

## บทที่ 10

### การทำสไลด์ถาวร

#### เค้าโครงเรื่อง

#### 10.1 เมาทิงมีเดียที่เป็นเรซิน

##### 10.1.1 เรซินธรรมชาติ

##### 10.1.2 เรซินสังเคราะห์

#### 10.2 เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลว

#### 10.3 การเมาทิงสไลด์

##### 10.3.1 การเมาทิงสไลด์ด้วยเมาทิงมีเดียที่เป็นเรซิน

##### 10.3.2 การเมาทิงสไลด์ด้วยเมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลว

#### สาระสำคัญ

1. เมาทิงมีเดียที่เป็นเรซินมีให้เลือกใช้ทั้งที่ได้จากธรรมชาติและชนิดสังเคราะห์ ในห้องปฏิบัติการทั่วไปนิยมใช้แคนาดาบิลซัม และเพอร์เมาทิงสำหรับงานประจำ
2. เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลวมีประโยชน์ใช้สอยค่อนข้างจำกัด อาจใช้สำหรับการทำสไลด์ทั้งตัวของสัตว์ขนาดเล็ก หรือใช้ในกรณีที่ย้อมสีไม่ได้หรือย้อมด้วยวิธีพิเศษ และใช้เพื่อหลีกเลี่ยงการสีตกในขั้นตอนดึ่งน้ำออก มีให้เลือกใช้หลายชนิดตามความเหมาะสม
3. การเมาทิงสไลด์ไม่ว่าจะใช้เมาทิงมีเดียชนิดใดมีขั้นตอนเหมือนกันคือ ทิ้งผลออกมาให้สะอาดสวยงาม ไม่มีฟองอากาศเหลืออยู่และไม่มีเมาทิงที่ทกล้นออกมา ถ้าใช้เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลวจะต้องผนึกครอบกระจกปิด เพื่อป้องกันการหกหรืออากาศแทรกเข้าไปและช่วยให้กระจกปิดติดถาวรยิ่งขึ้น

#### วัตถุประสงค์

เมื่อศึกษาจบบทนี้แล้ว

1. นักศึกษาสามารถบอกชนิดของเมาทิงมีเดียที่เป็นเรซิน และใช้งานประจำรวมทั้งบอกวิธีการเลือกใช้กับเนื้อเยื่อชนิดใดได้
2. นักศึกษาสามารถบอกชนิดของเมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลวว่าชนิดใดเหมาะสำหรับการใช้เมาทิงสัตว์ขนาดเล็ก หรือชิ้นส่วนของสัตว์
3. นักศึกษาสามารถปฏิบัติการทำสไลด์ถาวรโดยเมาทิงมีเดียประเภทใดประเภทหนึ่งหรือทั้งสองประเภทได้

4. นักศึกษาสามารถตอบคำถามในแบบฝึกหัดท้ายบทได้เกินกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลาไม่เกินหนึ่งสัปดาห์

เนื้อเยื่อที่เจือเนเป็นแผ่นบางและยืดหยุ่นเพื่อรอการตรวจสอบจำเป็นต้องเก็บรักษาไว้โดยมิให้เกิดความเสียหาย จึงต้องปิดทับเนื้อเยื่อด้วยกระจกปิดและต้องมีสารตัวกลางที่สามารถแทรกซึมเป็นเนื้อเดียวกันภายในเนื้อเยื่อซึ่งขึ้นอยู่กับระหว่างกระจกสไลด์และกระจกปิด จึงจะเป็นสไลด์ถาวร สามารถเก็บไว้ได้นานนับปี สารที่ใช้เป็นตัวกลางนี้เรียกว่าสารเมาทิงมีเดีย (mounting media) หรือเมาทันท์ (mountant) ซึ่งมีหลายชนิดทั้งที่เป็นเรซินและของเหลว สามารถเลือกใช้ประกอบการทำสไลด์ถาวรได้ตามความเหมาะสมกับเนื้อเยื่อแต่ละชนิดและวัตถุประสงค์ในการสาธิต

### 10.1 เมาทิงมีเดียที่เป็นเรซิน

เมาทิงมีเดียที่เป็นเรซิน (resinous mounting media) มีทั้งชนิดที่ได้จากธรรมชาติและชนิดที่สังเคราะห์ เมาทิงมีเดียที่ดีควรมีคุณสมบัติดังนี้

- (1) ควรมีดัชนีหักเหของแสงใกล้เคียงกับแก้ว คือประมาณ 1.54
- (2) ไม่ทำให้สีย้อมตกออกมาจากเนื้อเยื่อและไม่ทำให้สีย้อมซีดลง
- (3) หลังจากเซทตัวแล้วต้องไม่มีรอยแยกหรือจับเป็นก้อน ต้องเป็นเนื้อเดียวกันตลอด
- (4) เมื่อแห้งแล้วต้องไม่เป็นสารเหนียว การแห้งตัวควรเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว
- (5) ไม่หดร่นเข้ามาจากขอบกระจกปิด
- (6) ไม่สิ้นไหลไปมา
- (7) ไม่มีฟองอากาศหลงเหลืออยู่

#### 10.1.1 เรซินธรรมชาติ

(1) แคนาดาบัลซัม (Canada balsam) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.52 ได้มาจากไม้สนแคนาดา (*Abies balsamea*) เป็นเรซินซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ เทอร์พีน (terpene) กรดคาร์บอกซิลิก และเอสเทอร์ของกรดคาร์บอกซิลิก ละลายได้ในไซลอล ใช้เป็นเมาทันท์เนื้อเยื่อที่ย้อมสีด้วยอีมาทอกซิลิน อีโอซินได้ดี แต่ถ้าเป็นสีย้อมเบสิกแอนิลีน จะทำให้สีซีดลง และถ้าเป็นสีย้อมปรัสเซียนบลูจะค่อย ๆ ฟอกสีออกจากเนื้อเยื่อ

แคนาดาบัลซัมละลายในไซลอลได้ 55-70 เปอร์เซ็นต์ของหน่วยน้ำหนัก ความเข้มข้นขึ้นอยู่กับความชอบและประสบการณ์ของแต่ละบุคคล โดยทั่วไปจะใช้ที่ความเข้มข้น 55 เปอร์เซ็นต์ การเตรียมยุ่งยากมากเพราะต้องบดในครกกระเบื้องแล้วค่อย ๆ เติมไซลอลลงไป ซึ่งหลีกเลี่ยงฟองอากาศตกค้างอยู่ในสารละลายได้ยากจึงควรซื้อชนิดสำเร็จรูปมาใช้ ซึ่งสะดวกและประหยัดกว่า ถ้านาน ๆ ใช้นะต้อง

เก็บเอาไว้นาน ควรเติมเศษกรวดหินอ่อนเล็ก ๆ ลงไปประมาณ 2-3 อัน เพื่อป้องกันการเกิดกรด

(2) คอโลไฟเนียม เรซิน (Colophonium resin) ละลายได้ในไซลอลและน้ำมันสน ปัจจุบันไม่นิยมใช้ ถ้าเป็นสารละลายในแอลกอฮอล์อาจใช้เป็นสารตีฟเฟรนซีเอทได้

#### 10.1.2 เรซินสังเคราะห์

เรซินสังเคราะห์มีหลายชนิดทั้งที่ทำขึ้นใช้เอง ในห้องปฏิบัติการหรือผลิตออกขายโดยบริษัทเคมีภัณฑ์ ที่นำมาใช้บ่อยคือสารในกลุ่มพอลีสไตรีน (polystyrene) และควรเติมสารพวกพลาสติไซเซอร์ (plasticizer) ลงในพอลีสไตรีนเพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศเมื่อเรซินเซตตัวแข็ง สารพวกพลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้คือไตรเครซิล ฟอสเฟต (tricresyl phosphate) หรือไดบิวทิลพทาเลท (dibutyl phthalate) อาจใช้สารตัวทำละลายที่มีจุดเดือดสูงแทนพวกพลาสติไซเซอร์ก็ได้ เช่น เทคนิคัลไดเมทิลเบนซีน หรือเทคนิคัลไดเอทิลเบนซีน พอลีสไตรีนไดเมทิลเบนซีน ซึ่งเมทาแทนที่ใช้ได้ดีสำหรับการเมทาต์สไลด์ เนื้อเยื่อที่ย้อมสีด้วยปฏิกิริยาปรัสเซียนบลู เรซินสังเคราะห์ที่ใช้บ่อยทั้งในงานประจำที่ย้อมเนื้อเยื่อด้วยอีมาทอกซิลีน-อีโอซิน และที่ย้อมเนื้อเยื่อด้วยวิธีพิเศษ มีดังนี้

(1) คัพเวอร์บอนด์ (Coverbond) มีค่าดัชนีหักเห 1.53 เป็นพวกฮาร์เลโคเรซินสังเคราะห์ (Harleco Synthetic Resin) มีชื่อย่อว่า H.S.R. ทำเป็นสารละลาย 60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในโทลูอีน อาจหาซื้อได้ในรูปของเรซินแห้งแล้วนำมาละลายในโทลูอีน หรือไซลีน

(2) เดเพเอกซ์ (Gurre's DePeX) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.52 เป็นพอลีสไตรีนเรซิน ทำเป็นสารละลาย 20 เปอร์เซ็นต์ในไซลีน เมื่อแข็งตัวจะหดตัวมาก เวลาใช้ควรหยดลงบนเนื้อเยื่อมากกว่าปกติหนึ่งหยด ส่วนเกินตามขอบกระจกปิดเมื่อแห้งแล้วขูดออกได้ง่ายด้วยมีดคม

(3) ยูพารัล (Euparal) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.48 เป็นเมทาแทนที่กึ่งสังเคราะห์ ประกอบด้วยแซนเดแรกเรซิน (sandarac resin) ละลายในสารผสมยูคาลิปตัส (eucalyptus) พารัลดีไฮด์ (paraldehyde) และแคมซัล<sup>1</sup> (camsal) ใช้ในกรณีที่ต้องการค่าดัชนีหักเหของแสงต่ำ มีข้อดีคือสามารถใช้เมทาต์สไลด์ได้ตั้งแต่ชั้นตอนทีสไลด์อยู่ใน 90 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ขึ้นไป มีให้เลือกตามความต้องการ เช่น ถ้าใช้กับเนื้อเยื่อที่ย้อมสีด้วยอีมาทอกซิลีน ใช้เมทาแทนที่สีเขียวซึ่งมีการเติมคอปเปอร์ซัลเฟตลงไปด้วย

(4) ฮิสโทแคลด (Histoclad) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.54 เป็นสารละลายเรซินสังเคราะห์ 60 เปอร์เซ็นต์ในโทลูอีน ผลิตโดยบริษัทเคลย์ แอดัม (Clay Adam's)

---

\*\*\*1. เป็นของเหลวผสมระหว่างการบูร (camphor) และเฟนิล ซาลิไซเลท (phenyl salicylate)

(5) นิวยูนิเมาท์<sup>1</sup> (new unimount) มีดัชนีหักเหของแสง 1.50 เป็นเมทาแทนท์ที่ได้รับ การปรับปรุงให้ใช้ได้สำหรับงานประจำที่ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสีย้อมที่ใช้ได้กับแคนาดาบิลซิม และยังสามารถ ใช้ได้กับการทำสไลด์ถาวรของวิธีฟลูออเรสเซนซ์แอนติบอดีอีกด้วย

(6) นิวทรัลเมาทิงมีเดีย (Gurr's neutral mounting media) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.52 เป็นสารผสมของ คูมาโรน (coumarone) และเรซินสังเคราะห์อื่น ทำเป็นสารละลาย 76 เปอร์เซ็นต์ในซิเนอล (cineol) หรือ ยูคาลิปตอล (eucalyptol) ค่อนข้างข้น หนืด เหมาะสำหรับ เมทาท์สไลด์สเมียร์ของเลือดหรือเนื้อเยื่อที่ย้อมสีด้วยวิธีโรมานอลส์ก็

(7) เพอร์เมาท (Fisher's Permount) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.528 เป็นสารเนฟทา ลินพอลิเมอร์ ทำเป็นสารละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ในโทลูอิน ใช้ในงานประจำทั่วไปได้เช่นเดียวกับแคนา ดาบิลซิม

(8) โพร-เทกซ์ (Pro-Texx from Lerner Laboratories) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.495 เป็นเมทาแทนท์ที่มี pH เป็นกลางและมีสารต้านการออกซิเดชันผสมอยู่ด้วย เพื่อช่วยถนอมคุณภาพ ของสีย้อม ละลายได้ทั้งในโทลูอินและไซลีน

(9) เทคนิคอนเรซิน (Technicon Resin) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.62 เป็นสารประ กอบคูราโมน-อินดีน พอลิเมอร์ (Couramone-indene polymer) ทำเป็นสารละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลายผสมที่ปริมาตรเท่ากันของเบนซีนและไซลีน เวลาใช้ต้องระวังเพราะเมื่อแข็งตัวจะเกิด ฟองอากาศเนื่องจากเบนซีนระเหยเร็ว

(10) แซม (Gurr's XAM) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.52 เป็นสารมาเลอิกพอลิเมอร์ (maleic polymer) ที่มีส่วนผสมของพลาสติกไซเซออร์ ทำเป็นสารละลาย 77 เปอร์เซ็นต์ในไซลีน มีความข้น หนืดปานกลาง เวลาใช้ควรหยดเพิ่มอีกหนึ่งหยดจากปกติ เนื่องจากเมื่อแข็งตัวจะหด เมทาแทนท์ ส่วนเกินที่แข็งอยู่นอกกระจกปิดสามารถขูดออกได้ด้วยมีดคม

การใช้เมทาแทนท์ทุกชนิดดังกล่าวควรแบ่งจากขวดที่ซื้อมาจากบริษัทผู้ผลิต แล้วใส่ในขวดแก้ว ขนาดเล็กจำนวนเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 5-10 มิลลิลิตร) ใช้แท่งแก้วสั้นจุ่มคาไว้ให้พ้นปากขวดพอที่มือ จะหยิบจับได้ แล้วครอบด้วยฝาแก้วเพื่อป้องกันฝุ่นและไม่ให้ตัวทำละลายระเหย การที่ใช้แท่งแก้วเพราะ เมทาแทนท์มีความข้นหนืดพอที่จะติดแท่งแก้วเมื่อมาแตะลงบนสไลด์จะสามารถควบคุมปริมาณได้และแท่งแก้ว ไม่ทำให้เกิดฟองอากาศ ถ้าใช้หลอดหยดจะทำให้เกิดฟองอากาศและเพื่อป้องกันการเปลี่ยนเป็นกรดของ เมทาแทนท์ ควรใส่ก้อนหินอ่อนขนาดเล็กลงไป 2-3 ก้อน

---

\*\*\*1. ผลิตโดยบริษัท Sherwood Medical Industries. เลขที่ 1831 Olive Street  
St. Louis, Missouri, U.S.A. 63103.

### กิจกรรม 10.1

ให้นักศึกษานำขวดเมานแทนท์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการออกมาอ่านฉลากชื่อและส่วนประกอบว่าชนิดใดมีส่วนประกอบของเรซินใด และให้สังเกตว่าสารพอลิส์ไทรีนมีอยู่ในเมานแทนท์ชนิดใดบ้าง

### 10.2 เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลว

เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลว (aqueous mounting media) ส่วนมากจะมีค่าดัชนีหักเหของแสงต่ำ (1.4-1.42) แต่ประโยชน์ใช้สอยก็ใช้แทนพวกเรซินได้โดยทั่วไปสองกรณีคือ (1) เมื่อสีย้อมละลายได้ในเรซินมีเดียที่ใช้เมาทิง (2) เมื่อสีย้อมถูกล้างออกในขั้นตอนการดึงน้ำออกด้วยแอลกอฮอล์และไซลีน ตัวอย่างคือ การย้อมสีแบบเมทาโครมาติก สีย้อมมักละลายออกมาอยู่ในเรซินเมานแทนท์ จึงต้องเปลี่ยนมาใช้ฟรุคโตสไซรัป (fructose syrup) ซึ่งเป็นเมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลวชนิดหนึ่งแทนพวกที่เป็นเรซิน เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลวนแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ (1) เจลาตินผสมกัมอาราบิก (gum arabic) ในน้ำ กัมอาราบิกทำหน้าที่ช่วยให้แข็ง (solidifying agent) (2) น้ำตาลและเกลียวซึ่งจะทำหน้าที่ช่วยเพิ่มค่าดัชนีหักเหของแสง (3) กลีเซอรอลและไกลคอลซึ่งจะทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซออร์กัมอาราบิกจะแข็งตัวช้า ๆ เมื่อแห้ง เจลาตินเซกตัวเมื่ออุณหภูมิลดลงที่อุณหภูมิห้อง กลีเซอรอลช่วยไม่ให้เนื้อเยื่อแตกหรือแห้ง ควรเติมสารป้องกันการเจริญของเชื้อราลงไปด้วยเช่น ฟีนิล ไทมอล (thymol) เมอร์โทไอโอเลท (merthiolate) และ เซฟิแรน (Zephiran) เมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลวที่ควรทราบมีดังนี้

(1) กลีเซอริน เยลลี่ (Kaiser's Glycerin Jelly) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.47 เหมาะสำหรับเป็นเมานแทนท์ของเนื้อเยื่อที่ย้อมสีด้วยสีย้อมไซมัน มีส่วนประกอบดังนี้

เจลาติน	10.0 กรัม
น้ำกลั่น	60.0 มิลลิลิตร
กลีเซอริน	70.0 มิลลิลิตร
ฟีนิล	0.25 กรัม

เจลาตินแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง เวลาจะใช้จึงต้องอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อย่าเขย่าหรือคนมีเดียระหว่างอุ่นเพราะจะทำให้เกิดฟองอากาศ ใช้วิธีหมักภาชนะบรรจุ (พลาสติกหรือขวด) ทั้งในการเตรียมสารละลายและเมื่อจะใช้

(2) เอพาที้'ส มีเดีย (Apathy's Media) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.52 ใช้เมื่อต้องการมีเดียที่มีค่าดัชนีหักเหของแสงสูง เป็นมีเดียที่มีประโยชน์สำหรับการเมาทิงสไลด์ที่ทำด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์ เพราะตัวมีเดียเอง ไม่แสดงฟลูออเรสเซนซ์ มีส่วนประกอบดังนี้

ซูโครส (น้ำตาลอ้อย)	50.0 กรัม
กัมอาราบิก (จาก acacia)	50.0 กรัม
น้ำกลั่น	50.0 มิลลิลิตร
ฟอร์มาลดีไฮด์	1.0 มิลลิลิตร

(หรือ ไทมอล 1 เกล็ด)

ละลายกัมอาราบิกในน้ำอุ่น เติมน้ำตาลซูโครส เมื่อละลายหมดแล้วจึงกรองตั้งไว้ให้เย็น แล้วจึงเติมฟอร์มาลดีไฮด์ (หรือไทมอล) ไม่ควรใช้ผลกัมอาราบิก เพราะจะทำให้ขึ้น เก็บสารละลายที่เตรียมได้นี้ไว้ในขวดที่มีจุดปิดแน่น

(3) ฟาร์แรนท์'ส มีเดีย (Farrant's Media) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.43 เป็นของเหลวที่ใช้สะดวกกว่ากลีเซอรีนเยลลี่ แต่มีข้อเสียที่เซทตัวช้า และมักจะเกิดฟองอากาศ มีส่วนประกอบดังนี้

กัมอาราบิก	50.0 กรัม
น้ำกลั่น	50.0 มิลลิลิตร
กลีเซอรีน	50.0 มิลลิลิตร
กรดคาร์บอกซิลิก (เฟีนอล)	0.1 กรัม

(หรือเมอร์โทโอเลท หรือ เซฟิแรน 0.25 กรัม)

เตรียมสารละลายได้ทำนองเดียวกับเอพาที'ส มีเดีย อาจซื้อผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากผู้ผลิตได้<sup>1</sup> ซึ่งบรรจุขวดเป็นของเหลว

(4) ฟรุคโตสไซรัป (Fructose or Laevulose Syrup) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.47 ใช้เป็นเมแทนท์ชั่วคราวหรือกรณีพิเศษ ไม่นิยมใช้สำหรับงานประจำ มีส่วนประกอบดังนี้

ฟรุคโตส (เลวูโลส)	75.0 กรัม
น้ำกลั่น	25.0 มิลลิลิตร

เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลมากการละลายจึงต้องใช้ความร้อนช่วยที่ประมาณ 60 องศาเซลเซียส ถ้าจะให้เตรียมง่ายขึ้นควรใช้สูตรของมัลลอรี่ (Mallory's) ซึ่งใช้ฟรุคโตส 30 กรัม และน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ซึ่งจะให้เซทตัวดีควรเติมเจลาตินลงไป 10 กรัม การใช้ฟรุคโตสดีกว่าน้ำตาลชนิดอื่น เพราะไม่ตกผลึกขณะเตรียมสารละลาย

(5) ไฮแมน'ส มีเดีย (Highman's Media) มีค่าดัชนีหักเหของแสง 1.52 เป็นมีเดียที่ดัดแปลงมาจากเอพาที เหมาะสำหรับเมทาส์โลด์ที่ย้อมสีด้วยวิธีเมตาโครมาติก มีส่วนประกอบดังนี้

---

\*\*\*1. Amend Drug and Chemical Company. New York. N.Y.

ซูโครส (น้ำอ้อย)	20.0 กรัม
กัมอาราบิก	20.0 กรัม
น้ำกลั่น	40.0 มิลลิลิตร
พอลิแซ็กคาไรด์ แอซีเตท	20.0 กรัม
โซเดียมเมอร์โทโอเลท	10.0 มิลลิลิตร

ละลายกัมอาราบิกด้วยน้ำอุ่นแล้วเติมน้ำตาลซูโครส พอลิแซ็กคาไรด์ แอซีเตทและโซเดียมเมอร์โทโอเลทตามลำดับ เก็บไว้เป็นสารละลายสต็อกในขวดมีจุกปิดแน่น ถ้าระเหยได้จะเซทตัว

(6) เบอร์ลีส มีเดีย (Berlese Media) เป็นมีเดียที่ใช้สำหรับการเม้าส์ไลต์สัตว์ทั้งตัวสามารถเตรียมได้หลายสูตร ตามวัตถุประสงค์ของการใช้

ก. เกรย์'ส ฟอรัลมา

กัมอาราบิก	8.0 กรัม
น้ำ	10.0 มิลลิลิตร
เดกซ์โตรอสไซรัป	5.0 มิลลิลิตร
กรดแอซีติกเข้มข้น	3.0 มิลลิลิตร
คลอรัลไฮเดรต	75.0 กรัม

เติมกรดและไซรัปในน้ำ แล้วจึงใส่กัมอาราบิกลงไป คนเป็นครั้งคราวใช้เวลาประมาณหนึ่งสัปดาห์หรือมากกว่าจึงจะละลายหมด แล้วเติมคลอรัลไฮเดรต เหมาะสำหรับเป็นเม้าแทนท์ของแมลง

ข. สูตรหนา (thick formula)

กัมอาราบิก	25.0 กรัม
น้ำกลั่น	40.0 มิลลิลิตร
คลอรัลไฮเดรตต้มตัวในน้ำ	30.0 มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	5.0 มิลลิลิตร

ละลายกัมอาราบิกในน้ำอุ่นแล้วเติมสารละลายทั้งหมดลงไป กรอง

ค. สูตรบาง (thin formula)

กัมอาราบิก	60.0 กรัม
น้ำกลั่น	100.0 มิลลิลิตร
คลอรัลไฮเดรตต้มตัวในน้ำ	100.0 มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	40.0 มิลลิลิตร

เตรียมเช่นเดียวกับสูตรหนา

(7) มังค์'ส คาโร มีเดีย (Monk's Karo Media) มีส่วนประกอบดังนี้

ไวท์คาโรไซรป	5.0 มิลลิลิตร
เซอร์โท (Certo เป็นเพคตินจากผลไม้)	5.0 มิลลิลิตร
น้ำ	3.0 มิลลิลิตร

ไทมอล 1 เกล็ดสำหรับถนอมสารละลาย

เหมาะสำหรับเมทาส์ไลด์ชิ้นส่วนของสัตว์ ซึ่งเลื่อนไปมาได้ง่าย ถ้าใช้มีเดียอื่น เช่น ทรายางค์ปากของแมลง ทำโดยปาดกระจกสไลด์ด้วยมีเดีย แล้วรีบตีชิ้นส่วนของสัตว์ที่อยู่ในสารทำให้ใสมาจัดวางบนชิ้นบางของมีเดียที่ทำไว้แล้วบนกระจกสไลด์ เติมมีเดียอีกเล็กน้อยจึงปิดด้วยกระจกปิด มีเดียจะเซทตัวภายใน 2 นาที และจะยึดชิ้นส่วนของสัตว์ให้อยู่กับที่ ทำให้แข็งขึ้นโดยวางบนแผ่นความร้อนที่ใช้สำหรับละลายพาราฟิน แล้วปิดด้วยกระจกปิด อาจใช้ส่วนผสมของมีเดียนี้กับยูพารัลมีเดียเคลือบกระจกปิดแล้วคว่ำเมทาส์ลงไป ระวังมิให้มีฟองอากาศ อาจใช้ยูพารัลอย่างเดียวยกก็ได้

(8) ซีเอ็มซี-10 มีเดีย (CMC-10 Media) เป็นเมทิงมีเดียที่ผลิตโดย General Biological Supply House โดยมีวัตถุประสงค์เริ่มแรกเพื่อใช้เมทาส์สัตว์ขนาดเล็ก พวกหมัดเห็บและไร ใช้กับเนื้อเยื่อที่ยอมสีแล้วไม่ได้ สัตว์ตัวอย่างขนาดเล็กที่จะเมทาส์ถ้ายังมีฟองอากาศหลงเหลืออยู่เล็กน้อยอาจนำมาเมทาส์ได้ แต่ถ้าในสัตว์ตัวอย่างขนาดใหญ่ขึ้นจะมีฟองอากาศหลงเหลืออยู่ใช้ไม่ได้ ต้องเอาออกให้หมด โดยแช่น้ำหรือแอลกอฮอล์ก่อนจึงจะนำมาเมทาส์

(9) เอโบปอน<sup>1</sup> (Abopon) เป็นเมทิงมีเดียที่รวมกับน้ำเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้แทนกลีเซอรีนเยลลี่ สำหรับเมทาส์ไลด์ที่ย้อมสีด้วยวิธีพิเศษได้ ละลายมีเดีย .50 กรัมในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้ขึ้นเกินไป เวลาจะใช้ควรทำให้เจือจางครั้งต่อครั้งด้วยน้ำ

เมทิงมีเดียที่เป็นของเหลว มักจะไหลไปมาได้และจะหกหล่นออกมาจากขอบกระจกปิด จึงจำเป็นต้องผนึกขอบกระจกปิดด้วยริงกิงมีเดีย (ringing media) เพื่อให้กระจกปิดติดแน่นกับกระจกสไลด์เป็นการถาวร ไม่มีการหกหล่นออกมาจากขอบกระจกปิด มีให้เลือกใช้ได้หลายชนิด เช่น (1) ชั่งิงพาราฟิน มีขายมาพร้อมกับขวดหลอดที่ใช้ได้ชั่วคราว (2) ซีเมนต์ เป็นกาวพลาสติก (เช่น Durofix) ใช้ได้สะดวกโดยบีบออกมาจากหลอด

---

\*\*\*1. ผลิตโดยบริษัท Glyco Chemicals Company, Williamsport; Pennsylvania, U.S.A.



## กิจกรรม 10.2

ให้นักศึกษาเตรียม มังค์'ส คาโรมีเดีย ตามสัดส่วนและวิธีเตรียมในข้อ 10.2 (7) แล้วเก็บใส่ขวดปิดจุกให้แน่น ทำเป็นสารละลายสต็อก

## 10.3 การเมาทส์ไลด์

แผ่นบางของเนื้อเยื่อที่จะนำมาทำสไลด์ถาวร ควรมีลักษณะเรียบร้อย สะอาด สวยงาม กล่าวคือ เมื่อเมาทแผ่นบางของเนื้อเยื่อลงบนกระจกสไลด์ ควรอยู่ที่กึ่งกลางความกว้างของกระจก และค่อนข้างไปทางด้านตรงข้ามกับที่เขียนโค้ดไว้ด้วยดินสอเขียนแก้ทางแนวยาวของกระจก (รูป 10-1 ก.) เมาทแผ่นนี้ ต้องไม่ลั่นออกมาจากขอบกระจกปิด และไม่มีฟองอากาศหลงเหลืออยู่ทั้งในบริเวณรอบเนื้อเยื่อและภายในเนื้อเยื่อ ขอบกพร่องเหล่านี้หลีกเลี่ยงได้ โดยใช้ปริมาณของเมาทแผ่นที่เหมาะสม และต้องไม่ชื้นหรือเหลวเกินไป ในกรณีที่ชื้นเกินไปเมื่อปิดด้วยกระจกปิดแล้ว เมาทแผ่นที่ไม่แผ่ออกมาเต็มขอบพอดีควรปรับความชื้นใหม่โดยทำให้จางลงด้วยโกลูอิน หรือไซลีน ตามชนิดของสารละลายที่ใช้เฉพาะกับเมาทแผ่นที่ ถ้าเหลวเกินไปไม่ควรใช้ เพราะแก้ไขขอบกพร่องยาก

กระจกปิดที่ใช้มีหลายชนิดและขนาด ทั้งชนิดที่เป็นสีเหลืองจตุรัส สีเหลี่ยมผืนผ้า และกลม ที่ใช้ในงานประจำมีขนาดดังนี้ 22x22, 22x30, 22x40 และ 22x50 มิลลิเมตร โดยมีความหนา 0.13 - 0.16 (เบอร์ 1) ไม่ควรใช้ที่หนาเกินกว่า 0.16 - 0.19 มิลลิเมตร (เบอร์ 1.5)

การเมาทส์ไลด์ก็เช่นเดียวกับขั้นตอนอื่นของไมโครเทคนิค คือต้องอาศัยประสบการณ์ และความชำนาญจึงจะสามารถได้สไลด์ถาวรออกมาสวยงามตามต้องการ

### 10.3.1 การเมาทส์ไลด์ด้วยเมาทิงมีเดียที่เป็นเรซิน มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

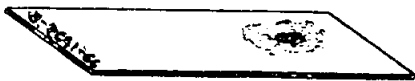
- (1) เช็ดไซลีนที่เป็ยกรอบแผ่นบางของเนื้อเยื่อออกให้หมดด้วยผ้าก๊อช หรือซับด้วยกระดาษกรอง ต้องทำด้วยความรวดเร็วเพื่อป้องกันมิให้ไซลีนที่เป็ยกอยู่แห้ง
- (2) หยดเมาทแผ่นที่ลงบนเนื้อเยื่อโดยใช้แท่งแก้วนำมาแตะเบา ๆ เหนือ หรือขอบของเนื้อเยื่อแล้วปล่อยให้ไหลแผ่ลงคลุมเนื้อเยื่อทั้งหมด ปริมาณเมาทแผ่นที่มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับประสบการณ์ (รูป 10-1 ข.)
- (3) แตะกระจกปิดที่สะอาดปราศจากไขมัน โดยให้ด้านหนึ่งสัมผัสกับขอบของเมาทแผ่นที่คลุมอยู่บนเนื้อเยื่อ พยายามอีกด้านของกระจกปิดที่อยู่เหนือเนื้อเยื่อด้วยเข็มผ่าตัด (dissecting needle) (รูป 10-1 ค.) แล้วค่อย ๆ ลดระดับของกระจกปิดลงมาจนทับลงบนเนื้อเยื่อ
- (4) ถ้ามีฟองอากาศหลงเหลืออยู่ใช้เข็มผ่าตัดกดเบา ๆ บนกระจกปิดเพื่อไล่ฟองอากาศให้เลื่อนไหลออกไปทางขอบสไลด์ ถ้าไม่ได้ผลต้องเริ่มต้นทำใหม่โดยนำสไลด์กลับไปแช่ในไซลีนก่อน แล้วเริ่มต้นที่ขั้นตอนที่ (1)

(5) เช็ดเมทาแทนท์ที่ล้นขอบกระจกปิดด้วยผ้าชุบไซลีน ควรเลือกใช้ผ้าที่ไม่มีเส้นใยหลุดร่วง

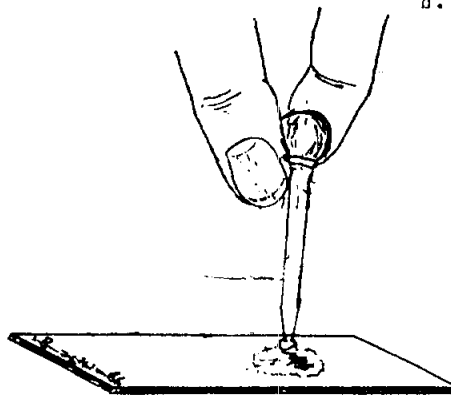
(6) เก็บใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสอย่างน้อย 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบว่าเมทาแทนท์แห้งไปจากขอบกระจกปิดหรือไม่ ถ้าแห้งเต็มเมทาแทนท์โดยตะแท่งแก้วที่มีเมทาแทนท์ติดอยู่เล็กน้อยที่ขอบกระจกปิดส่วนที่เริ่มแห้ง ปล่อยให้เมทาแทนท์ค่อย ๆ ไหลแทรกเข้าไป (ผู้ไม่ชำนาญอาจเกิดฟองอากาศขึ้นต้องทำใหม่) เก็บใส่ตู้อบไว้อีกอย่างน้อย 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกมาตีป้ายบอกชนิดของเนื้อเยื่อและชนิดของสีย้อมตามโค้ดที่บันทึกไว้

รูปที่ 10 - 1 ขั้นตอนการทำสไลด์ถาวร

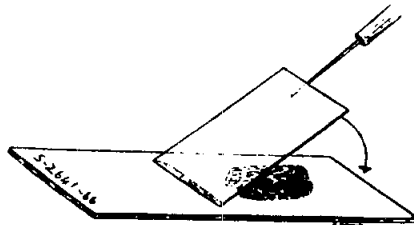
ก. ตำแหน่งของเนื้อเยื่อบนกระจกสไลด์



ข. หยดเมทาแทนท์ลงบนเนื้อเยื่อ



ค. ปิดกระจกปิดลงบนเนื้อเยื่อ



10.3.2 การเมทาส์ไลต์ด้วยเมาทิงมีเดียที่เป็นของเหลว มีขั้นตอนเช่นเดียวกับที่ใช้เรซิน ต่างกันที่ขั้นตอนที่ (1) นั้น สามารถนำเนื้อเยื่อที่เมาทิงบนกระจกสไลด์แล้วมาจากขั้นตอนของการแช่อยู่ในน้ำหรือแอลกอฮอล์ ไม่ต้องผ่านสารทำให้ใสคือไซลีน ในกรณีของการเมาทิงทั้งตัว ก็สามารถทำได้โดยคืบขึ้นมาวางบนสไลด์แล้วหยดด้วยเมทาแทนท์ เมื่อจบขั้นตอนที่ (6) แล้ว ทำการฉีกด้วยริงกิงมีเดีย

## กิจกรรม 10.2

นำยางค์ปากของแมลงสาบที่ต้มกับไซเดียมไฮดรอกไซด์ในกิจกรรมที่ 2.5 มาทำการดิงน้ำออก แล้วใส่ในสารทำให้ใสคือ ไซลีน คืบมาวางเรียงกันบนกระจกสไลด์โดยให้ยางค์ที่มีชั้นเดี่ยวอยู่กลาง และที่เป็นคู่ขนานข้าง ทอยมังก์'ส คาโรมีเดียที่เตรียมไว้จากกิจกรรม 10.1 ปิดทับด้วยกระจก ปิดตามวิธีในข้อ 10.3.1 และ 10.3.2

## สรุป

เมาทิงมีเดียเป็นสารที่จำเป็นต้องใช้ในขั้นตอนสุดท้ายของการทำสไลด์ถาวร มีให้เลือกทั้งที่เป็นเรซินและของเหลวตามความเหมาะสม เมาทิงมีเดียที่ดีควรมีค่าดัชนีหักเหของแสงเท่ากับหรือใกล้เคียงกับกระจกสไลด์ เมื่อใช้แล้วติดแน่นยึดกระจกปิดโดยไม่มีฟองอากาศเหลืออยู่ การทำสไลด์ถาวรจำเป็นต้องอาศัยประสบการณ์และความชำนาญเป็นอย่างมาก

## แบบฝึกหัดที่ 10

1. จงบอกข้อแตกต่างที่สำคัญของเมทาเทกซ์ที่เป็นเรซินและเป็นของเหลว รวมทั้งประโยชน์ใช้สอยด้วย  
(ตอบ : ดูข้อ 10.1 และ 10.2)
2. เมทาเทกซ์เตียที่ตีควรมี ..... ใกล้เคียงกับแก้วคือประมาณ ..... คุณสมบัติอื่นเช่น.....  
ขึ้นอยู่กับชนิดของเมทาเทกซ์เตีย ซึ่งสามารถเลือกใช้ได้ตามวัตถุประสงค์  
(ตอบ : ดูข้อ 10.1)
3. เมทาเทกซ์เตียที่เป็นของเหลวเช่น ..... เหมาะสำหรับการเมทาส์ไลต์ที่ย้อมสีแบบ  
.....  
(ตอบ : ดูข้อ 10.2 (2) และ 10.2 (5) แล้วเลือกตอบข้อใดข้อหนึ่ง)
4. การเติมฟีนอลหรือโทมอลลงไปในเมทาเทกซ์เตียที่เป็นของเหลวมีวัตถุประสงค์เพื่อ
  1. ให้ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซออร์
  2. ฆ่าแบคทีเรีย
  3. ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
  4. ออกซิไดซิงเอเจนท์
5. เมทาเทกซ์ที่ใช้ได้ดีสำหรับงานประจำทั่วไปได้แก่เมทาเทกซ์ชนิดใด
  1. แคนตาบิลซัม
  2. เพอร์เมท
  3. นิวยูนิเมท
  4. ถูกทุกข้อ
6. การเมทาส์ไลต์เพื่อการทำสไลด์ถาวรที่มีคุณภาพดีนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยใด
  1. เลือกเมทาทกซ์ที่ผสมกับเนื้อเยื่อ
  2. ทราบขั้นตอนการทำงานเป็นอย่างดี
  3. มีความชำนาญและประสบการณ์สูง
  4. ทุกข้อรวมกัน
 (ตอบ : ข้อ 4 ตอบ 3, ข้อ 5 ตอบ 4, ข้อ 6 ตอบ 4)