

บทปฏิบัติการที่ 1

กล้องจุลทรรศน์และการใช้ไมโครมิเตอร์ (Compound Microscope and Micrometer)

กล้องจุลทรรศน์เป็นเครื่องมือที่ใช้ส่องขยายวัตถุหรือสิ่งของที่มีขนาดเล็ก ซึ่งมองไม่เห็นได้ด้วยตาเปล่า เช่น แบคทีเรีย (bacteria) รา (fungus) เซลพืชหรือสัตว์ที่มีขนาดเล็ก ชนิดของกล้องจุลทรรศน์มีหลายชนิดแต่จะขอกล่าวถึงเฉพาะ bright-field แบบ compound microscope เท่านั้น

Compound microscope ประกอบไปด้วยส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญอยู่ 3 ส่วน คือ

1. หัว (head)
2. ลำตัว (body)
3. ฐาน (base)

1. หัว (head) เป็นส่วนที่มีความสำคัญมากที่สุด เนื่องจากประกอบไปด้วยเลนส์ชนิดที่อยู่ใกล้ตา เรียกว่า ออกคิวลาร์ (ocular) หรือ อายพีซ (eye piece) และเลนส์ที่อยู่ใกล้วัตถุ เรียกว่า ออพเจกทีฟเลนส์ (objective lens) สำหรับออกคิวลาร์ ประกอบด้วยเลนส์ 2 ชนิด ที่บรรจุอยู่ในท่อออกคิวลาร์ (ocular tube) อันบนที่อยู่ใกล้ตา เรียกว่า อายเลนส์ (eye-lens) อันล่างรับภาพจากอพเจกทีฟเลนส์ เรียกว่า ฟیلด์เลนส์ (field lens) ออกคิวลาร์เลนส์มีกำลังขยายแตกต่างกันไป อาจเป็น 4x 5x 10x หรือ 15x ส่วนอพเจกทีฟเลนส์เป็นเลนส์ที่อยู่ใกล้วัตถุทำหน้าที่ขยายภาพจากวัตถุชิ้นแรกแล้วส่งภาพที่ได้ไปตามท่อกลวงของกล้องจุลทรรศน์ (body-tube) ขึ้นสู่ออกคิวลาร์เลนส์ กล้องจุลทรรศน์โดยทั่วไปจะมีอพเจกทีฟเลนส์ติดอยู่กับแป้นเหล็กแผ่นกลม (revolving nosepiece) 3 อัน โดยที่อพเจกทีฟเลนส์แต่ละอันจะมีกำลังขยายแตกต่างกัน และกำลังขยายที่แตกต่างกันนี้สามารถปรับและเปลี่ยนได้โดยหมุนแป้นเหล็กกลม ซึ่งกำลังขยายของอพเจกทีฟเลนส์ มีอยู่ 3 ระดับ คือ

1.1 กำลังขยายต่ำ (low power objective) กำลังขยายของเลนส์ระดับนี้อาจเป็น 4x 10x 15x 20x.....แต่ไม่เกิน 40x มีระยะโฟกัสภาพประมาณ 16 มิลลิเมตร

1.2 กำลังขยายสูง (high power objective) กำลังขยายของเลนส์ระดับนี้สูงกว่าพวกแรก คือ กำลังขยายเริ่มจาก 40x เป็นต้นไป แต่ไม่เกิน 100x และมีระยะโฟกัสของภาพประมาณ 4 มิลลิเมตร

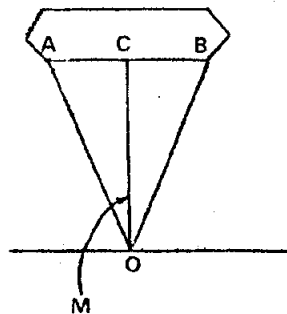
1.3 ออยอิมเมอร์ชัน (oil immersion objective) เป็นกำลังขยายของเลนส์ที่จำเป็นต้องใช้น้ำมันจำพวกมิเนอร์อล (mineral oil) ที่มีดัชนีหักเหของแสงใกล้เคียงหรือเท่ากับค่าดัชนีหักเหของแสงของสไลด์และเลนส์ โดยทั่วไปจะมีกำลังขยาย 100x และมีระยะโฟกัสภาพประมาณ 1.8 มิลลิเมตร

ปรกติค่ากำลังขยายของออปเจกทีฟเลนส์ถูกกำหนดโดยค่า numerical aperture (N.A.) ซึ่งเป็นตัวเลขที่แสดงถึงประสิทธิภาพของเลนส์ออปเจกทีฟ ถ้าเลนส์ออปเจกทีฟมีค่า N.A. สูงจะมีประสิทธิภาพสูง สามารถทำให้เห็นรายละเอียดของวัตถุที่ส่องดูได้ดีมากกว่าเลนส์ออปเจกทีฟที่มีค่า N.A. ต่ำ ค่า N.A. คำนวณได้จากสูตรต่อไปนี้ คือ

$$N.A. = n \sin M$$

n = ค่าดัชนีหักเหของแสง (refractive index) ของตัวกลางที่อยู่หน้าเลนส์ออปเจกทีฟ

$\sin M$ = sin ของครึ่งมุมของรังสีแสงจากวัตถุเข้าสู่ออปเจกทีฟ (ดูภาพ)



ภาพแสดงค่า \sin ของครึ่งมุมของรังสีแสงจากวัตถุเข้าสู่เลนส์ออปเจกทีฟ

2. ลำตัว (body) เป็นส่วนกลางของกล้องจุลทรรศน์ที่มีส่วนประกอบ ดังต่อไปนี้ คือ

อาร์ม (arm) เป็นเหล็กหนาโค้งยึดติดต่อระหว่างส่วนหัวและส่วนฐานของกล้องจุลทรรศน์ ปรกติสร้างเป็นแท่งโค้งเพื่อให้สะดวกต่อการจับถือในขณะที่มีการเคลื่อนย้าย

แป้นรับวัตถุ (stage) เป็นแป้นสำหรับรองรับวัตถุที่จะส่องดู มีรูปร่างเป็นเหลี่ยมหรือกลมแล้วแต่ชนิดของกล้อง ตรงกลางมีรูกลม สำหรับให้แสงผ่านขึ้นมา

สปริงคลิป (spring clips) เป็นแผ่นเหล็กสปริงเล็ก ๆ 2 อัน ติดอยู่บนแป้นรองรับวัตถุที่จะส่องดู ใช้กดทับสไลด์ให้ตรึงแน่นกับแป้น

เครื่องเลื่อนกล (mechanical stage) เป็นแผ่นเครื่องมือที่ติดอยู่บนแป้นรองรับใช้สำหรับจับสไลด์แก้ว และเลื่อนสไลด์ไปมาได้ทั้งทางซ้ายและทางขวาเข้าหาตัวและเลื่อนห่างออกจากตัวผู้ใช้กล้องตามความต้องการ

เครื่องปรับชนิดหยาบ (coarse adjustment) เป็นปุ่มขนาดใหญ่ใช้จัดระยะกล้องในการหาโฟกัสของวัตถุที่ต้องการส่องดู กล้องบางชนิดปรับระยะโฟกัสโดยการเลื่อนแป้นรองรับวัตถุขึ้นลง และบางชนิดเลื่อนลำกล้องของกล้องจุลทรรศน์

เครื่องปรับชนิดละเอียด (fine adjustment) เป็นปุ่มขนาดเล็กใช้ช่วยเครื่องปรับชนิดหยาบในการหาโฟกัสให้ละเอียดยิ่งขึ้น กล้องบางชนิดมีเครื่องปรับชนิดหยาบและละเอียดอยู่ด้วยกัน แต่บางชนิดก็แยกกันต่างหาก

คอนเดนเซอร์เลนส์ (abb-condenser) ทำหน้าที่รวมแสงจากจุดกำเนิดของแสงให้ผ่านวัตถุที่ต้องการส่องขยายเข้าสู่ออพเจกทีฟเลนส์ โดยที่เลนส์ชนิดนี้เป็นเลนส์นูนที่ประกอบเข้าด้วยกันหลายอัน คอนเดนเซอร์เลนส์นี้ติดอยู่ใต้แป้นรองรับวัตถุของกล้อง

ไอริสไดอะแฟรม (iris diaphragm) เป็นชิ้นส่วนที่ทำหน้าที่บังคับแสงให้เข้าคอนเดนเซอร์เลนส์ได้มากน้อยตามความต้องการ ถ้าวัตถุที่นำมาส่องขยายมีสีเข้มต้องการแสงมากให้ปรับคันเลื่อนปิดเปิดแสงนั้นให้ออกกว้างขึ้น แต่ถ้าวัตถุที่นำมาส่องขยายมีลักษณะใส ให้ปรับคันเลื่อนปิดเปิดแสงนั้นให้แคบลงกว่าปรกติ

อินคลิเนชันจอยท์ (inclination joint) เป็นตำแหน่งที่ใช้ปรับลำตัวท่อกวของกล้องให้เอียงขึ้นลงได้ เพื่อให้เหมาะกับการใช้ส่องดูวัตถุตามต้องการ โดยมากพบกับกล้องชนิดเก่า

3. **ฐาน (base)** มีหน้าที่ช่วยทำให้กล้องทรงตัวอยู่ได้ไม่ให้อเอียงหรือพลิกคว่ำ มีรูปร่างตั้งแต่กลมหรือเหลี่ยมคล้ายรูปเกือกม้า ในตำแหน่งฐานของกล้องทั่วไปมักเป็นแหล่งกำเนิดของแสงอันเกิดจากการติดตั้งกระจกเงา (mirror) หรือหลอดไฟฟ้าแล้วแต่ความสะดวกในการใช้งาน สำหรับกระจกเงาที่ติดตั้งนั้นมีอยู่สองด้าน คือ ด้านเว้าและด้านเรียบ ถ้าต้องการใช้แสงมากควรใช้ด้านเว้ารับแสงเพื่อให้สะท้อนผ่านคอนเดนเซอร์เข้าสู่ออพเจกทีฟเลนส์อีกครั้งหนึ่ง

กำลังขยายที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์

กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ทั้งหมดที่ได้รับ (total magnification) คำนวณได้จากกำลังขยายของออปเจกทีฟคูณด้วยกำลังขยายของออกคิวลาร์ และคูณด้วย 1/10 ของระยะห่างระหว่างสไลด์กับออกคิวลาร์คิดเป็นนิ้ว

$$\text{Total magnification} = \text{objective lens} \times \text{ocular lens} \times 1/10 \text{ distance from specimen to ocular (inch)}$$

กล้องจุลทรรศน์ปกติทั่วไปมักประดิษฐ์ให้มีท่อกลางของลำตัว (body-tube) ยาว 160 มิลลิเมตร ซึ่งจะทำให้ระยะห่างระหว่างสไลด์กับออกคิวลาร์ห่างกันประมาณ 10 นิ้ว ดังนั้นกำลังขยายของกล้องทั้งหมดจึงมีค่า = กำลังขยายของออปเจกทีฟ x กำลังขยายของออกคิวลาร์

การนำวัตถุมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นภาพได้ละเอียดชัดเจนมากน้อยเท่าไรขึ้นอยู่กับค่าของ N.A. และความยาวของช่วงคลื่นแสง (wave length) กล่าวคือ หากวัตถุมีขนาดเล็กกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวของคลื่นแสงแล้วจะทำให้มองไม่เห็นภาพของวัตถุนั้น ความยาวของช่วงคลื่นแสงต่ำสุดที่ตาของคนปกติสามารถนำมาใช้ได้โดยไม่มีโทษอยู่ระหว่าง 400-750 nanometer (nm) คือ ตั้งแต่แสงสีม่วงน้ำเงิน (blue violet) จนถึงแสงสีแดง (red) จากการที่ทราบค่า N.A. และช่วงคลื่นแสงที่ใช้สามารถคำนวณรายละเอียดต่างๆที่มองเห็นได้ว่าวัตถุนั้น ต้องมีระยะใกล้ที่สุดหรือขนาดเล็กที่สุดเท่าไรจึงสามารถมองเห็นได้ชัดเจน กำลังความสามารถที่จะแยกวัตถุ 2 ชิ้น ออกจากกันได้เราเรียก resolving power (r) เทียบได้จากค่าต่อไปนี้

$$r = \frac{\text{ขนาดความยาวของคลื่นแสง (ถ้ากล้องมีคอนเดนเซอร์เลนส์)}}{N.A._{\text{objective}} + N.A._{\text{condenser}}}$$

$$\text{และ } r = \frac{\text{ขนาดความยาวของคลื่นแสง (ถ้ากล้องไม่มีคอนเดนเซอร์เลนส์)}}{N.A._{\text{objective}}}$$

ออกคิวลาร์และออปเจกทีฟเลนส์มีความสัมพันธ์กันอย่างไร

การใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูวัตถุที่ต้องการส่องขยายนั้น บางโอกาสพบว่าถึงแม้กล้องอยู่ในสภาพที่ดีครบทุกประการก็ตาม ภาพที่ปรากฏขึ้นอาจไม่ชัดเจนเท่าที่ควร สาเหตุหนึ่งที่เป็นไปได้ คือ การเปลี่ยนกำลังขยายของออกคิวลาร์มากเกินไปจนเกิดความจำเป็น กำลังขยายของออกคิวลาร์จะใช้ได้มากที่สุดเท่าไรนั้น ขึ้นอยู่กับกำลังขยายและประสิทธิภาพของเลนส์ออปเจกทีฟของกล้องเป็นข้อจำกัด โดยค่ากำลังขยายของออกคิวลาร์เลนส์ที่ใช้มีค่ามากที่สุดนั้นคิดได้จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{กำลังขยายมากที่สุดของออกคิวลาร์} = \frac{1000 \times \text{N.A. ของออพเจกทีฟ}}{\text{กำลังขยายของออกเจกทีฟ}}$$

ค่า N.A. ของออพเจกทีฟเป็นค่าที่ได้กำหนดไว้ และบอกไว้แล้วที่ตัวเลข เช่น	
กำลังขยายของออพเจกทีฟที่ 10x	N.A. จะมีค่าเท่ากับ 0.25
กำลังขยายของออพเจกทีฟที่ 43x	N.A. จะมีค่าเท่ากับ 0.65
และกำลังขยายของออพเจกทีฟที่ 100x	N.A. จะมีค่าเท่ากับ 1.25

วิธีใช้กล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมักมีราคาแพง ถ้านักศึกษาใช้โดยไม่ระมัดระวังอาจเกิดข้อผิดพลาดทำให้ชำรุดเสียหายขึ้นได้ เพื่อป้องกันข้อผิดพลาดดังกล่าว จึงขอให้นักศึกษาได้ปฏิบัติการใช้กล้องจุลทรรศน์ตามข้อแนะนำตามลำดับต่อไปนี้ คือ

1. หลังจากเบิกกล้องจุลทรรศน์จากเจ้าหน้าที่ผู้ควบคุมแล้ว ให้นักศึกษาตรวจสอบสภาพกล้องว่าพร้อมที่จะใช้งานหรือไม่ ถ้าพบว่าชำรุดเสียหายโปรดแจ้งเจ้าหน้าที่ทันที การเคลื่อนย้ายกล้องจะกระทำได้สะดวก ถ้านักศึกษาได้กดปุ่มล็อคกล้องเสียก่อนก็ยังไม่ได้ล็อคจำเป็นต้องล็อคทันที มิฉะนั้นจะทำให้ส่วนประกอบส่วนนั้นเคลื่อนไหวและพลัดตกชำรุดเสียหาย อนึ่ง การถือกล้องขอให้ใช้มือที่ถนัดจับในบริเวณอาร์มเข้าชิดลำตัวด้านหน้าแล้วใช้มือข้างที่ไม่ถนัดรองรับที่ส่วนฐานของกล้อง หลีกเลี่ยงการถือมือเดียวและแกว่งกล้องหรือเอียงไปมาในขณะที่กำลังเคลื่อนย้าย
2. ในการส่องดูวัตถุใดก็ตาม ต้องตั้งกล้องให้ตรงหรือให้อยู่ในสภาพเดิมของกล้องเสมอ และวางอยู่บนโต๊ะที่มั่นคงพอ ไม่สั่นสะเทือน และไม่เอียงกล้องจนเสียสมดุลย์
3. ถ้าเป็นกล้องชนิดมีกระบอกตาอันเดียว (monocular) จะต้องดูด้วยตาที่ลืมทั้งสองข้างอย่าหลับตาข้างที่ไม่ได้ดูกล้องเพราะจะทำให้กล้ามเนื้อตาทำงานหนักและเมื่อยตาเวลาดูกล้องนาน ๆ
4. หมุนแป้นเหล็กแผ่นกลม (revolving nosepiece) ให้เลนส์ของออพเจกทีฟที่มีกำลังขยายต่ำสุดเข้าที่ตรงกลางแป้นรับวัตถุ หมุนปุ่มปรับโฟกัสชนิดหยาบให้เลนส์ออพเจกทีฟอยู่ต่ำสุด
5. ถ้าเป็นกล้องชนิดใช้กระจกเงาส่องแสงจะต้องมีการจัดให้แสงเข้าสู่กล้อง โดยจับขอบกระจกเงาหันไปรับแสงด้วยนิ้วชี้และนิ้วหัวแม่มือเพียง 2 นิ้ว จากดวงอาทิตย์หรือโคมไฟ อย่าหันไปรับแสงโดยตรงเพราะจะทำให้แสงจ้าเกินไปอาจทำให้ตาเสียได้ ใช้กระจกเงาด้านเรียบรับแสงสำหรับกล้องที่มีเลนส์คอนเดนเซอร์เป็นเครื่องช่วยรวมแสง และใช้กระจกเงาด้านเว้ารับแสงสำหรับกล้องที่ไม่มีเลนส์คอนเดนเซอร์ แล้วจัดความเข้มของแสงที่เข้ากล้องให้พอเหมาะที่ตาจะสามารถรับ

ได้แบบสบาย ๆ โดยปรับไอริสไดอะแฟรม

6. วางสไลด์ที่มีตัวอย่างต้องการศึกษาลงบนแป้นรองรับวัตถุ แล้วตรึงด้วยสปริงคลิบสำหรับกล่องที่มีเครื่องเลื่อนกล ให้วางสไลด์ตรงตำแหน่งคันรับสไลด์เพื่อให้อยู่ในความบังคับของเครื่องเลื่อนไปมาได้ตามต้องการ

7. ตามองที่เลนส์ออกควิวส์ร่วมกับใช้มือที่ถนัดหมุนปุ่มโฟกัสชนิดหยาบ ให้เลนส์ออฟเจกทีฟกับสไลด์เลื่อนห่างออกจากกัน เพื่อหาระยะทำงานที่ถูกต้องจนได้ภาพชัดเจน ในการโฟกัสจะต้องเลื่อนให้ออฟเจกทีฟห่างออกจากสไลด์เสมอ

8. หากต้องการตรวจรายละเอียดของตัวอย่างในสไลด์ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ให้เข้มข้นยิ่งขึ้น ให้หมุนแป้นเหล็กกลมเลื่อนเลนส์ออฟเจกทีฟกำลังขยายสูง หรือออยิมเมอร์ชั้นแทนกำลังขยายที่ใช้อยู่ในครั้งแรก สำหรับกำลังขยายของเลนส์ออยิมเมอร์ชั้นนั้นก่อนใช้ จำเป็นต้องหยดน้ำมันลงบนสไลด์หรือแผ่นแก้วเล็กประกบ (cover-glass) ตรงบริเวณที่มีตัวอย่าง เลื่อนเลนส์ออฟเจกทีฟด้วยปุ่มปรับโฟกัสชนิดหยาบให้ปลายตะกั่วกับหยดน้ำมันจนติดสไลด์หรือแผ่นแก้วเล็กประกบในขณะที่จับตาอยู่ภายนอก จัดแสงสว่างให้พอดี จากนั้นใช้ตามองที่เลนส์ออกควิวส์แล้วเลื่อนเลนส์ออฟเจกทีฟขึ้นช้า ๆ ด้วย เครื่องปรับโฟกัสชนิดละเอียดจนได้ภาพชัดเจน

คำแนะนำหลังจากเลิกใช้กล้องจุลทัศน์

1. นำสไลด์ออกจากแป้นวางวัตถุ แล้วทำความสะอาดเลนส์ออฟเจกทีฟ และออกควิวส์ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์ ห้ามใช้วัสดุชนิดอื่นทำความสะอาดเลนส์เพราะจะทำให้เลนส์สกปรกและมีรอยขีดข่วน ถ้ามีการใช้น้ำมันกับเลนส์ออฟเจกทีฟกับกำลังขยายที่ 100x ต้องซับน้ำมันออกทุกครั้ง

2. หมุนให้เลนส์ออฟเจกทีฟที่มีกำลังขยายต่ำสุด ให้ตรงกับแป้นรองรับวัตถุแล้วเลื่อนคอนเดนเซอร์ลงต่ำสุด

3. ถ้ากล้องจุลทัศน์ใช้กระจกเงารับแสงให้หมุนกระจกเงาตั้งตรง แต่ถ้าเป็นกล้องชนิดใช้ไฟฟ้าให้ปิดสวิตช์ไฟพร้อมกับพับเก็บสายไฟให้เรียบร้อย

4. ลอกปุ่มต่าง ๆ ทุกปุ่มที่มี เพื่อเตรียมพร้อมที่จะเคลื่อนย้ายเข้าตู้เก็บและปิดกุญแจให้เรียบร้อย

ไมโครมิเตอร์ (Micrometer)

การวัดขนาดความกว้างยาวของเช็ร่าเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยในการตัดสินว่า เช็ร่าที่กำลัง

ศึกษานั้นเป็นราชนิดใด หน่วยที่ใช้วัดขนาดของราต่าง ๆ ใช้เป็นไมครอน (micron) ซึ่ง 1 ไมครอน มีค่าเท่ากับ $1/1000$ มิลลิเมตรโดยประมาณ เครื่องมือที่ใช้วัดขนาดของเชือราหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เรียกว่า ไมโครมิเตอร์ มีอยู่ 2 ชิ้นด้วยกัน คือ

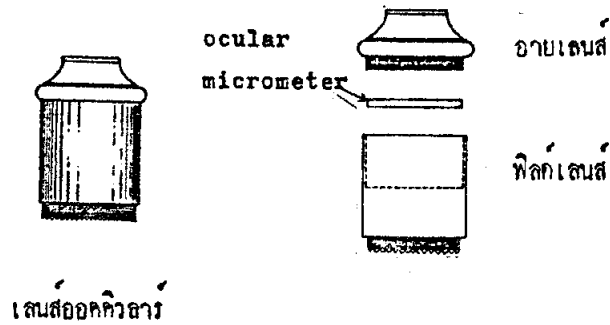
1. **stage micrometer** มีลักษณะเป็นแผ่นสไลด์แก้วธรรมดา แต่ตรงกลางมีเส้นแบ่งเป็นช่อง ๆ ไว้อย่างละเอียด แต่ละช่องมีระยะห่างเท่า ๆ กัน 10 ไมครอน ตามปกติมีอยู่ทั้งหมด 200 ช่อง ซึ่งรวมความยาวจะได้ 2 มิลลิเมตร ไมโครมิเตอร์ชนิดนี้ไม่ได้ใช้วัดขนาดโดยตรง แต่เป็นเครื่องมือสำหรับใช้เทียบค่าอีกต่อหนึ่ง

2. **ocular micrometer** เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดขนาดของเชือราโดยตรง เป็นแผ่นกระจกกลมมีขนาดพอดีสามารถบรรจุไว้ในเลนส์ออกควิวส์ได้ ตรงกลางแผ่นมีขีดเล็ก ๆ แบ่งออกเป็นช่อง ๆ ปกติจะมีอยู่ 50 ช่อง แต่ละช่องมีระยะห่างเท่า ๆ กัน ในการวัดเชือราหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น ระยะห่างจะเป็นเท่าไรขึ้นอยู่กับค่าของกำลังขยายของกล้องที่ใช้ ซึ่งทราบได้จากการเทียบค่าจาก stage micrometer การวัดขนาดของเชือราหรือจุลินทรีย์ชนิดใดก็ตาม เมื่อเปลี่ยนกล้องหรือเปลี่ยนกำลังขยายของกล้องแต่ละครั้งจำเป็นต้องเทียบค่าระยะห่างของ ocular micrometer จาก stage micrometer ทุกครั้ง ขอให้นักศึกษาจำไว้ว่ากำลังขยายของเลนส์ในกล้องแต่ละกล้องไม่เท่ากัน กำลังขยายที่บอกไว้ เช่น 100 เท่า หรือ 440 เท่า เป็นตัวเลขที่บอกเพียงประมาณ ในการหาค่าของ ocular micrometer ของกล้องหนึ่งกล้องใดจึงนำไปใช้กับกล้องอื่นไม่ได้ เพราะจะทำให้ขนาดของเชือราหรือจุลินทรีย์ที่วัดคลาดเคลื่อนไป

วิธีเทียบหาค่าของช่องใน ocular micrometer (Calibration of ocular micrometer) แบ่งขั้นตอนได้ ดังต่อไปนี้ คือ

1. นำ stage micrometer วางบนแท่นของกล้อง จัดกล้องให้เข้าที่ ครั้งแรกใช้เลนส์ออพเจกทีฟที่มีกำลังขยายต่ำวัดก่อน จัดระยะจนกระทั่งเห็นขีดแบ่งบน stage micrometer ชัดเจน

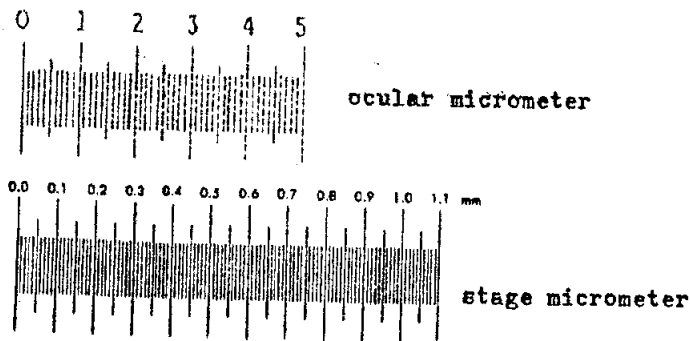
2. ถอดเลนส์ออกควิวส์ออกจากกล้อง แล้วหมุนเกลียวด้านบนของกระบอกเลนส์ออกควิวส์ออกบรรจุ ocular micrometer ลงไป ใส่ลวดสปริงบน ocular micrometer เพื่อบังคับมิให้แผ่นแก้วเคลื่อนที่ได้ หมุนอายุเลนส์ติดไว้ที่เดิมสวมออกควิวส์เข้าที่ (ดูภาพประกอบ)



ภาพแสดงการใส่ ocular micrometer ลงในเลนส์ออกคิวลาร์

3. ขณะนี้เมื่อมองเข้าไปในกล้องจะเห็นเส้นที่มีขีดแบ่ง 2 แถวทับกันโดยสังเกตเห็นว่าขีดแบ่งช่องระยะของ ocular micrometer มีระยะห่างกว่าของ stage micrometer

4. ให้นักศึกษาหมุนเลนส์ออกคิวลาร์ที่บรรจุ ocular micrometer ไว้ แล้วนั้นปรับให้ขีดแบ่งช่องของ ocular micrometer ขนานกับขีดแบ่งช่องของ stage micrometer แล้วเลื่อนให้ขีดใดขีดหนึ่งของ ocular micrometer ทับลงบนขีดของ stage micrometer จากนั้นจึงมองดูขีดต่อไปว่ามีเส้นใดบ้างที่ทับกันพอดีเช่นขีดแรก ทำเช่นนี้ซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง แล้วจึงคำนวณหาผลเฉลี่ยว่า 1 ช่องของ ocular micrometer เท่ากับกี่ช่องของ stage micrometer



ภาพแสดงการเทียบค่าของ ocular micrometer จาก stage micrometer

วิธีปฏิบัติการ

1. ชื่อผู้ใช้กล้องจุลทรรศน์.....
- ชนิดของกล้อง.....
- หมายเลข.....
- ออคคิวลาร์ (ocular) มีกำลังขยาย.....
- ออปเจกทีฟ (objective) จำนวน.....*.....*อัน

	กำลังขยาย	N.A.	สภาพของเลนส์
กำลังขยายต่ำ (low power)
กำลังขยายสูง (high power)
ออยอิมเมอร์ชัน (oil immersion)

สภาพส่วนต่าง ๆ ของกล้องมีส่วนใดบ้างชำรุดเสียหาย

- 1.1
- 1.2
- 1.3

2. ผลการเทียบค่าระยะช่องของ ocular micrometer

กำลังขยายต่ำ (10 เท่า)		กำลังขยายสูง (40 เท่า)	
Ocular micrometer	Stage micrometer	Ocular micrometer	Stage micrometer
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
รวม
เฉลี่ย

คิดเป็นไมครอน

จากกำลังขยายต่ำ 1 ซีด เท่ากับ.....ไมครอน

จากกำลังขยายสูง 1 ซีด เท่ากับ.....ไมครอน

3. ให้วัดขนาดความกว้าง x ยาว ของ *Saccharomyces cerevisiae* โดยการทำให้ wet mount

วัดครั้งที่ 1	กว้าง.....	ช่อง ง	ยาว.....	ช่อง ง
วัดครั้งที่ 2	กว้าง.....	da-4	ma.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 3	กว้าง.....	ช่อง ง	ยาว.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 4	กว้าง.....	ช่อง	ยาว.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 5	กว้าง.....	ช่อง	ยาว.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 6	กว้าง.....	ช่อง ง	ยาว.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 7	กว้าง.....	ช่อง	ยาว.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 8	กว้าง.....	ช่อง	ma.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 9	กว้าง.....	ช่อง	ยาว.....	ช่อง
วัดครั้งที่ 10	กว้าง.....	ช่อง	ยาว.....	ช่อง
เฉลี่ย	กว้าง.....	ช่อง	ยาว.....	ช่อง

จุลินทรีย์ชนิดนี้มีขนาดเฉลี่ย.....ไมครอน

คำถามท้ายบท

1. จงแสดงเหตุผลให้เห็นจริงว่า กล้องจุลทรรศน์ชนิดมีเลนส์คอนเดนเซอร์มีความสามารถในการขยายภาพได้สูงกว่าชนิดไม่มีเลนส์คอนเดนเซอร์

2. กล้องจุลทรรศน์ชนิดหนึ่งมีลำท่อกว้าง (body-tube) ยาว 180 มิลลิเมตร ถ้าใช้เลนส์
ออกตัวล่่าร์ที่ 10 เท่า และออฟเฟคทีฟที่ 20 เท่า อ่ยาคทราบว่่าค่าล่่างขยาของภาพจะเป็่นเท่าไร

3. N.A. มีควา่สำคัญต่อการใช้กล้องจุลทรรศน์อย่างไรบ้าง

4. ค่าดรรชนีหักเห (refractive index) ของตัวกลางมีอิทธิพลต่อกล้องจุลทรรศน์อย่างไร