

جامعة سبها

مركز التدريب و التطوير

المختبر العلمي المركزي

منهج الدورة التدريبية حول

استخدام وصيانة المجهر الضوئي

اعداد: زينب علي جيب الله

يضع هذا المنهج دليل مفصل عن كيفية استخدام المجهر الضوئي العادي المعد للاستعمال في الاغراض العملية التعليمية. من خلال هذا الدليل تم الحديث عن مكونات المجهر الضوئي مع التعرّيج على بعض المكونات المهمة والتي قد تشكل فرق من مجهر لآخر كالعَدسات الشيئية والعينية و المكثف كما يحتوي على خطوات تفصيلية لكيفية تنظيف المجهر و العناية به والاهم من ذلك شرح مفصل عن كيفية استخدام المجهر بطريقة صحيحة وتحقيق افضل اداء للمجهر الضوئي بالإضافة الى صيانة بعض الاجزاء في حال تعرضها للتلف. املة من الله ان اكون وفقت في توصيل المعلومة لكم

زينب علي جيب الله

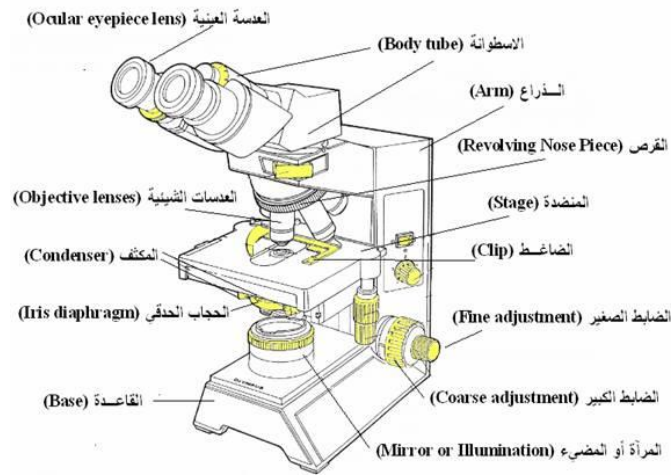
المجهر الضوئي عبارة عن جهاز يستخدم لتكبير العينات بطريقة لغرض فحصها و ملاحظة تفاصيل العينة بشكل جيد. تتباين المجاهر فيما بينها كثيرا من حيث الصنع لكنها جميعا تشترك في صفة جوهرية واحدة وهي ان لها جهاز بصري مكبر مكون من نوعين من العدسات، النوع الاول يعرف بالعدسات الشيئية و النوع الثاني يعرف بالعدسات العينية بالإضافة الى المسرح والمكثف.

تركيب المجهر

يتكون المجهر من العديد من المكونات شكل (1) وكل مكون له استخدام خاص به ووظيفة معينة وهذه المكونات هي:-

العدسة العينية (Eyepieces (Oculars

تعمل العدسة العينية بالاشتراك مع العدسة الشيئية على تكبير العينة الموجودة على المسرح بحيث يمكن مشاهدة تفاصيل العينة، وهي عبارة عن انبوب قصير يحتوي في مقدمته على عدسة محدبة مستوية تعرف بـعدسة العين Eye lens وعدسة اخرى محدبة ومستوية توجد في مؤخرة هذا الانبوب تعرف بـعدسة الحقل Field lens كما تحتوي على حاجز داخلي يعرف بالحجاب الحقل Field diaphragm الثابت (أي لا يمكن تغيير حجمه كما في الحجاب الحاجز الموجود في المكثف) يوجد في وسط انبوب العدسة يحتوي على فتحة مركزية التي بواسطة حجمها يتحدد الحقل الدائري للعرض الذي يكون ملاحظ عند النظر خلال المجهر. شكل (2).



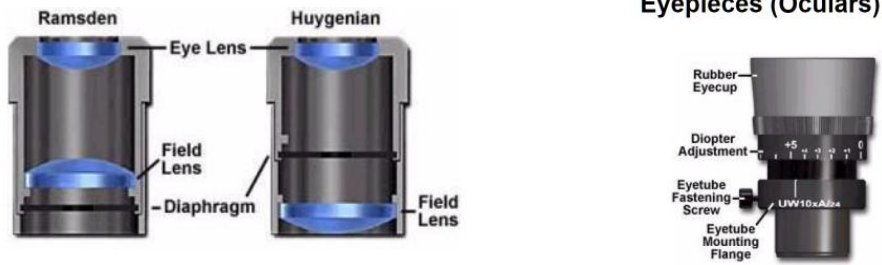
شكل (1) يبين تركيب المجهر.

العدسة العينية السالبة او Huygenian eyepiece

في هذا النوع يكون السطح المحدب لكل من عدسة العين وعدسة الحقل باتجاه العدسة الشيئية شكل (2) ويكون الحجاب الحقلي بين هاتين العدستين وهي تكون موجودة في معظم المجاهر ذات الشيئية من نوع achromats ذات قوة التكبير من 5x الى 40x (العدسات العينية الغير معروفة التي يكون مكتوب عليها التكبير فقط تكون شبيه بعدسة Huygenian).

العدسة العينية الموجبة او Ramsden

يستخدم هذا النوع مع الشيئيات ذات قوة التكبير العالية يكون كل من عدسة الحقل وعدسة العين تكونان منحنيتين ولكن عدسة الحقل يكون السطح المحدب فيها باتجاه عدسة العين مما يجعلها ملائمة لان يكون عليها خطوط شريحة القياس ويكون فيها كلا السطحين المحدبين لكل من عدسة الحقل وعدسة العين متقابلان للداخل أي ان عدسة الحقل تكون مسطح من الاسفل والحجاب الحقلي للعينية يكون اسفل عدسة الحقل وهي غير مصححة بشكل جيد للانحراف اللوني شكل (2)



شكل (2) تركيب العينية و عدستي العدسة العينية الموجبة او Ramsden و العدسة العينية السالبة او Huygenian eyepiece

العدسة العينية التعويضية Compensating eyepieces

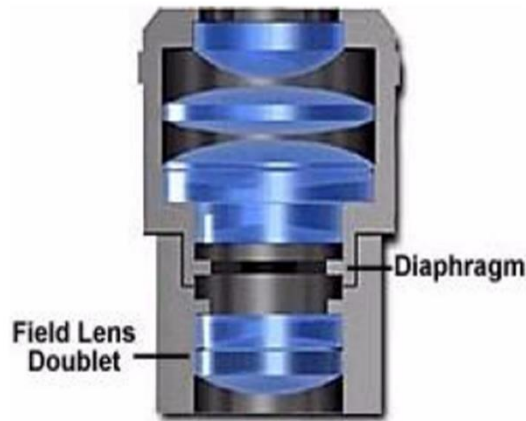
وهي اما ان تكون من النوع الموجب او السالب ولكن الانحراف اللوني الموجود بها تم تعديله عم طريق تعديل العدسة الشيئية نفسها (كما في حالة العينيات المصنعة من قبل شركتي Olympus و Nikon) او عن طريق تعديل انبوب العدسة (كما في حالة العينيات المصنعة من قبل شركتي Leica و Zeiss) بالتالي فهي ملائمة للعمل مع الشيئيات من نوع

achromats و fluorite و apochromatic. تتفاوت التصحيحات من شركة لأخرى مما يجعل من المهم جدا استعمال العينات الموصى بها فقط من قبل الشركة المصنعة للاستعمال مع الشيئية والرجوع الى الدليل الخاص بالمجهر الذي يوضح العينية التي يجب استخدامها مع الشيئية.

العينية Periplan eyepiece

وهي اكثر العينيات تصحيحا تحتوي على 7 عدسات ثلاث من هذه العدسات تكون مجمعة مع بعضها البعض و اثنين تكونان مجمعتين مع بعضهما البعض واثنان يكونان موجودتين بشكل فردي التصحيح الجيد بهذه العدسات ادى الى التخلص الانحراف اللوني كما انها مصحح للانحراف انحناء الحقل وتعطي اداء افضل بكثير خصوصا مع الشيئيات عالية التكبير شكل)

(3)



شكل (3) العدسة العينية Periplan eyepiece

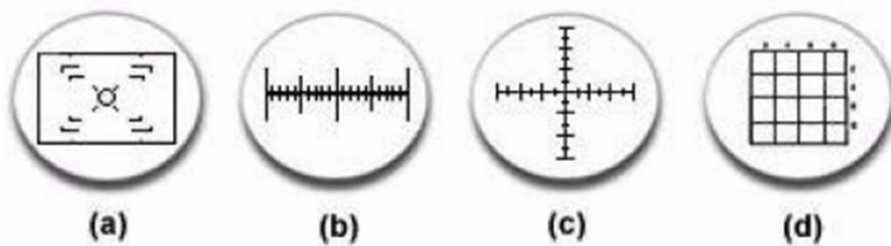
الكتابة التي على جوانب العينية تصف خصائص العينية ووظيفتها فالرمز UW يشير الى ان العينية لديها حقل عرض واسع جدا الرمز A/24 يشير الى قطر الحجاب الحقلي المثبت في العينية مقاس بالمليتر (أي حقل العرض)، الرمز K ، C ، Comp الذي يشير الى ان العينية من نوع العدسة العينية التعويضية، في حين ان الرمز H يشير الى نقطة العين العالية -high eyepoint eyepieces وهي النقطة التي يتجمع فيها مخروط الاشعة الخارج من العدسة العينية في بؤرة العين وهي مفيدة على نحو خاص للأشخاص الذين يرتدون النظارات لتصحيح بعد او قصر الرؤية (ولكنها لا تعدل العديد من عيوب الرؤية الاخرى) حيث تزود هذه العدسات

بضابط دقيق يعمل على تبئير الاشعة الخارجة من العدسة العينية مع بؤرة عين الفاحص دون الحاجة الى خلع النظارة.

يجب اخذ الحذر عند الدمج بين العينيات والشئييات لضمان افضل تكبير لتفاصيل العينة بدون اضافة اثار غير ضرورية . على سبيل المثال لتحقيق تكبير بحجم X250 فني المجهر قد يختار العينية ذات قوة التكبير X25 مع الشئيية X10 . الخيار البديل لنفس التكبير هي العينية X10 مع الشئيية 25X . لان الشئيية X25 لديها فتحة عددية اعلى (تقريبا 0.65) من تلك ذات X10 (تقريبا 0.25) اذا اخدنا بعين الاعتبار ان قيم الفتحة العددية تحدد قوة تحليل الشئيية للعينة، يكون من الواضح ان الخيار الاخير افضل كما تنتج تصوير مجهري ممتاز لتفاصيل العينة عند مقارنتها مع دمج مختلف. جدول 6 يبين الدمج الشائع بين العينيات والشئييات التي تكون بين التكبير المفيد

العينيات ذات معدل التكبير واسع الممتد من X6.3 الى X30 وبعض الاحيان اعلى من ذلك لديها تطبيقات خاصة. هذه العينيات مفيدة جدا للملاحظة والتصوير المجهري مع شئييات ذات تكبير منخفض لكن مع الشئييات عالية التكبير تؤدي الى حدوث مشكلة فراغ التكبير empty magnification (تكبير بدون زيادة الوضوح). معظم الشركات المصنعة قيدت او حددت حجم العينات بين X10- X20.

قد تحتوي العينية على رسومات عند مستوى الحجاب الحاجز للعينية هذه الرسومات قد تكون على شكل اطار تستخدم لعرض الحقل اثناء التصوير المجهري شكل (a4) وهي عبارة عن مربع صغير يحدد المساحة التي سوف يتم التقاطها بواسطة الكاميرا. او تكون على شكل خطوط تشبه الخطوط التي على مسطرة وهي تستخدم لقياس طول الابعاد للعينات تحت المجهر شكل (b4) . الرسم في الشكل (c4) تستخدم في حالة مجهر الاستقطاب لوضع العينية في مكان يكون ملائم لكل من المحلل والمستقطب اما الشكل (d 4) تستخدم لغرض العد تحت المجهر



شكل (4) بين الرسومات علي العدسة العينية

العدسة الشيئية Objectives lens

عبارة عن انابيب تتفاوت كثيرا فيما بينها من حيث الطول وقوة التكبير. توجد مثبتة على القطعة الانفية للمجهر وتصنف من حيث الحجم الى ثلاث انواع عدسات شيئية منخفضة التكبير-Low-power objectives وتتراوح قوة تكبيرها من $x2$ الى $x10$ ، وعدسات شيئية عالية التكبير High-power objectives وهذه تتفاوت قوى تكبيرها بين $x40$ الى $x80$ ، والنوع الثالث من العدسات الشيئية تعرف باسم العدسات الشيئية الزيتية Oil-immersion objectives وهذه تتراوح قوة تكبيرها من $x60$ الى $x100$. والجدير بالملاحظة ان العدسة الشيئية كلما زادت قوة تكبيرها كلما صغرت عدستها، وارتفعت جودتها وزاد طولها وارتفع سعره وكذلك زاد الرقم العددي المكتوب عليها وقصرت المسافة بين عدستها الامامية و العينة المدروسة. كما تمتاز العدسات الشيئية عالية التكبير بأن عدستها الامامية Front lenses تكون مركبة على زنبك طري وهذا لحمايتها من التلف خصوصا عندما تلامس الشريحة المهجرية بطريق الخطأ اثناء الاستعمال. الوظيفة الاساسية للعدسة الشيئية هي تكوين صورة خيالية وسطية مكبرة للجسم المدروس ، والتي بدورها تكبر مرة ثانية بواسطة العدسات العينية لتتكون لها صورة نهائية مكبرة.

انواع العدسات الشيئية

يوجد العديد من العدسات الشيئية شائعة الاستعمال كل نوع منها يمتاز ببعد بؤري Focal length وقوة تكبير اساسية و فتحة عددية (NA) Numerical aperture مختلفة وهذه العدسات هي :-

العدسات اللائونية Achromats

الشيئيات ذات التكلفة الاقل (والاكثر شيوعا) وتمتاز هذه العدسات بأن الزيغ اللوني معدل عن طريق جمع الاشعة الحمراء و الزرقاء في بؤرة واحدة. ويعطي هذا لون باهت كطيف ثانوي (اخضر شاحب) يمكن رؤيته حول حواف العينة مما يجعل عملية التباين اكثر وضوحا. اما الزيغ الكروي في هذه العدسات فهو الاخر معدل على طول موجة ضوئية واحدة تختار في مجال بين الاخضر و الاصفر للطيف، التصحيح المحدود لهذه العدسات تؤدي الى مشاكل في اللون المجهري و التصوير المجهري وبذلك تكون نتائج هذه العدسات افضل عند استخدام

مرشح ضوئي اخضر يسمح بمرور ضوء طول موجته في حدود 550 نانومتر
Nanometer كما تعاني ايضا من نقض تصحيح انحاء الحقل field curvature شكل (5)

العدسات الشبئية *fluorites* او *semi-apochromats*

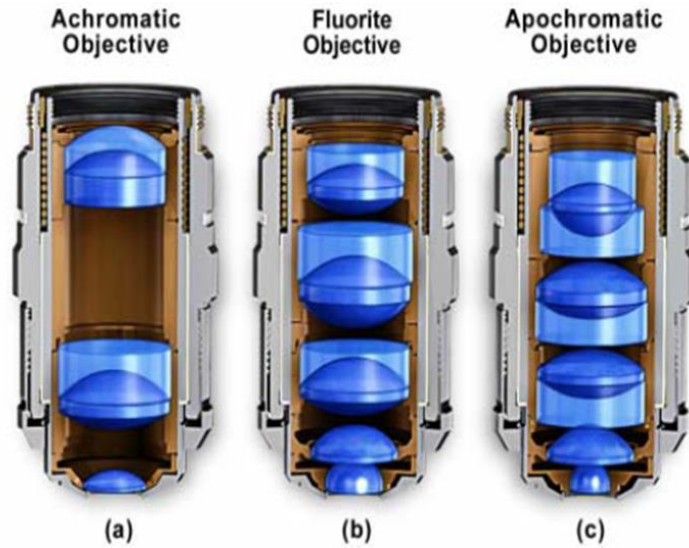
تمثل المستوى الثاني الاعلى للتصحيح والتكلفة وهي مصنوعة من تركيبات زجاجية متطورة تحتوي على مواد *fluorspar* التي تسمح بتحسين تصحيح الانحرافات البصرية. هذه العدسات لديها تصحيح اضافي للزيغ اللوني للضوء الاحمر والازرق بالإضافة الى ذلك مصححة كرويا هذا التصحيح مكن هذه الشبئيات لتكون مصنعة مع فتحة عددية اعلى منتجة صورة اكثر اضاءة كما لديها قوة انحلال افضل من عدسة *achromats* وبالتالي توفر درجة اعلى للتباين مما يجعلها مناسبة للتصوير المجهرى، من عيوب هذه العدسات انها تعاني من انحاء الحقل. شكل (5)

العدسة الشبئية *apochromatic*

اعلى مستويات التصحيح (مكلفة) وهي مصححة لونها لثلاث الوان (الاحمر والازرق و الاخضر) بالتالي يكون تقريبا مزال الانحراف اللوني كما انها مصححة كرويا. نتيجة للمستوى التصحيح العالي فإن هذه العدسات لديها فتحة عددية اعلى من *achromats* او *Fluorite* مما يجعل هذه العدسات الخيار الافضل للتصوير المجهرى الملون. من عيوبها انها ايضا تعاني من انحاء الحقل. شكل (5)

العدسة الشبئية *plan fluorites* او *plan apochromats*

كل هذه الانواع الثلاث من الشبئيات تعاني بشكل واضح من انحاء الحقل وتعرض الصور بشكل كروي اكثر من مسطح . للتغلب على هذه الحالات قام مصممو العدسات بإنتاج شبئيات يكون مصحح فيها انحاء الحقل فتنتج صور مسطحة بالرغم من ان درجة التصحيح مكلفة فإن هذه العدسات الان مستعملة بشكل كبير نتيجة لقيمتها للتصوير المجهرى شكل (5).



شكل (5) يبين انواع العدسات الشيئية

هناك العديد من المعلومات الموجودة على انبوب العدسة الشيئية وهي مقسمة لعدة فقرات شكل (6) وهي تشمل :-

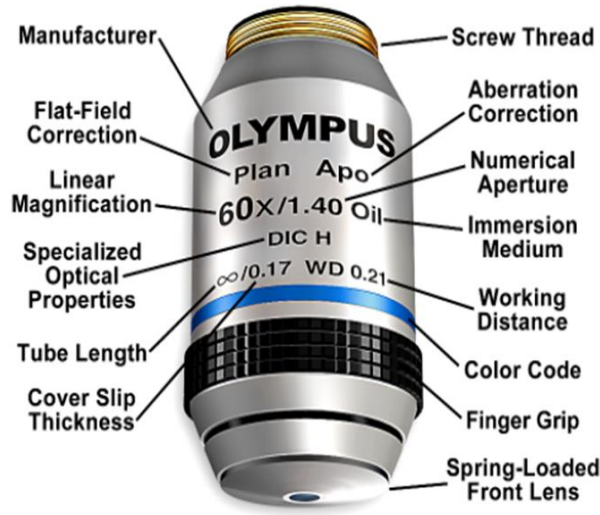
1- **التصحيح البصري:-** التصحيح اللوني والكروي ويختصر الى **Achro** (achromat) ، **Neofluar/Fluor** ، **FI / Fluor / Fluotar** (fluorite) و **Apo** ، تصحيح انحناء الحقل ويختصر الى **EF Acroplan / Plan Apo** (apochromat) ، بعض الاختصارات الاخرى الشائعة تشمل **ICS** (infinity) ، **Plano / Plan / PI** ، بعض الاختصارات الاخرى الشائعة تشمل **UIS** (universal infinity system) ، **NPL / N** ، **corrected system** ، **Ultrafluor** (normal field of view plan) ، عدسات شيئية مع زجاج يكون منفذ تحت 250 نانومتر) ، **CFI / CF** (chrome-free chrome-free و infinity) .

2- **الفتحة العددية الفتحة العددية (NA) Numerical aperture** :- وهي تعادل حاصل ضرب جيب نصف زاوية قبول العدسة في معامل الانكسار للبيئة المستخدمة ونظرا لان معامل الانكسار في الهواء يساوي 1 فإن الفتحة العددية تصبح مساوية لجيب نصف زاوية قبول العدسة وبما ان القيمة العظمى لنصف زاوية قبول العدسة لايزيد عن 90 درجة ويعني هذا ان جيب الزاوية يساوي 1 وبالطبع سوف يكون هذا اكبر عدد يمكن ان تصل اليه الفتحة العددية للعدسات الشيئية الجافة عمليا القيمة العظمى للفتحة العددية للعدسات الشيئية الجافة عادة ما يكون في حدود 0.95 . اما العدسات الشيئية عالية التكبير كالعدسات الزيتية فتكون الفتحة العددية عادة عالية وقد تصل الى 1.4 وهذا يرجع الى استخدام زيت ذي معامل انكسار يعادل

معامل انكسار غطاء الشريحة للضوء وبالتالي يزيد زاوية قبول العدسة لعدم وجود انكسار للضوء بعد خروجه من غطاء الشريحة.

3- طول الانبوب الميكانيكي Mechanical Tube Length:- يقصد به طول انبوب المجهر الممتد من القطعة الانفية حيث توجد الشبثيات وقمة حافة انابيب المشاهدة حيث توجد العينيات طول الانبوب عادتاً يكون مكتوب على الشبثية كحجم مقاس بالمليمتر (160، 170، 210 وهكذا) للأطوال الثابتة او علامة (∞) لطول الانبوب المصحح غير المحدود .

Objective Specifications



شكل (6) المعلومات الموجودة على انبوب العدسة الشبثية .

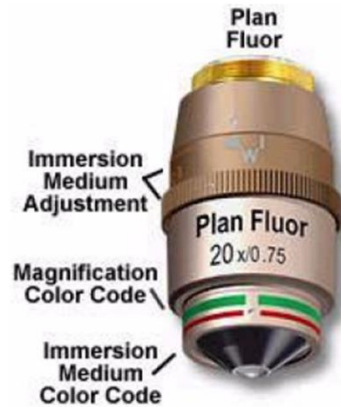
4- سمك غطاء الشريحة Cover Glass Thickness:- معظم الشبثيات تكون مصممة لفحص العينة المغطى بواسطة غطاء زجاجي، سمك هذا الغطاء الان يكون محدود عند 0.17 mm لمعظم التطبيقات. بعض الشبثيات ذات الفتحة العددية العالية والجافة لديها حلقة معدنية لتعديل وتصحيح العدسات الداخلية مما يمكن هذه الشبثيات من العمل مع اغطية شرائح بأحجام مختلفة تحتوي هذه الشبثيات على الاختصارات **Corr**، **w/Corr** كما تحتوي على اداة القياس يتم ضبط اداة القياس هذه بحسب سمك غطاء الشريحة المستعمل عن طريق تحريك الحلقة المعدنية بهذه العدسات شكل (7).

5- مساحة العمل Working Distance:- وهي المسافة بين مقدمة العدسة الشبثية وقمة غطاء الشريحة عندما تكون العينة مركزة في البؤرة، في معظم الحالات مساحة العمل للعدسة

الشيئية تقل مع زيادة قوة التكبير . قيم مساحة العمل لا تكون موجودة على كل الشبنيات ووجودها يتفاوت بالاعتماد على الشركة المصنعة و الاختصارات الشائعة لها هي **L, LL, LD و LWD** (طول مسافة العمل) **ELWD** (طول مسافة العمل الاضافية او الممتازة) **SLWD** (طول مسافة العمل الخارقة او الفائقة)

6- وسط الغمس Immersion Medium:- معظم الشبنيات مصممة لإظهار العينة مع الهواء كوسط بين الشيئية وغطاء الشريحة لتحقيق اعلى فتحة عددية، بعض من الشبنيات تكون مصممة للإظهار العينة خلال وسط اخر الذي يقلل الاختلاف في معامل الانكسار بين الزجاج و الوسط هذه الشبنيات المصممة للاستعمال مع اوساط خاصة تحتوي على حلقات لونية او رموز لونية **color-coded ring** موجودة حول محيط الشيئية.

7- رموز اللون Color Codes :- معظم مصممي المجاهر يرمزون للشبنيات بلون مساعدة في التعرف على التكبير وهذه الرموز اللونية تساعد بشكل كبير عندما يكون هناك قطعة انفية لديها الكثير من العدسات من 5-6 عدسات ويجب ان نختار تكبير بشكل محدد. بعض الانواع الخاصة من الشبنيات لديها لون اضافي (اللون الموجود في الاسفل) يشير الى نوع وسط الغمس الضروري لتحقيق افضل فتحة عددية. عدسة الغمس المعدة للغمس مع الزيت لديها حلقة لونية سوداء ، اما المعدة للاستعمال مع الجلسرين يكون لديها لون برتقالي في حين ان الشبنيات المصممة للإظهار الكائنات الحية في الاوساط المائية تكون مصممة مع حلقة لونية بيضاء والشيئية المتخصصة بشكل عالي لوسط غير اعتيادي عادتا تكون لديها نقش بلون احمر الجدول 3 يعرض التكبير ولون الوسط المستعمل بواسطة العديد من مصنعي المجاهر كما الجدول (1).



شكل (7) اداة القياس التي تعمل على تعديل سمك غطاء الشريحة المستعمل عن طريق تحريك الحلقة المعدنية بهذه العدسات.

Magnification	Color Code
$\frac{1}{2}x$	No Color Assigned
1x	Black
1.25x	Black
1.5x	Black
2x	Brown (or Orange)
2.5x	Brown (or Orange)
4x	Red
5x	Red
10x	Yellow
16x	Green
20x	Green
25x	Turquoise
32x	Turquoise
40x	Light Blue
50x	Light Blue
60x	Cobalt Blue
63x	Cobalt Blue
100x	White
150x	White
250x	White

الجدول (1) يبين رموز اللون Color Codes

8- بعض الخصائص البصرية الأخرى الشينيات عادتاً لديها بعض المعايير التي تحسن الاداء تحت حالات خاصة مثل العدسات المصممة للإضاءة المستقطبة (يرمز لها بالرمز **Po•P** ، **Pol**، او **SF** وهي او لديها انبوب منقوش بلون احمر) ، متباين الطور (PH مع انبوب منقوش بلون اخضر) و التباين المتداخل التفريري (DIC).

جهاز الاضاءة Light Sources

عبارة عن مصباح Lamp يوجد في قاعدة المجهر ويزود بالتيار الكهربائي من خلال موصل التيار الرئيسي . ونظرا لان شدة الاضاءة تلعب دورا مهما في الرؤيا بالمجهر لذا يزود بجهاز

خاص للتحكم في شدة الضوء يعرف بضابط شدة الضوء Light intensity control .
الاشعة الضوئية المنبعثة من المصباح الكهربائي تركز باتجاه المكثف بواسطة عدسة او منشور
خاص يقع فوق المصباح تعرف بالعدسة الجامعة Collector lens تعمل هذه العدسات على
تكوين حزمة ضوئية كافية (مما يعمل على عدم تشتت اشعة الضوء) لإضاءة فتحة المكثف
وبالتالي زيادة قدرة المجهر على تحليل تفاصيل العينة. كما يوجد قرص صغير يحيط بالعدسة
الجامعة يوضع به مرشحات الضوء الملونة. كما يحتوي جهاز الاضاءة على الحجاب الحاجز
الذي يعمل على حصر الاشعة الضوئية الصادرة من المصباح الكهربائي الامر الذي يزيد من
تباين الصورة عند اختزال شدة الوهج. تمتاز المصابيح المستعملة بجهد كهربائي منخفض وذات
تصميم خاص تكون فيه لفات الخيط متجمعة معا بشكل محكم ومتراصة جنبا الى جنب لتكون
مصدر ضوء متماسك .

المصابيح المتوهجة Incandescent lamps

وهي تشمل :-

1- مصابيح التنجستين Tungsten lamps :-

وهي المصابيح الاساسية في المجاهر الحديثة، تنتج طيف مستمر من الضوء يمتد من حوالي
300 نانومتر الى اكثر من 1200-600 نانومتر وهي تتكون من زجاج مغلق يكون مملوء
بغاز خامل كما تحتوي على خيوط التنجستين التي يتم تزويدها بالطاقة عن طريق التيار
الكهربي . تنتج هذه المصابيح كمية عالية من الضوء والحرارة ولكن كمية الضوء الخارج منها
يشكل فقط من 5-10% كما انها تعاني من العديد من العوائق مثل نقص الكثافة مع تقدم عمر
المصباح ووجود لون اسود على الزجاج من الداخل نتيجة لتبخر Tungsten . درجة حرارة
اللون و الانارة لهذه المصابيح تختلف بحسب الجهد الكهربائي voltage لهذه المصابيح وهي
تتراوح بين K2200 الى K3400 . في حالة التصوير المجهرى الملون بهذه المصابيح
بواسطة الكاميرات ذات الافلام الحساسة فإنه يجب ان يكون جهد هذه مصابيح 3150-
K3250 للحصول على حرارة لون مناسبة وهذه القيمة اعلى من هذه المصابيح لذا يتم مع هذه
المصابيح وضع مرشحات ضوئية لموازنة الاضاءة والحصول على حرارة اللون المطلوبة .
عند استبدال هذه المصابيح يجب تركها حتى تبرد تمام لانها قد تسبب حروق خطيرة، يجب عدم
لمسها مباشرة باليد لتجنب ترك بصمات الاصابع عليها والتي قد تحترق على زجاج هذه
المصابيح مما يقلل من عمرها وجودة الاضاءة الخارجة منها وهي عادتا تكون موجودة داخل

غلاف خاص يتم حملها بواسطة هذا الغلاف اثناء تبديل هذه المصابيح وعند الانتهاء من تركيبها يتم التخلص من الغلاف.

2- مصابيح Tungsten-halogen bulb :-

تعطي هذه المصابيح ضوء حاد بالإمكان التحكم في شدته بسهولة. هذه المصابيح يمكنها ان تعمل مع التيار المباشر بجهد 12 Volts وتنتج قوة اضاءة اكثر من 100 Watts . عادتاً ما يكون الغلاف الزجاجي مصنوع من الكوارتز تنتج هذه المصابيح حرارة عالية اثناء الاستخدام لذا يجب توفير التهوية الجيدة لها لحمايتها من التلف هذه المصابيح لديها اضاءة متألق ابعادها اصغر وتعطي ضوء منتظم (وهي من المصابيح المتوهجة كذلك قد تسمى ب-quartz iodine bulb) تعيش لفترات طويلة واقتصادية بشكل كبير . الهالوجن الموجود بها (عادتاً يكون اليود) يضمن ان التنجستين المتبخر يعود الى خيوط المصباح ولا يترسب على الزجاج الداخلي للمصباح .تنتج هذه المصابيح طيف مستمر درجة حرارة اللون بها تكون 2700- K3350 (بالاعتماد على الخهد).

3- مصابيح tungsten-halogen dichroic reflector :-

تستخدم مع مصادر الضوء ذات الالياف البصرية العاكس (reflector) الموجود بها يعمل على توجيه الضوء عن طريق السماح لمعظم الاشعة تحت الحمراء المتولدة بواسطة هذا المصباح بالمرور خلال dichroic mirror بينما تعكس الموجات المرئية الاقصر والموجات فوق البنفسجية . تشتغل هذه المصابيح بواسطة التيار الكهربائي عند جهد يتراوح بين 6-21 Volts وتكون عادتاً موجودة داخل حجر خاصة(تعرف بحجرة المصباح lamphouse) تحتوي مروحة تعمل على ازالة الحرارة الناتجة من هذه المصابيح . مصادر الضوء التي تستخدم هذه المصابيح تعرف ب-quartz-halogen fiber optic lamphouses حيث تعمل هذه المصابيح بجعل مصادر الاضاءة هذه قادرة على انتاج اضاءة عالية الكثافة كما تحتوي هذه المصادر على انايبب الياف بصرية توجد في نهاية هذه الانابيب عدسة تساعد على تركيز الضوء على العينة ومرشحات ملونة تعطي ضوء بلون معين بالإضافة الى مستقطب موجود في عدسات انابيب الالياف البصرية يعمل على تمكين هذه المصابيح من انتاج ضوء مستقطب . هذه المصابيح تستخدم مع المجاهر التي تستخدم الضوء المائل للإضاءة العينة ومجهر المجسمات. من عيوبها انها تنتج كمية كبيرة من الاشعة الحمراء في شكل حرارة وعند

تسليط هذا الضوء على العينة يؤدي الى امتصاص كمية كبيرة من الحرارة بواسطة العينة الامر الذي قد يؤثر على العينة.

-2- مصابيح اقواس الزئبق Arc Lam :-

هذه المصابيح يتم التحكم بها بواسطة مزود طاقة خارجي يعمل على تزويدها بطاقة كافية من اجل اشتعال الموقد Burner والمحافظة على بقائه مشتعل . لديها فترة عمر تقدر ب200 ساعة، عادتا يحتوي مزود الطاقة الخارجي على جهاز مراقبة يقيس الوقت المنقضي من عمر المصباح . هذه المصابيح يوجد منها نوعان :-

1- مصابيح اقواس الزئبق عالية الضغط Mercury arc Lamp :-

هذه المصابيح لديها القوة الكهربائية بها تتراوح بين 200-50 Watts وهي غير ملائمة للعمل مع العديد من المجاهر (ما عدا المجهر الفلورسيني) خصوصا مجاهر الحقل المضيء والمظلم و مجاهر DIC والضوء المستقطب خصوصا عند التصوير المجهرى الملون لأنها لا تعطي لون حقيقي للعينة.

2- مصابيح اقواس الزينون عالية الضغط Xenon Arc Lamps :-

تعطي هذه المصابيح ضوء شديد الوهج مما يجعلها ملائمة للتصوير المجهرى الملون دون الحاجة الى استخدام مرشحات الضوء اللونية . هذه المصابيح تنفق كمية كبيرة من كثافتها في الاشعة تحت الحمراء بذلك يجب الحذر عند استعمال هذه المصابيح لانها قد تنفجر نتيجة للضغط العالي للغاز الداخلي الموجود بها كما انها تنتج حرارة عالية جدا خلال استعمالها لذا يجب عدم تشغيل هذه المصابيح (كذلك مصابيح اقواس الزئبق) خارج حجرة المصباح الخاصة بها او النظر الى المصباح اثناء تشغيله لانها قد تسبب حروق خطيرة في شبكية العين كما يجب عدم لمسها بشكل مباشر بواسطة اليد عند تغيير المصباح . لديها فترة عمر تقدر بعدة مئات من الساعات كثرة التشغيل و ايقاف التشغيل تنقص عمر هذه المصابيح .

المكثف Condencer :-

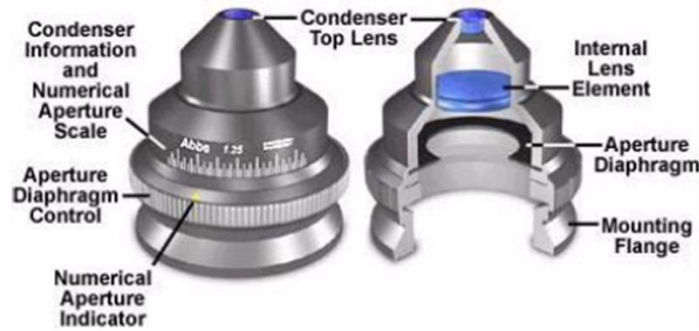
مهما كان نوع الاضاءة المستخدمة لابد من استخدام ما يعرف بالمكثف وظيفته الرئيسية هي تكثيف الاشعة الضوئية بشكل مركز على العينة وضمان الحصول على مخروط ضوئي يتناسب مع الفتحة العددية للعدسة الشيئية المستعملة في كل مرة يتم فيها الانتقال من عدسة شيئية

للأخرى يجب ان يتم تعديل مخروط الضوء بواسطة الحجاب الحاجز الذي يكون مدمج مع المكثف او اسفل المكثف بحيث يتناسب مع الفتحة العددية للعدسة الشيئية المختارة كما قد يحتوي المكثف على تجهيزات اخرى تتناسب مع نوع المجهر وهذه التجهيزات تعمل على الحصول على نوع خاص من الاضاءة سيتم الحديث عنها لاحقا. يتكون المكثف في ابسط صورته من عدستين الاولى توجد في قمة المكثف وتعرف بعدسة المكثف العلوية Condenser`s top lens والثانية توجد في اسفل المكثف و تسمى بعدسة المكثف الخلفية Condenser`s back lens، كما يحتوي المكثف على ضابط المكثف الذي يعمل على خفض او رفع مستوى المكثف بالإضافة الى لولبي توسط المكثف الذين يعملان على توسط المكثف في مسار الاشعة الضوئية. الرموز الموجودة على حجرة المكثف تشمل نوعه (achromatic, aplanatic الخ) ، الفتحة العددية و مقياس تدريجي الذي يشير بواسطة سهم او علامة الى التعديل التقريبي (الحجم) لفتحة الحجاب الحاجز مثلا اذا اختار فني المجهر الشيئية 10x ذات الفتحة العددية 0.25 فإن السهم يجب ان يكون موضوع عند القيمة المقابلة لـ 0.18-0.20. غالبا. ليس من العملي استخدام مكثف مفرد مع كامل نطاق الشبقيات (2 x الى 100 x) نتيجة للنطاق الواسع لمخاريط الضوء التي يجب ان تكون منتجة لمطابقة الفتحة العددية للشيئية . مع الشبقيات المنخفضة قوة التكبير في النطاق بين 2x الى 5x فإن مخروط الضوء يجب ان يكون له قطر بين 6-10 mm بينما الشبقيات ذات قوى التكبير العالي (60x الى 100x) تحتاج الى مخروط ضوء عالي التركيز قطرة حوالي 0.2-0.4 mm ، من الصعب تحقيق هذا النطاق الواسع لمخروط الاضاءة مع مكثف مفرد .

يمكن حل هذه المشكلة بالنسبة للشبقيات ذات التكبير المنخفض (اقل من 10x) عن طريق فك عدسة قمة المكثف من اجل ملئ حقل العرض بالضوء . بعض المكثفات الاخرى تحتوي على عدسة علوية قابلة للحركة flip-top upper lens لانجازها بشكل اكثر سهولة هذه المكثفات لديها فتحة عددية اكبر من 0.95 وهي معدة للاستعمال مع الشيئية الزيتية ويجب ان يستعمل معها قطرة زيتية بين السطح السفلي للشريحة وعدسة قمة المكثف عند فحص بعض العينات . ولكي يعمل المكثف بشكل جيد يجب ان يكون مخروط الضوء الصادر من المكثف مناسب او ملائم للفتحة (الفتحة العددية) مقدمة العدسة الشيئية العدسة القابلة للحركة معدة للعمل مع العدسة الزيتية . توجد ثلاث انواع رئيسية من المكثفات وهي :-

مكثف أبي Abbe condenser :-

من اكثر المكثفات شيوعا في المجاهر كما انه المكثف الابطسط والاقبل تعقيد (كذلك الاقل تكلفة) وهو عبارة عن عدستين مصنوعتين من زجاج شديد النقاوة لكن ينقصه التصحيح اللوني كما يعاني من مشكلة الزيغ الكروي وهذا قد يؤدي الى وهج شديد يحد من جودة تباين الصورة النهائية للعينة كما تكون حواف الصورة محاطة بلون ازرق واحمر. كنتيجة للتصحيح البصري القليل هذا المكثف يكون مناسب بشكل رئيسي للفحص الروتيني للشبائيات التكبير المتوسط . الفائدة الرئيسية لهذا المكثف هي المخروط الواسع للإضاءة. الشركات المصنعة تزود معظم المجاهر بهذا المكثف بشكل افتراضي وهو يعمل بشكل فعال للاستعمال المعمل الروتيني شكل (8).



شكل (8) مكثف أبي Abbe condenser

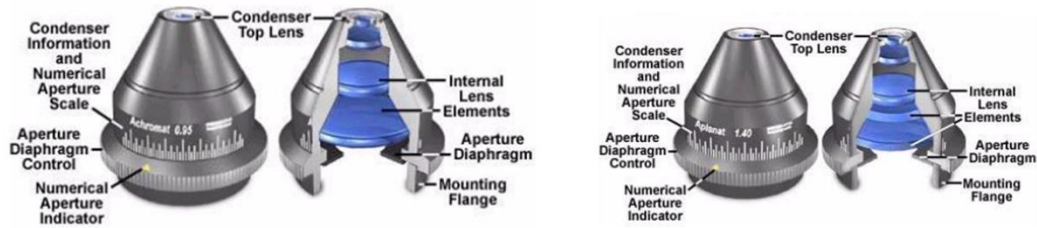
-: Aplanatic condenser

يعمل هذا المكثف على تصحيح وإزالة معظم الزيغ الكروي ولكنه يعاني من مشكلة الزيغ اللوني يتميز هذا المكثف بوجود خمس عدسات لديه فتحة عددية تصل الى 1.40 وقادر على تركيز الضوء في مستوى واحد كما انه قادر على انتاج تصوير مجهري اسود وابيض بشكل ممتاز عندما يستعمل مع لون اخضر مولد بواسطة اما مصدر ليزر او بواسطة فلتر interference filter مع اضاءة مصباح التنجستين tungsten-halide illumination كما يكون هذا النوع مفيدة للعمل مع مجهر DIC في حالة الحقل المضئ و المظلم و متباين الاطوار بالاضافة الى استخدامات DIC الرئيسية شكل (9).

-: Achromatic condenser

يحتوي 4 عدسات ولديه فتحة عددية تصل الى 0.95 من السهل تحقيقها دون الحاجة لزيت الغمس مصحح بشكل جيد للزيغ اللوني هذا المكثف مفيد في الفحص الروتيني العادي التصوير

المجهرى مع العدسات الجافة يمتاز بقدرته على تمرير مخروط من الضوء يتناسب تماما مع الفتحة العددية للعدسات الشبئية حتى ولو كانت عالية كما في حالة العدسة الزيتية . في حالة استخدام العدسة الزيتية مع هذا المكثف يجب ان يتم وضع قطرة من الزيت على العدسة العلوية للمكثف ثم يتم رفع المكثف الى ان يتلامس الزيت مع السطح السفلي للمكثف للحصول على مخروط ضوء يتناسب تماما مع الفتحة العددية للعدسة الزيتية ولكن عادتا لا يتم تطبيق هذه العملية في الفحص المعملى الروتيني العادي ولكن يتم استخدامها في حالة الفحوصات الدقيقة او في حالة التصوير المجهرى الدقيق شكل (9)



شكل (9) Achromatic condense على اليمين Aplanatic condenser على اليسار

-: aplanatic-achromatic condenser

هذا المكثف يكون مصحح بشكل جيد لكل من الانحراف اللوني والكروي وهو مهم للتصوير المجهرى الملون الابيض. يحتوي هذا المكثف 8 عدسات اثنين من العدسات تكون مدمجة مع بعضها البعض واربع عدسات فردية لديه فتحة عددية تصل الى 1.35



شكل (10) aplanatic-achromatic condenser

العامل الاساسي في اختيار المكثف هو الفتحة العددية للمكثف التي تكون ضرورية للتزويد بمخروط اضاءة ملائم للشبئية , قدرة الفتحة العددية للمكثف يجب ان تكون مساوية او اقل بقليل

من للشئية عالية الفتحة العددية . لذلك في حالة الشئية ذات التكبير العالي (العدسة الزيتية) مع فتحة عددية تصل 1.40 فإن المكثف تحت المسرح يجب ان تكون لديه فتحة عددية مكافئة للمحافظة على نظام عالي للتحلل . في هذه الحالة يجب وضع قطرة من زيت الغمس بين قمة عدسة المكثف والسطح السفلي للشريحة لتحقيق الفتحة العددية المقصودة (1.40) حيث يضمن هذا الاجراء ان اشعة الضوء المائلة المنبثقة من المكثف لا تنعكس تحت الشريحة ولكنها تكون موجهة على العينة بدون أي انحراف. الاعتبار المهم الاخر يكون سمك الشريحة الذي يكون مهم للمكثف كما يكون سمك غطاء الشريحة مهم للشئية ، معظم الشركات المصنعة للشرائح تنتج شرائح يتراوح سمكها بين 0.95 و 1.20 mm والشرائح الاكثر شيوعا تكون قريبة من 1.0 mm ولكن الشريحة ذات السمك 1.20 mm تعتبر سمكة جدا للاستعمال مع المكثف ذو الفتحة العددية العالية وهي ليست مهمة في الفحص الروتيني العادي للعينة ولكنها مهمة في دقة التصوير المجهرى لذا يجب اختيار شريحة سمكها بين 1.0 ± 0.05 mm .

المسرح Microscope Stages :-

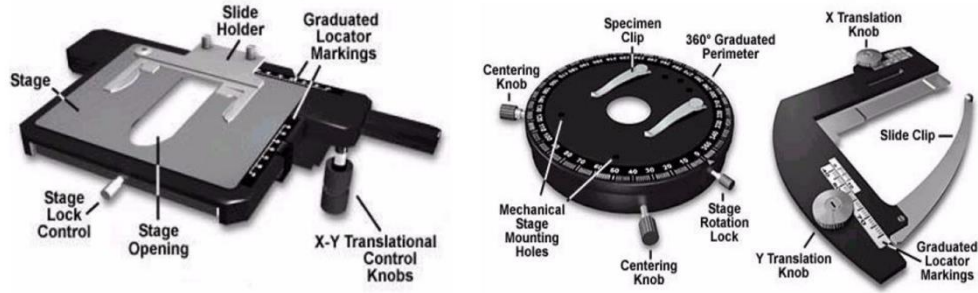
كل انواع المجاهر تحتوي على مسرح يستخدم لوضع العينة عليه ليتم فحصها بواسطة المجهر توجد عدة انواع من المسارح وأكثر هذه المسارح شيوعا هي :-

المسرح المستطيل rectangular stage :-

يحتوي هذا المسرح على ذراع ميكانيكية تتحكم في تنقل الشريحة على المسرح وهو عادتا يعرف بالمسرح الميكانيكي توجد هذه الذراع على يمين مستخدم المجهر للمساعدة على تحريك العينة للإمام او الخلف ولليمين او اليسار بالإضافة للماسك المثبت للشريحة و ضابط يعمل على تثبيت الذراع في مكانها لمنعها من الانزلاق والحركة عند الرغبة في تثبيت احد تفاصيل الشريحة في مكان معين كما يحتوي على فتحة في المنتصف تعمل على تمرير الضوء الصادر من المكثف الى الشريحة شكل (11).

المسرح المستدير circular stage :-

يمكن لهذا المسرح الدوران بمعدل 360 درجة مما يسمح بتدوير العينة بالكامل يحتوي على ماسك للشريحة يسمح بتثبيت الشريحة في مكانها كما يحتوي ضابط يستخدم لتثبيت المسرح ومنعه من الدوران عادتا يكون مرفق مع مجهر الاستقطاب شكل (11).



شكل (11) المسرح المستطيل و المسرح المستدير

الانحراف البصري Optical Aberrations

ينتج الانحراف البصري من التفاعل بين الضوء و الزجاج توجد عدة انواع من الانحراف البصري:-

الانحراف البصري الكروي Spherical Abberation

ينتج هذا الانحراف من الشكل الكروي للعدسة. يحدث هذا الانحراف عندما الضوء الذي يمر عبر حواف العدسة لا يتم جلبه الى البؤرة مع ذلك الضوء الذي يمر الى في المركز والضوء الذي يمر بالقرب من مركز العدسة ينعكس بشكل قليل في حين ان الضوء الذي يمر بالقرب من حواف العدسة ينعكس بدرجة كبيرة مما ينتج عنه نقاط تركيز مختلفة بجانب المحور البصري مما يؤثر على جودة الصورة وتكون منفصلة وليست في تركيز حاد

الانحراف اللوني Chromatic Aberration

ينتج هذا الانحراف من حقيقة ان الضوء الابيض يتكون من العديد من الاطوال الموجية فعندما يمر الضوء الابيض عبر العدسة المحدبة فإن مكونات الموجات الضوئية تنعكس بحسب ترددتها حيث ينعكس الضوء الى اقصى مدي ويتبعه الضوء الاخضر و الاحمر تعرف هذه الظاهرة بالثشتت . عدم قدرة العدسة على جلب جميع الالوان الى البؤرة ينتج عنه اختلاف قليل في حجم ونقطة البؤرية كل مجموعة موجية وهذا يؤدي الى تكوين صورة محاطة بحواف ملونة

انحاء الحقل Field Curvature

ينتج هذا الانحراف من استخدام عدسات ذات سطح منحنى فعندما يمر الضوء عبر عدسة منحنية فإن سطح الصورة الناتجة من هذه العدسة يكون منحنى او مقوس . عندما يتم مشاهدة

العينة بواسطة العدسة العينة فهي سوف تظهر بشكل حاد في المركز و بشكل باهت في الحواف او العكس ولكن ليس كلا الحالتين . انحناء الحقل لا يعتبر مشكلة خطيرة ويمكن لمستخدم المجهر ان يصحح هذا الانحراف عن طريق تعديل الضابط الدقيق للمجهر ولكنه يعتبر مشكلة خطيرة في التصوير المجهرى وقد يؤدي الى نقص جودة الصورة

تنظيف المجهر

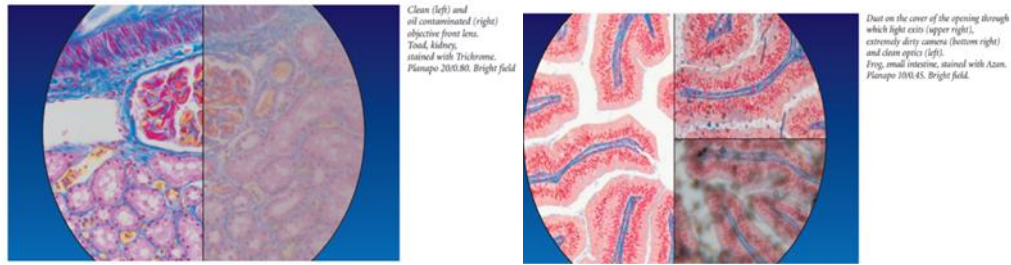
يلعب تنظيف المجهر دورا مهما في اداء المجهر حيث ان تراكم الاوساخ على المجهر يعيق عمل المجهر ويؤثر على جودة الصورة ووضوح تفاصيل العينة، الاوساخ الموجودة على المجهر خصوصا المكونات البصرية تؤثر على رؤية العينات عبر المجهر كما تؤثر على التصوير المجهرى والأماكن الشائعة التي تتراكم عليها الاوساخ هي :-

- 1- السطح الخارجي لمقدمة العدسة الشيئية
- 2- سطح عدسة كاميرا التصوير
- 3- غطاء الشريحة و الشريحة نفسها
- 4- سطح الانبوب الرابط بين المجهر والكاميرا
- 5- سطح العدسة العلوية للمجهر
- 6- السطح الداخلي والخارجي للعدسة العينية
- 7- سطح الزجاج المغطي لفتحة خروج الضوء في قاعدة المجهر
- 8- بعض الاسطح الاخرى الموجودة في مسار الضوء مثل الصابيح، المرشحات وغيرها

كيفية التعرف على الاوساخ

يمكن معرفة ما اذا كانت المكونات البصرية او الشرائح نظيفة او غير نظيفة عن طريق النظر الى الشريحة عبر المجهر فإذا كانت نابين الصورة غير واضح وحدة الصورة قليلة بالتالي فان المكونات البصرية للمجهر تحتاج الى تنظيف في الشكل (12) يعرض شكل العينة تحت المجهر في حال كان المجهر غير نظيف، الشكل (a) يعرض شكل العينة عندما تكون العدسات خصوصا الشيئية ملوثة بالزيت اما الشكل (b) الجزء ناحية اليمين من الاعلى يعرض شكل

العينة عندما تكون الاغطية الزجاجية لمنافذ الضوء ملوثة بالغبار اما الجزء ناحية اليمين السفلى فيبين شكل العينة عندما تكون كاميرا التصوير ملوثة.



الشكل (12) ناحية اليسار a و ناحية اليمين b

لتحديد مكان هذه الاوساخ يتم اتباع الخطوات الاتية :-

1- ازالة العدسة الشبئية من القطعة الانفية وكذلك اداة ربط الكاميرا وفحصها لمعرفة اذا كانت نظيفة او لا.

2-فحص غطاء الشريحة و الشريحة المحتوية على العينة عن طريق فحص السطح العلوي والسفلي للشريحة .

3- فحص عدسات المكثف عن طريق نزعها من المجهر وتحريكه للامام والخلف

انواع الاوساخ التي تتراكم على المجهر.

من المهم التمييز بين الاوساخ المتراكمة على المجهر لتحديد ما اذا كانت غبار (غبار من الشرائح، خلايا جلدية ميتة من المستخدم للمجهر، زغب من القطن، حبوب اللقاح من الازهار) و الاوساخ الاخرى (بقايا سائلة او جافة من وسط الغمس، بقايا من استعمال مواد كيميائية غير مناسبة لتنظيف المجهر، بصامات من الاصابع، مواد دهنية) الغبار من السهل ازالته من الاسطح البصرية في حين ان المواد السائلة مثل الزيوت يتم ازلتها بواسطة المذيبات العضوية.

كيفية تنظيف المجهر

يجب ان يتم تنظيف المجهر بدون ترك أي بقايا او اضرار على المجهر ولتنظيف المجهر نحتاج الى الادوات الاتية:-

1- عيدان خشبية طويلة.

2- ورق تنظيف العدسات.

3- ماء مقطر.

4- مناديل ورقية مصنعة من السليولوز.

5- مذيبات تنظيف المواد الدهنية مثل محلول تنظيف العدسات المرفق مع المجهر.

6- قطن طبي نقي بنسبة 100%. شكل (13)



شكل (13) ادوات تنظيف المجهر

خطوات تنظيف المجهر

قبل البدء بتنظيف المجهر يجب اولا تجهيز المكونات و المواد اللازمة بإتباع الخطوات الآتية

اولا تجهيز العيدان القطنية كما في الشكل (14) :-

1- غسل اليدين جيدا للتخلص من الغبار و الاتربة او ارتداء قفازات.

2- غمس العود في سائل تنظيف المجهر.

3- أخذ كمية قليلة من القطن بواسطة الطرف المبلل للعود.

4- وضع العود في داخل كيس نظيف ثم نلف العود حتى يلتف القطن بشكل محكم على العود.

ثانيا تجهيز سائل تنظيف المجهر :-

في حالة نفاذ سائل تنظيف المجهر الذي يكون مرفق مع المجهر او عدم توفره يمكن تحضير السائل بالطريقة الاتية :-

1- تجهيز الزجاجيات اللازمة للتحضير وهي مخبار مدرج سعة 100 ملي. دورق زجاجي سعة 100 ملي، قمع زجاجي و زجاجة معتمة لحفظ السائل المحضر فيها، تغسل الزجاجيات بشكل جيد بالماء والصابون ثم بالماء المقطر وتوضع في المجفف حتى تجف جيدا.

2- اخذ 85 ملي من البتروليوم ايثر Petroleum Ether درجة غليانه اكبر من او تساوي 44 درجة مئوية بواسطة المخبار المدرج ثم تفرغ في الدورق الزجاجي.

3- اخذ 15 ملي من الايزوبربانول Isopropanol بواسطة المخبار المدرج ويضاف الى البتروليوم ايثر.

4- رج الدورق الزجاجي بشكل جيد حتى تمتزج المكونات ثم يفرغ في زجاجة معتمة ويكتب عليها (سائل تنظيف المجهر) .



الشكل (14) تجهيز العيدان القطنية و خطوات التنظيف

خطوات التنظيف :-

1- غسل اليدين جيدا او ارتداء قفازات ثم فك المكونات التي تحتاج الى تنظيف ووضعها على سطح نظيف.

2- النفخ بواسطة الفم على المكونات الزجاجية لإزالة الغبار والأوساخ الاخرى او النفخ بواسطة النفخ المطاطي شكل (14).

- 3- وضع العدسة امام الفم ثم التنفس على السطح الزجاجي لتكوين طبقة من البخار عليها مع الحذر من ترك قطرات لعابية ثم قم بمسحها بواسطة العيدان القطنية.
- 4- في حالة كان المجهر ملوث بمواد غير دائبة في الماء مثل زيت العدسة الزيتية او بصمات الاصابع يتم استخدام سائل تنظيف العدسات.
- 5- غمس العود في سائل تنظيف المجهر ونضغط العود على طرف زجاجة السائل بشكل جيد للتخلص من الكمية الزائدة من السائل.
- 6- تحريك العود القطني بشكل حلزوني من الوسط وحتى الحافة وفي حالة الاسطح الكبيرة يتم البدء في التنظيف من الحواف وحتى الوسط ثم تحريك العود من الوسط وحتى الاطراف و لا يتم تحريك العود بشكل متعرج لان ذلك سوف يعمل على انتشار الاوساخ على السطح.
- 7- الشرائح الزجاجية تنظف بواسطة الاستون.

ملاحظة :- يجب الحذر عند استعمال سائل تنظيف العدسات ويستخدم في حالة تراكم مواد ذهنية كما يجب عدم الاكثار منه واخذ كمية قليلة جدا منه لان هذا السائل يحتوي على مذيبات قد تسبب في ذوبان الغراء المثبت للعدسات مما يؤدي الى تلفها. لا يجب استخدام مواد كيميائية مثل الزيلول او الميثانول او الايثانول وغيرها ولكن يستخدم فقط المواد المذكورة سابقا في حين ان تنظيف الشرائح وأغطية الشرائح يتم بواسطة الاستون.

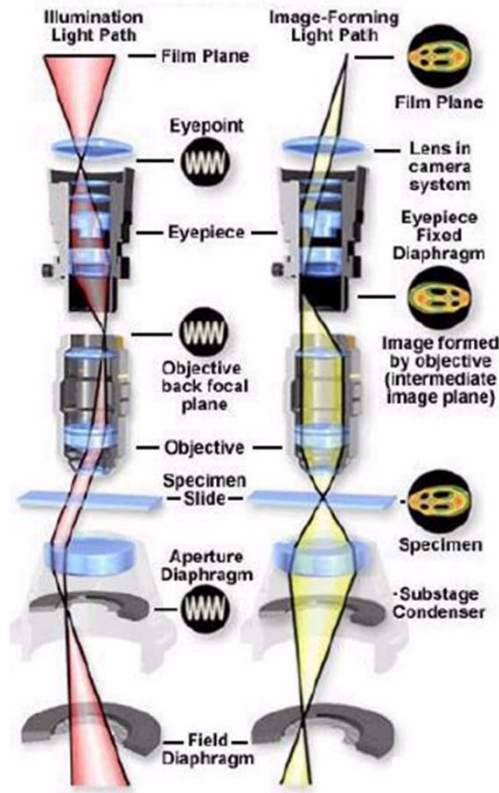
كيفية استخدام المجهر بطريقة صحيحة

الاستخدام الصحيح للمجهر يجنب مستخدم المجهر الكثير من الجهد والوقت كما يحمي المجهر من التعرض للتلف، ولكي يتم استخدام المجهر بطريقة صحيحة يجب اتباع الخطوات التالية بدقة و بحسب ترتيبها

اولا ضبط اضاءة المجهر

لكي يعطي المجهر افضل اداء له لابد من استخدام المجهر بطريقة لكي يمكن مشاهدة صورة العينة بشكل واضح بدون ان تكون مضيئة بشكل كبير او مظلمة الامر الذي يعيق رؤية تفاصيل العينة وبالتالي لكي يمكن مشاهدة تفاصيل العينة يجب ان تكون مضاءة بشكل جيد ولتحقيق ذلك لابد من تطبيق ما يعرف بإضاءة كوهلر Kohler illumination وهي طريقة تستخدم للإضاءة العينة تحت المجهر وهي تشمل عدة مستويات وهذه المستويات يجب ان تكون منسجمة

مع بعضها البعض لتحقيق اضاءة كوهلر. الشكل (15) يعرض اضاءة كوهلر في هذا الشكل نجد ان مصدر الضوء ينتج صورة مركزة لخيوط مصباح مصدر الاضاءة عند مستوى فتحة



الشكل (15) اضاءة كوهلر

الحجاب الحاجز للمكثف وعند المستوى الخلفي البؤري للشبيئية ونقطة العين في العدسة العينية (كذلك تعرف بـ Ramsden disk) هذه المساحات تعرف بالمستويات المقترنة او المترافقة conjugate planes وهي تلعب دور حيوي في تحقيق اضاءة كوهلر وبالتالي يمكن تعريفها على ان العينة التي تكون مركزة (أي ظاهرة) في مستوى واحد تكون ايضا ظاهرة في المستويات المقترنة الاخرى لمسار الضوء وهذه المستويات المقترنة تشمل :-

- خيوط مصباح مصدر الاضاءة

- فتحة الحجاب الحاجز

- المستوى البؤري الخلفي للشبيئية

- نقطة العين او Ramsden disk للعدسة العينية

- بالمثل الاسطح المقترنة في مسار صورة تشكيل مسار الضوء في اضاءة كوهلر يشمل:-

- الحجاب الحاجز

- العينة

- مستوى الصورة المتوسطة المكونة بواسطة الشبكية

- شبكية العين لمستخدم المجهر او الكاميرا

لتحقيق اضاءة كوهلر والتي بواسطتها نحصل على اضاءة جيدة للعينة لرؤية تفاصيل العينة
يجب اتباع الخوات التالية بدقة :-

1- تعديل المصباح الضوئي

لتعديل المصباح الضوئي في مكانه الملائم و لمعرفة ما اذا كان المصباح موجود في مكانه
الملائم او لا يتم وضع قطعة من الورق على مكان خروج الضوء تحت المكثف () في حالة لم
يكن المصباح في مكانه يتم تحريك برغي تعديل المصباح عادتا يكون موجود في قاعدة
المصباح الى ان يصبح المصباح في المركز

2- تعديل العدسة العينية :-

1- في المجاهر التي تحتوي على عدستين مزدوجتين يجب في هذه الحالة استخدام كلا العدستين
في وقت واحد ويتم ذلك عن طريق وضع العدستين العينيتين في وضع افقي ثم يتم النظر من
خلالهما وسوف يلاحظ مستخدم المجهر بقعتين ضوئيتين متباعدين ثم يتم بعد ذلك تقريب
العينيتين من بعضهما عن طريق دفعهما للأسفل الى ان تندمج البقتين الضوئيتين وتصبحان
كأنهما بقعة ضوئية واحدة . بعض العدسات العينية تحتوي مقياس تدريجي يوجد بين العدستين
يقيس هذا المقياس المسافة بين العدستين العينيتين فعندما تندمج البقتين الضوئيتين معا يتم
النظر الى المقياس وتحديد المسافة الملائمة لتباعد العدستين الامر الذي يوفر على المستخدم
تكرار هذه الخطوة حيث يضع العدسة العينية على المسافة الملائمة له مباشرة (هذه المسافة
تختلف من شخص لآخر)

2- اختيار العدسة الشيئية ذات قوة التكبير 10x

3- توضع الشريحة المحتوية على العينة (يجب اختيار شريحة تكون العينة يمكن رؤيتها على
شكل نقطة او مربع او مستطيل ملون كما في حالة الشرائح النسيجية) فوق المسرح وتثبيتها
بالماسك

4- النظر من خلال العدسة العينة وتحريك الضابط الكبير الى ان تظهر العينة ويتم ملاحظتها بواسطة مستخدم المجهر ثم يستخدم الضابط الدقيق لتوضيح تفاصيل العينة بشكل جيد (يجب تحريك الضابط الكبير ببطء وبحذر شديد حتى لا يرتفع المسرح بشكل كبير وتصطدم الشريحة بالعدسة الشبئية مما قد يسبب تلف الشريحة او العدسة)

5- تعديل العدسة العينية عن طريق تدوير ضابط العدسة العينية باتجاه عقارب الساعة (في حالة كانت العدسة تحتوي على تدريج) حتى تصبح تفاصيل العينة واضحة.

6- يتم وضع العدسة الشبئية ذات قوة التكبير المنخفضة (عادة العدسة $\times 5$) فوق العينة ثم يتم اعادة ضبط العدسة العينية بواسطة الضابط الموجود بها الى ان تصبح تفاصيل العينة واضحة بشكل جيد ويتم ضبط كل عدسة عينية على حدى ولا يستخدم مطلقا الضابط الكبير او الصغير انما يستخدم فقط ضابط العدسة العينية

7- يتم وضع العدسة الشبئية ذات قوة التكبير $\times 20$ فوق العينة ثم يستخدم الضابط الدقيق لتوضيح تفاصيل العينة بشكل جيد ثم يتم وضع العدسة الشبئية ذات قوة التكبير $\times 5$ مرة اخرى ثم تحريك ضابط العدسة العينية الى ان تصبح العينة واضحة ولا يتم استخدام الضابط الصغير او الكبير مطلقا لاطهار العينة، يتم ضبط كل عدسة عينية على حدى. بذلك يتم ضبط العدسات العينية بشكل جيد وهذا الضبط يختلف من مستخدم لأخر بذلك يتم تسجيل الرقم المقابل للتعديل الملائم الموجود على العدسة العينية حتى يتم الرجوع اليه دون الحاجة لتكرير الخطوات السابقة. بعض العينيات ليس لديها ضابط ويتم تعديلها عن طريق تحريك العدسة العينية للامام والخلف داخل انبوب تثبيت العدسة العينية.

وهذا التعديل للعدسة العينية يعمل على تعديل الفرق بين العين اليمنى و العين اليسرى للمستخدم مما يمكن المستخدم من مشاهدة العينة بشكل واضح كما يساعد الاشخاص الذين يستعملون النظارات الطبية لتعديل طول او قصر النظر يساعدهم على استخدام المجهر بدون لبس النظارات (ولكنه لا يصح العيوب البصرية الاخرى)

3- تعديل المكثف و الحجاب الحاجز للحقل :-

1- اختيار العدسة الشبئية ذات قوة التكبير $\times 10$.

2- اغلاق الحجاب الحاجز للحقل field diaphragm الموجود في اسفل المجهر فوق الفتحة التي يخرج منها ضوء المصباح عند قاعدة المجهر وليس الحجاب الحاجز الموجود في المكثف

الى ان يتم مشاهدة بقعة ضوئية صغيرة تكون حوافها غير واضحة بشكل جيد ثم يتم رفع او خفض المكثف (بواسطة المقبض الخاص به الموجود على احد جانبيه) الى ان تصبح حواف البقعة الضوئية واضحة بشكل جيد وغير ضبابية (عند رفع او خفض المكثف قد يتم مشاهدة هالة حمراء او زرقاء حول البقعة الضوئية نتيجة لنقص تصحيح الانحراف اللوني للمكثف)

3- تحريك براغي توسيط المكثف الموجودة على جانبي المكثف من الاسفل الى ان تصبح البقعة الضوئية في المنتصف

4- فتح الحجاب الحاجز للحقل الموجود بالقرب من فتحة خروج الضوء ببطء الى ان يكون حوالي ثلاثة ارباع الحقل مضئ أي تبقى الحواف مظلمة قليلا (بقعة ضوئية كبيرة) اذا كانت للبقعة الضوئية الكبيرة ليست في المنتصف يتم اعادة ضبط براغي المكثف مرة اخرى

5- فتح الحجاب الحاجز للحقل بالكامل ويتم في هذه المرحلة رؤية العينة بشكل جيد و تكون تفاصيلها واضحة

4- تعديل فتحة الحجاب الحاجز للمكثف

1- ازالة العدسة العينية من مكانها ثم النظر عبر انبوب العدسة العينية

2- فتح وغلق الحجاب الحاجز للمكثف حتى يتم رؤية صورته، في حالة وجود مرشح مركب امام مصدر الضوء في هذه الحالة سيتم رؤية بقعة ضوئية دائرية منتظمة الشكل وفي حالة عدم وجود المرشح سيتم مشاهدة خيوط المصباح الضوئي

الغرض من هذه الخطوة تعديل فتحة الحجاب الحاجز للمكثف لمشاهدة العينة بشكل جيد وتباين واضح.

وبذلك تم تعديل اضاءة كوهلر مع العدسة الشيئية ذات القوة x10 ولا يتم اجراء الخطوات السابقة على العدسة الشيئية ذات قوة التكبير x5. وفي حالة اختيار عدسات شيئية عالية التكبير x40 الى x60 يتم اعادة ضبط الحجاب الحاجز للمكثف والحقل فمثلا عند اختيار العدسة x40 في هذه الحالة يغلق الحجاب الحاجز للحقل قليلا الى ان تظهر بقعة ضوء ثم يرفع ويخفض المكثف الى ان تكون حواف بقعة الضوء واضحة بشكل جيد، كما يغلق الحجاب الحاجز للمكثف قليلا حيث ان الشيئية x40 تحتاج مخروط للضوء اقل من الشيئية x10

5- تعديل المكثف:-

يختلف مخروط الضوء او كمية الضوء التي تخرج من المكثف بحسب قوة تكبير العدسة الشيئية فكلما زادت قوة تكبير الشيئية قل حجم مخروط الضوء الخارج من المكثف شكل() ويتم التحكم في حجم مخروط الضوء عن طريق الحجاب الحاجز للمكثف. بعض المكثفات تحتوي على مقياس تدريجي على المكثف و سهم بلون معين على ذراع الحجاب الحاجز للمكثف يتم بواسطته ضبط حجم مخروط الضوء بحسب قوة تكبير الشيئية. الشبقيات ذات قوة التكبير العالية تحتاج الى ان يكون فتحة الحجاب الحاجز للمكثف ومن تم مخروط الضوء مساوي لفتحة العدسة الشيئية للحصول على افضل تباين ووضوح للعينة، في حين ان الشبقيات ذات قوة التكبير المنخفضة يتم فتح الحجاب الحاجز بالكامل.

بعض المكثفات لديها عدسة علوية قابلة للحركة هذه العدسة تستخدم فقط مع الشبقيات ذات قوة التكبير العالية $x40 - x100$ ، اما في حالة استخدام الشبقيات ذات قوى التكبير العالية لا يتم استخدام هذه العدسة ويجب ازالتها من مسار الضوء. عند استخدام الشيئية $x100$ مع هذا النوع من المكثفات يجب وضع قطرة من زيت العدسة الزيتية على عدسة المكثف القابلة للحركة ثم رفع المكثف الى ان يتلامس الزيت مع السطح السفلي للشريحة ثم وضع قطرة من الزيت على السطح العلوي للشريحة و تحريك الضابط الى ان تنغمر مقدم العدسة الشيئية $x100$ في الزيت.

اظهار العينات تحت المجهر

قد يواجه البعض صعوبة في توضيح العديد من الشرائح وخصوصا اذا كانت العينة الموجودة على الشريحة غير مرئية بالعين نظرا لصغر حجمها في هذه الحالة يجب اتباع الخطوات التالية:-

- 1- يتم تعديل العدسة العينية كما ذكر سابقا واذا كان المستخدم قد قام بتعديل العينية سابقا يتم وضع العينية عند الرقم المسجل عليه التعديل المناسب للعينية.
- 2- يتم خفض المسرح الى الاسفل لكي يعطي مجال للحركة، ثم توضع الشريحة في مكانها على المسرح و تحريك الذراع الميكانيكي للمسرح الى ان تكون بقعة الضوء على منتصف الشريحة حيث يوجد غطاء الشريحة.
- 3- اختيار عدسة شيئية ذات قوة التكبير $x10$ او اقل ان لزم الامر واذا كان المكثف يحتوي على العدسة المتحركة يتم خفضها الى الاسفل وابعادها عن مسار الضوء.

4- رفع المسرح عن طريق تحريك الضابط الكبير ببطء وحذر مع تحريك الذراع الميكانيكي بين الحين و الاخر الى ان يتم رؤية اجسام صغيرة قد تكون غير واضح بمجرد رؤية هذه الاجسام يتم التوقف عن تحريك الذراع الميكانيكي للمسرح والتركيز على تلك البقع او الاجسام التي تم ملاحظتها.

5- تحريك الضابط الكبير ببطء شديد حتي لا يتم فقد العينة وبمجرد وضوحها يتم استخدام الضابط الدقيق لتوضيح تفاصيل العينة. ثم تثبيت المسرح الذي عادتنا قد يكون لديه مقبض يغلق المسرح ويمنع تحركه لكي يفقد مكان العينة.

6- في بعض الحالات وخصوصا في حالة العينات ذات الحجم الصغير جدا مثل العينات البكتيرية قد لا تظهر العينة مع العدسة $\times 10$ في هذه الحالة يتم الانتقال الى عدسة اعلى تكبير مثل $\times 20$ او $\times 25$ وفي حالة عدم توفرها يتم اختيار العدسة $\times 40$

6- الانتقال الى العدسة العينية الاعلى تكبيرا وسوف يلاحظ ان العينة ما زالت في مكانها ولكن تبدو مشوشة قليلا وغير واضحة، يتم تحريك الضابط الدقيق لتوضيح العينة.

7- في حالة الانتقال الى العدسة $\times 40$ في هذه الحالة قد يحتاج المستخدم الى اعادة ضبط الحجاب الحاجز للحقل و الحجاب الحاجز للمكثف حتى يتوافق عرض مخروط الضوء مع حجم فتحة الشبكية. ولكن قبل ذلك يتم رفع عدسة المكثف القابلة للحركة (في حالة كان المكثف يحتوي على العدسة القابلة للحركة) ووضعها في مسار الضوء لزيادة وضوح العينة اكثر.

8- في حالة الرغبة في تكبير العينة اكثر من ذلك او ان العينة ما يزال حجمها صغير يتم في هذه الحالة اختيار العدسة ذات قوة التكبير $\times 100$ حيث يتم خفض المسرح الى الاسفل مع عدم تحريك الذراع الميكانيكية للمسرح حتي لا يتم فقد مكان العينة. ثم وضع قطرة من زيت العدسة الزيتية و رفع المسرح بحدري الى ان تنغمس العدسة في قطرة الزيت ثم يتم استخدام الضابط الدقيق لتوضيح العينة. في حالة كان المكثف يحتوي على العدسة القابلة للحركة يتم وضع قطرة من الزيت على عدسة المكثف ايضا و تعديلها كما ذكر سابقا.

9- قد تحتاج في هذه المرحلة ايضا الى اعادة ضبط الحجاب الحاجز للحقل والمكثف كما ذكر سابقا.

10- بعد الانتهاء من استخدام المجهر يتم خفض المسرح الى الاسفل بعيدا عن العينة حتى يتم التسبب بتلف العينة او الشبئية اثناء رفعها من على المسرح، ثم تسحب العينية من على المسرح بحذر وتوضع في المكان المخصص لها.

11- في حالة استخدام الزيت يتم تنظيفه فورا من على الشبئية و المكثف

12- اعادة العدسات الشبئية الى العدسة ذات قوة التكبير 10x او الاقل ثم تغطية المجهر ووضعه في مكانه.

قياس العينات تحت المجهر

لقياس العينات تحت المجهر يجب ان يتم استخدام شريحة القياس **stage micrometer** و العينية المدرجة الخاصة بقياس الحجم **ocular micrometer** تستخدم الشريحة لمعايرة التدرج الموجود على العدسة العينية بحسب قوة التكبير المستخدمة أي ان العدسة العينية تعابر أقسامها (إيجاد قيمة كل قسم) بالاستعانة بمقياس شريحة القياس (عبارة عن تدرج طوله 1 ملليمتر مقسم لـ 100 جزء , كل جزء يساوي 10 ميكرون) ويتم ذلك كالتالي:-

1- توضع الشريحة على المسرح ويتم اختيار العدسة ذات قوة التكبير 4x ثم توضح خطوط الشريحة بواسطة ضابطي المجهر حتى تكون واضحة بشكل جيد.

2- ضبط العدسة العينية مع شريحة القياس أي مطابقة الخطوط الموجودة في العينية مع تلك الموجودة في شريحة القياس.

3- يتم حساب الخطوط الموجودة على العدسة العينة و تسجيلها ثم حساب الخطوط المقابلة لها في شريحة القياس وتسجيلها كما في الشكل ()

في الشكل () نلاحظ ان عدد الخطوط على العدسة العينية هو 15 وعدد الخطوط المقابلة لها على شريحة القياس هو 21 (في شريحة القياس يتم فقط حساب الخطوط المقابلة لها فقط في العدسة العينية وليس كامل الخطوط)

4- التطبيق في القانون :

$$\frac{\text{عدد الخطوط الموجودة على شريحة القياس}}{10 \times}$$

عدد الخطوط الموجودة على العدسة العينية

حيث 10 القسم الواحد من اقسام شريحة القياس يساوي 10 ميكرون.

في الشكل () عدد الخطوط على شريحة القياس هو 21 في حين عدد الخطوط على العدسة العينية هو 15 بالتطبيق في القانون فإن فإن العامل يكون 14 ميكرون

5- توضع العينة المراد قياسها تم يتم قياسها بواسطة العدسة العينية ولنفرض ان طول هذه العينة 3 يتم ضرب هذا الرقم في العامل التي تم ايجاده سابقا فيكون طول العينة 42 ميكرون.

6- يتم معايرة كل شبيئية على حدى وتسجيل العامل الخاص بكل شبيئية او يتم احتساب القيمة من العامل الذي تم حسابه سابقا. مثلا اذا كانت الشبيئية المستخدمة في القياس هي $x10$ العدسة $x10$ لديها قوة تكبير اكثر من العدسة $x4$ بمقدار 2.5 مرة (تقسم قوة تكبير العدسة $x10$ على قوة تكبير العدسة $x4$ فنحصل على 2.5) يتم ضرب 2.5 في العامل المتحصل عليه من العدسة $x4$ فتكون النتيجة 5.6 وبذلك يكون العامل الخاص بالعدسة $x10$ هو 5.6 وهكذا بالنسبة لباقي العدسات.

استخدام العدسة الزيتية

الغرض من استخدام العدسة الزيتية الحصول على اقصى فتحة عددية و الحصول على افضل تفاصيل للعينة خصوصا العينات ذات الحجم الصغير جدا مثل العينات البكتيرية. لكي تكون العدسة الزيتية قادرة على القيام بذلك يجب استخدام زيت العدسة الزيتية حيث يستخدم مع هذه العدسة زيت يكون له نفس معامل انكسار الزجاج الامر الذي يقلل انحراف الاشعة وللحصول على افضل نتائج يتم استخدام الزيت مع كل من العدسة الزيتية و العدسة العلوية للمكثف فيصبح بذلك كل من مقدمة العدسة الشبيئية وزيت الغمس و العدسة الامامية للمكثف لديها معامل انكسار متساوي بشكل كبير جدا وعند تطبيق هذا الاجراء بشكل جيد كل الاشعة المائلة سوف تمر خلال عدسة المكثف والشريحة المحتوية على العينة وزيت الغمس مما يزيد وضوح العينة ورؤية تفاصيلها بشكل جيد. ويتم استخدام الزيت كالتالي:-

- 1- وضع الشريحة على المسرح و توضيح العينة بواسطة عدسة شبيئية ذات قوة تكبير متوسطة مثل العدسة $x10$ او $x20$ او $x25$.
- 2- بعد ظهور العينة تحت المجهر بشكل واضح يتم تثبيت المسرح بواسطة برغي تثبيت المسرح لمنع تغيير مكان العينة.
- 3- خفض المسرح للأسفل ثم توضع قطرة من الزيت على الشريحة.
- 4- اختيار العدسة الزيتية $x100$ ورفع المسرح بحذر شديد باستخدام الضابط الدقيق الى ان تتلامس قمة العدسة الزيتية مع قطرة الزيت.
- 5- وضع قطرة من الزيت على العدسة العلوية للمكثف و رفع المكثف حتى يتلامس قطرة الزيت مع السطح السفلي للشريحة.

6- يتم النظر الى العينة من خلال العدسة العينية ثم تحريك الضابط الصغير بحذر شديد ولا يتم استخدام الضابط الكبير حتى لا تنكسر الشريحة او تخدش عدسة العدسة الزيتية نتيجة لقرب العدسة من الشريحة.

7- بعد الانتهاء من استخدام العدسة الزيتية يتم خفض المسرح للاسفل ثم تنظف العدسة من الزيت بعد الانتهاء مباشرة حتى لا يجف الزيت على العدسة و تتراكم عليه الغبار و الاوساخ وكذلك تنظف الشريحة من الزيت ايضا.

انواع زيت العدسة الزيتية :-

الزيت المستخدم مع العدسة الزيتية يعرف بزيت السيدر Cedar Oil يستخرج من شجرة نبات السرو وهي نوع من الصنوبريات، توجد عدة انواع من هذا الزيت تختلف بحسب لزوجتها ونوع المجهر المستخدم :-

1- Type A و Type B يستخدم مع المجهر الضوئي العادي وهو لديه لزوجة متوسطة.

2- Type DF يستخدم مع المجهر الفلورسيني وهو يعطي خلفية خضراء.

4- Type FF زيت محسن ويستخدم مع المجهر الفلورسيني وليس لديه خلفية ملونة.

5- Type NVH لديه لزوجة 21000 شائع الاستعمال مع المجهر المقلوب و الشبيبات التي لها مسافة عمل طويلة.