลักษณะที่เปรียบเทียบ

1. ต้นกำเนิดแสง

2. แสงที่ใช้

3. ชนิดของเลนส์

4. กำลังขยาย

กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

กระจกหรือหลอดไฟ

แสงสว่างในช่วงที่ตามองเห็นได้ (ม่วง – แดง)
ความยาวคลื่น 4,000-7,000 อังสตรอม

เลนส์แก้ว

1,000 – 1,500 เท่า

กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอน

ปืนยิงอิเล็กตรอน

ลำแสงอิเล็กตรอนความยาวคลื่นประมาณ 0.05 อังสตรอม

เลนส์แม่เหล็กไฟฟ้า

200,000 – 500,000 เท่าหรือมากกว่า

ลักษณะที่เปรียบเทียบ

กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอน

5. ขนาดของวัตถุเล็กสุดที่มองเห็น

0.2 ไมโครเมตร

0.0004 ไมโครเมตร

6. อากาศในตัวกล้อง

มีอากาศ

สุญญากาศ

7. ภาพที่ได้

ภาพเสมือนหัวกลับดูได้จากเลนส์ตา

ภาพปรากฏบนจอรับภาพเรืองแสง

8. ระบบหล่อเย็น

ไม่มี

มีเนื่องจากเกิดความร้อนมาก

9. วัตถุที่ส่องดู

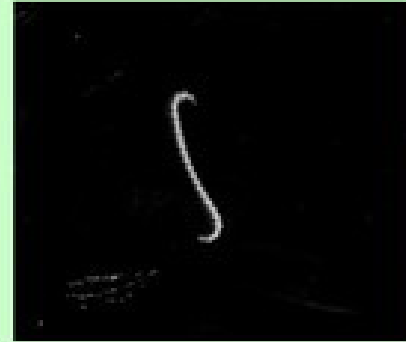
มีหรือไม่มีชีวิต

ไม่มีชีวิตเท่านั้น

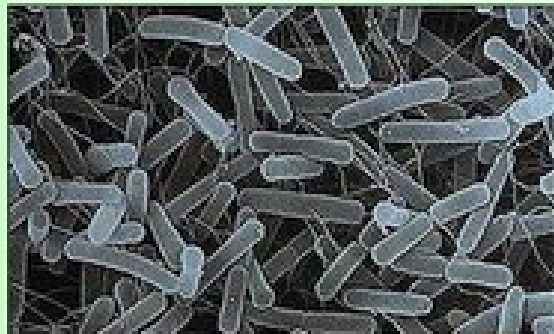
ภาพที่เห็นเป็นภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดใด



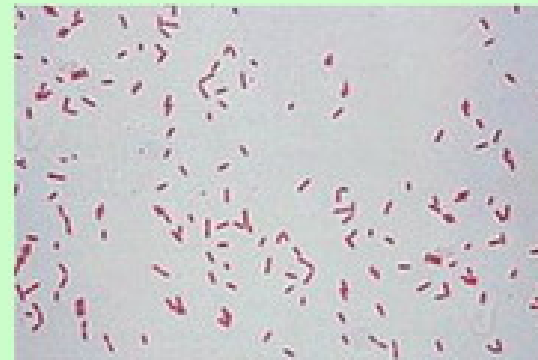
TEM



**Darkfield
Microscope**



SEM



**Brightfield
Microscope**