

ใบความรู้

เรื่อง กล้องจุลทรรศน์ ส่วนประกอบและวิธีใช้งานกล้องจุลทรรศน์

ชื่อ _____ นามสกุล _____ ชั้น ม./ _____ เลขที่ _____
วันที่ _____ เดือน _____ พ.ศ. 2564 รายวิชา วิทยาศาสตร์



กล้องจุลทรรศน์

เป็นเครื่องมือสำคัญของการศึกษาชีววิทยา เพราะกล้องจุลทรรศน์ช่วยให้เราสามารถศึกษาโครงสร้างและส่วนประกอบของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กๆ ได้

กล้องจุลทรรศน์แต่ละแบบจะให้กำลังขยายที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพและลำแสงที่ใช้



ประเภทของ กล้องจุลทรรศน์

ในปัจจุบันกล้องจุลทรรศน์แบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. **กล้องจุลทรรศน์เลนส์เดี่ยว (simple light microscope)** เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ประกอบด้วยเลนส์เพียงเลนส์เดียว มีกำลังขยายต่ำ ประมาณ 4-50 เท่า ใช้ส่องดูวัตถุที่ไม่ต้องการกำลังขยายสูงมากนัก
2. **กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope)** เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ประกอบด้วยเลนส์ตั้งแต่ 2 เลนส์ขึ้นไป ปัจจุบันนี้สามารถให้กำลังขยายสูงสุดได้ถึง 1,250 เท่า โดยใช้แสงธรรมดา และ ถ้าใช้แสงสีฟ้า จะเพิ่มกำลังขยายได้ถึง 5,000 เท่า ซึ่งกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ มีอยู่ 2 แบบ คือ กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดาและแบบสเตอริโอ
3. **กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอน (electron microscope)** มีกำลังขยายสูง สามารถปรับเปลี่ยนกำลังขยายได้โดยปรับเปลี่ยนแรงดันไฟฟ้า มีกำลังขยาย 500-1,000,000 เท่า ซึ่งมีอยู่ 2 แบบ คือ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope- TEM) และแบบส่องกราด (Scanning electron microscope-SEM)



ส่วนประกอบกล้องจุลทรรศน์

1. **ฐาน (base)** ทำหน้าที่รับน้ำหนักทั้งหมดของกล้องจุลทรรศน์ มีรูปร่างสี่เหลี่ยม หรือวงกลม ที่ฐานจะมีปุ่มสำหรับปิดเปิดไฟฟ้า
2. **มือจับ (arm)** เป็นส่วนยึดลำกล้องและฐานไว้ด้วยกัน ใช้เป็นที่จับเวลาเคลื่อนย้ายกล้องจุลทรรศน์
3. **ลำกล้อง (body tube)** เป็นส่วนที่อยู่ต่อจากมือจับมีลักษณะเป็นท่อกว้างปลายด้านบนมีเลนส์ใกล้ตาสวมอยู่ ด้านบนอีกด้านหนึ่งมีชุดของเลนส์ใกล้วัตถุซึ่งติดอยู่กับจานหมุนที่เรียกว่า Revolving Nosepiece
4. **แท่นวางวัตถุ (stage)** เป็นแท่นสำหรับวางสไลด์ตัวอย่างที่ต้องการศึกษา มีลักษณะเป็นแท่นสี่เหลี่ยม หรือวงกลมตรงกลางมีรูให้แสงจากหลอดไฟส่องผ่านวัตถุแท่นนี้สามารถเลื่อนขึ้นลงได้ตามในของแท่นวางวัตถุจะมีคลิปสำหรับยึดสไลด์ และมีอุปกรณ์ช่วยในการเลื่อนสไลด์ (Mechanical Stage) นอกจากนี้ยังมีสเกลบอกตำแหน่งของสไลด์บนแท่นวางวัตถุ ทำให้สามารถบอกตำแหน่งของภาพบนสไลด์ได้
5. **เลนส์รวมแสง (condenser)** จะอยู่ด้านใต้ของแท่นวางวัตถุ เป็นเลนส์รวมแสง เพื่อรวมแสงผ่านไปยังวัตถุที่อยู่บนสไลด์ สามารถเลื่อนขึ้นลงได้โดยมีปุ่มปรับ

6. แหล่งกำเนิดแสง (light source) อาจเป็นกระจกเงาที่รับแสงจากภายนอก หรือ หลอดไฟที่ติดอยู่บริเวณฐานกล้อง
7. ไอริส ไดอะแฟรม (iris diaphragm) คือม่านปิดเปิดรูรับแสง สามารถปรับขนาดของรูรับแสงได้ตามต้องการ มีคันโยกสำหรับปรับขนาดรูรับแสงอยู่ด้านล่างใต้แท่นวางวัตถุ
8. เลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) จะติดอยู่เป็นชุดกับจานหมุน ซึ่งเป็นส่วนของกล้องที่ประกอบด้วยเลนส์ ซึ่งรับแสงที่ส่องผ่านมาจากวัตถุที่นำมาศึกษา (Specimen) เมื่อลำแสงผ่านเลนส์ใกล้วัตถุ เลนส์ใกล้วัตถุจะขยายภาพของวัตถุนั้น และทำให้ภาพที่ได้เป็นภาพจริงหัวกลับ ขนาดใหญ่กว่าวัตถุ (Primary Real Image) โดยเลนส์ใกล้วัตถุจะมีกำลังขยายต่าง ๆ กัน ได้แก่
 - ❑ เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ (Lower Power) กำลังขยาย 4X, 10X
 - ❑ เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายสูง (High Power) 40X
 - ❑ เลนส์ใกล้วัตถุแบบหัวน้ำมัน (Oil Immersion) ขนาด 100X *หากใช้ต้องหยดน้ำมันบนสไลด์ตัวอย่าง
9. จานหมุน (revolving nosepiece) ใช้สำหรับหมุน เพื่อเปลี่ยนกำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ
10. เลนส์ใกล้ตา (eyepiece lens หรือ ocular lens) เลนส์นี้จะสวมอยู่กับลำกล้อง มีตัวเลขแสดงกำลังขยายอยู่ด้านบน เช่น 5X, 10X หรือ 15X เป็นต้น กล้องที่ใช้ในปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไปนั้น มีกำลังขยายของเลนส์ตาที่ 10X (รุ่นที่มีเลนส์ใกล้ตาเลนส์เดียว เรียก Monocular Microscope ชนิดที่มีเลนส์ใกล้ตาสองเลนส์ เรียก Binocular Microscope) ภาพที่ผ่านเลนส์ใกล้วัตถุ เมื่อผ่านเลนส์ใกล้ตาจะกลายเป็นภาพเสมือนหัวกลับขนาดใหญ่กว่าวัตถุ
11. ปุ่มปรับภาพหยาบ (coarse adjustment knob) ใช้เลื่อนตำแหน่งของแท่นวางวัตถุขึ้นลง เมื่ออยู่ในระยะโฟกัส ก็จะมองเห็นภาพได้ ปุ่มนี้มีขนาดใหญ่จะอยู่ที่ด้านข้างของตัวกล้อง
12. ปุ่มปรับภาพละเอียด (fine adjustment knob) เป็นปุ่มขนาดเล็กอยู่ถัดจากปุ่มปรับภาพหยาบออกมาทางด้านนอกที่ตำแหน่งเดียวกัน หรือกล้องบางชนิดอาจจะอยู่ใกล้ ๆ กัน เมื่อปรับด้วยปุ่มปรับภาพหยาบจนมองเห็นภาพแล้วจึงหมุนปุ่มปรับภาพละเอียดจะทำให้ได้ภาพคมชัดยิ่งขึ้น



วิธีการใช้กล้องจุลทรรศน์

การใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) มีวิธีใช้ดังนี้

1. วางกล้องให้ฐานอยู่บนพื้นรองรับที่เรียบสม่ำเสมอเพื่อให้ลำกล้องตั้งตรง
2. หมุนเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) อันที่มีกำลังขยาย _____ สุดมาอยู่ตรงกับลำกล้อง
3. เปิดแสงใต้แท่นวางวัตถุให้แสงเข้าลำกล้อง
4. นำสไลด์ที่จะศึกษาวางบนแท่นวางวัตถุ เลื่อนวัตถุให้อยู่ _____ บริเวณที่แสงผ่าน โดยมองด้านข้างตามแนวระดับแท่นวางวัตถุ และหมุนปุ่มปรับภาพ _____ ให้ลำกล้องเลื่อนเข้าใกล้วัตถุที่จะศึกษามากที่สุด
5. มองผ่านเลนส์ใกล้ตา (eyepiece) ลงตามลำกล้อง พร้อมกับหมุนปุ่มปรับภาพ _____ เพื่อให้แท่นวางวัตถุเคลื่อนลงช้า ๆ จนมองเห็นวัตถุที่จะศึกษาค่อนข้างชัดเจน แล้วจึงเปลี่ยนมาหมุนปุ่มปรับภาพ _____ เพื่อปรับภาพให้คมชัด อาจเลื่อนสไลด์ไปมาช้า ๆ เพื่อให้สิ่งที่ต้องการศึกษามายู่กลางแนวลำกล้อง
6. ถ้าต้องการขยายภาพให้ใหญ่ขึ้น ให้หมุนเลนส์ใกล้วัตถุอันที่มีกำลังขยายสูงขึ้น (10X) เข้ามาในแนวลำกล้อง และไม่ต้องขยับสไลด์อีก แล้วหมุนปุ่มปรับภาพ _____ เพื่อให้เห็นภาพชัดเจนนั่น
7. การปรับแสงที่เข้าในลำกล้องให้มากหรือน้อย ให้หมุน _____ ปรับแสงตามต้องการ
8. ถ้าต้องการให้ภาพขยายใหญ่ขึ้นก็หมุนเลนส์อันที่มีกำลังขยายสูงขึ้นเข้าสู่แนวลำกล้อง แล้วปรับความคมชัดด้วยปุ่มปรับภาพละเอียดเท่านั้น

9. บันทึกกำลังขยายโดยหาได้จาก

$$\text{กำลังขยายของกล้อง} = \frac{\text{ระยะชัดลึก} - \text{ระยะชัดตื้น}}{\text{ระยะชัดตื้น}} \times \text{กำลังขยายของเลนส์}$$

10. หลังจากใช้กล้องจุลทรรศน์แล้ว ให้ปรับระดับแสงจากแหล่งกำเนิดให้ต่ำสุดและปิดไฟ เลื่อนที่หนีบสไลด์ให้ตั้งฉากกับที่วางวัตถุ หมุนเลนส์ใกล้วัตถุให้เป็นอันที่มีกำลังขยายต่ำสุดอยู่ในตำแหน่งของลำกล้อง และเลื่อนแท่นวางวัตถุให้อยู่ในตำแหน่งสูงสุด เช็ดทำความสะอาดส่วนที่เป็นโลหะด้วยผ้านุ่มๆ และสะอาด แล้วจึงนำกล้องเข้าเก็บในตำแหน่งที่เก็บกล้อง

“เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100X จะมีระยะการทำงานของเลนส์วัตถุสั้นมาก จึงต้องหยดน้ำมันลงบนแผ่นสไลด์ ให้เลนส์แช่อยู่ในน้ำมัน เพื่อให้ไขมันเป็นตัวปรับดัชนีหักเหของแสงที่ส่องจากแผ่นสไลด์มาสู่เลนส์ใกล้วัตถุ”



ข้อควรระวังในการใช้กล้อง

กล้องจุลทรรศน์เป็นอุปกรณ์ที่มีราคาค่อนข้างสูงและมีส่วนประกอบที่อาจเสียหายง่ายโดยเฉพาะเลนส์ จึงต้องใช้และเก็บรักษาด้วยความระมัดระวังให้ถูกวิธี ซึ่งมีวิธีปฏิบัติดังนี้

1. ในการยกกล้องและเคลื่อนย้ายกล้อง ต้องใช้มือหนึ่งจับที่แขนและอีกมือหนึ่งรองที่ฐานของ กล้อง
2. สไลด์และกระจกปิดสไลด์ที่ใช้ต้องไม่เปียก เพราะอาจจะทำให้แท่นวางวัตถุเกิดสนิม และเลนส์ใกล้วัตถุอาจขึ้นราได้
3. เมื่อต้องการหมุนปุ่มปรับภาพหยาบต้องมองด้านข้างตามแนวระดับแท่นวางวัตถุ เพื่อป้องกันการกระแทกของเลนส์ ใกล้วัตถุกับกระจกสไลด์ ซึ่งอาจทำให้เลนส์แตกได้
4. การหาภาพต้องเริ่มด้วยเลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยายต่ำสุดก่อนเสมอ
5. เมื่อต้องการปรับภาพให้ชัดขึ้นให้หมุนเฉพาะปุ่มปรับภาพละเอียดเท่านั้น เพราะถ้าหมุนปุ่มปรับภาพหยาบจะทำให้ระยะภาพหรือจุดโฟกัสของภาพเปลี่ยนไปจากเดิม
6. ห้ามใช้มือแตะเลนส์ ควรใช้กระดาษเช็ดเลนส์ในการทำทำความสะอาดเลนส์
7. เมื่อใช้เสร็จแล้วต้องเอาวัตถุที่ศึกษาออก เช็ดแท่นวางวัตถุและเช็ดเลนส์ให้สะอาด หมุนเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำสุดให้อยู่ตรงกลางลำกล้อง และเลื่อนลำกล้องลงต่ำสุด ปรับกระจกให้อยู่ในแนวตั้งฉากกับแท่นวางวัตถุเพื่อป้องกันไม่ให้ฝุ่นเกาะ แล้วเก็บใส่กล่องหรือตู้ให้เรียบร้อย