

நுண்ணோக்கியியல் (Microscopy)

நுண்ணோக்கியியலின் வரலாறு (History of microscopy)

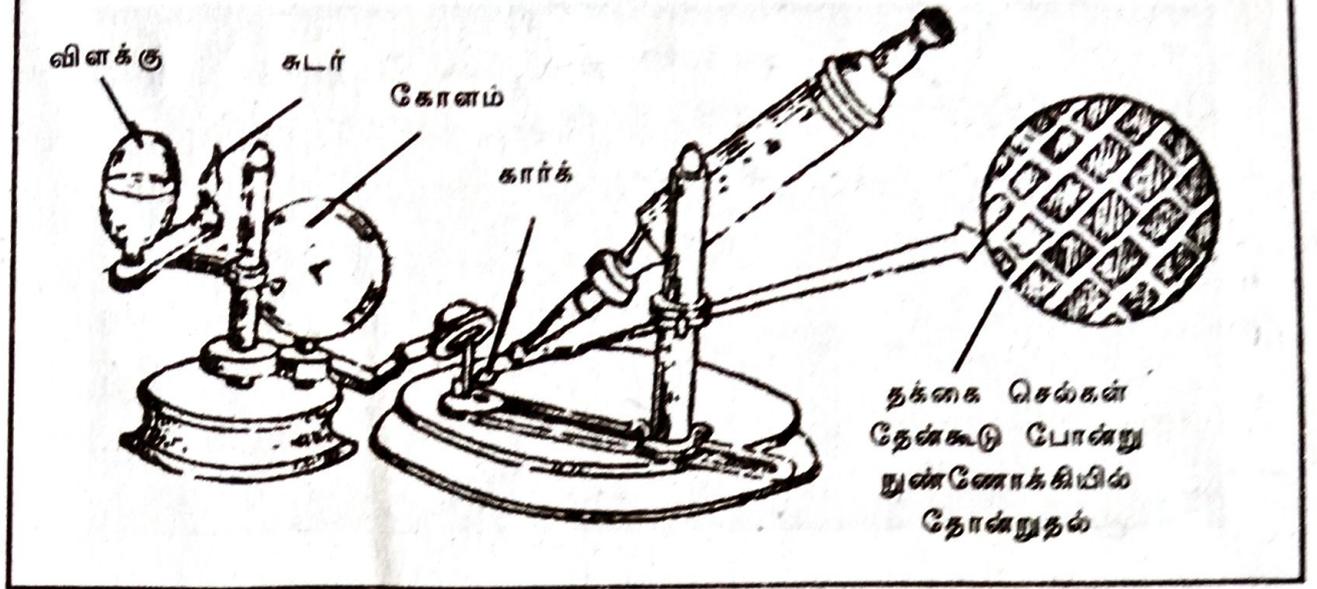
பொதுவாக, 1mmக்கு குறைவான குறுக்களவு கொண்ட பொருட்களை (objects) வெறுங்கண்ணால் நாம் கூர்ந்து காண முடிவதில்லை. அதாவது, தெளிவாக்கும் ஆற்றல் (resolving power) 1மி.மீக்கு மிகையாக இருந்தால் மட்டுமே சாத்தியம். அறிவியலின் ஆரம்ப கால கட்டத்தில் கை லென்சு (hand lense) பயன்படுத்தப்பட்டது. இதன் மிகைப்படுத்தும் திறன் 2 - 10X ஆக இருந்தது.

டச்சு நாட்டு மூக்குக்கண்ணாடி தயாரிப்பாளரான (spectacle) குகேரியா ஜேன்ஸன் இரண்டாம்வகை லென்சினைக் கண்டுபிடித்தார். இதன் மிகைப்படுத்தும் திறன் 50 to 100X ஆகும். இதுவே நவீன நுண்ணோக்கிற்கான அடித்தளமாக அமைந்தது. கலிலியோ 1610ல் மேம்பட்ட நுண்ணோக்கியை (improved microscope) கண்டுபிடித்தார். இவருக்குப்பின் வந்த ராபர்ட் ஹூக் 1660ல் நுண்ணோக்கியைக் கண்டுபிடித்து அதன் நுட்பத்தை பற்றிய விபரங்களை நுண்மவரைகலை (micrographia) என்ற நூலில் வெளியிட்டார். இவரது நுண்ணோக்கியின் உருப்பெருக்கும் திறன் 200X ஆகும். இருந்தபோதிலும், இந்நுண்ணோக்கியில் பாக்கிரியங்களின் விபரக்குறிப்புகளை அறிய முடிவதில்லை. இதே காலத்தில் வாழ்ந்த ஆண்டனி வேன்லியுபென்ஹெக் (1632-1723) எனும் வல்லுநர் தன்னிச்சையாக வாழ்ந்து வரும் ஒருசெல் உயிரினங்களை (unicellular organisms) இந்நோக்கி மூலம் கண்டறிந்து வெளிப்படுத்தினார். இத்தகு உயிரினங்களை இவர் குறுவிலங்குகள் (animalcules) என அழைத்தார். இத்தகு உயிரினங்கள் புரோட்டோசோவா மற்றும் பாக்கிரியங்கள் ஆகியவற்றைக் குறித்தன. இச்சாதனை மூலம் இவர் நுண்ணுயிரியலின் தந்தை (father of microbiology) என இன்றும் போற்றப்பெறுகிறார். உத்தியோக ரீதியில் லியுவென்ஹெக் வியாபாரி (linen merchant) ஆவார். இவர் சிறிய, எளிய மற்றும் ஆற்றல்மிகு லென்சுகளை செய்து வந்தார்.

இவையெல்லாம் மிகைப்படுத்தும் வில்லைகளாகவே (magnifying lenses) இருந்தன. இதில் இருபக்கமும் குவிந்த (biconvex) கோளவடிவ வெண்கு சிறியதாக, ஒற்றையாக பொருத்தப்பட்டிருந்தது. ஆனால், இதன் உருப்பெருக்கும் திறம் 300X ஆகும். பொருளின் உருவளவை ஆராய்ந்து ஒப்பிடுவதற்கு இது ஏற்றதாக இருந்தது. மேலும், இவரது ஆய்வுக்கு மணந்துகள், தானியக் குறுமணிகள், கடுகு விதைகள், இரத்த சிவப்பணுக்கள், வெள்ளையணுக்கள் பயன்படுத்தினார். சுமார் 419 வகைகளில் வெண்குகளை தயாரித்தார். இவற்றில் பெரும்பான்மையான வெண்குகள் பித்தளையில் (brass) பொருத்தப்பட்டிருந்தன. பல வெண்குகள் தங்கத்திலும் (gold) பொருத்தப்பட்டிருந்தன. சி.ஹைஜென்ஸ் என்பவர் இரு கண்ணரு வெண்குகளை கண்டுபிடித்தார். அப்பர் (1840-1905) என்பவர் அப்போகுரோமேட்டிக் பொருளருகு வெள்ளசையும், அடிமேடை குவிவில்லையையும் (Sub stage condenser) கண்டுபிடித்தார். அப்போகுரோமேட்டிக் வகையானது வண்ணம் மற்றும் கோளவுருவ நிலைமாறாட்டங்கள் இல்லாமல் இருந்தது. ஆய்வகத்திற்கு உரிய முழுமைபெற்ற நுண்ணோக்கி 1820ம் ஆண்டு அறிமுகப்படுத்தப்பட்டது. இந்த நுண்ணோக்கியில் உருப்பெருக்கத்திற்கென இருவித வெண்குகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. இவ்வுருப்பெருக்கம் மட்டுமின்றி அருகருகே அமைந்த தனித்த இரு இலக்குகளை சரிசெய்வதன் மூலம் தெளிவாக்கம் முழுமைபெறுகிறது.

உலகில் வாழும் உயிரினங்கள் இரு முறைமைகளாகப் பிரிக்கப்பட்டுள்ளன. 1. நுண்மமுறைமை (microsystem) 2. பெரும முறைமை (macrosystem) தாவரம் மற்றும் விலங்கின வகைகள் பெரும முறைமையில் அடங்குகின்றன. பூஞ்சை, பாக்டீரியங்கள், ஆக்டினோமைசிட்டுகள் முதலியவை நுண்ம முறைமையின்கீழ் வருகின்றன. இந்நுண்ம உயிரினங்களை வெறுங்கண்ணால் காண முடிவதில்லை. எனவே, இவற்றைக் காண பார்வைக்குறிய கருவி (optical instrument) தேவைப்படுகிறது. எனவே, நுண்ணோக்கி பார்வைக்குரிய சாதனமாக உதவிவருகிறது. இச்சாதனத்தில் வரிசைக்கிரமமாக வெண்குகள் (lenses) பொருத்தப்பட்டிருப்பதால் உயிரினப்பொருளின் பிம்பம் (image) உருபெருக்கமுற்று (magnified) காணப்படுகிறது. 1900ல் நுண்ணோக்கியின் வளர்ச்சி இல்லை எனலாம். 1810ல் கலிலியோ கண்டுபிடித்த நுண்ணோக்கியினை ராபர்ட் ஹீக் சிறு மாற்றத்திற்கு உட்படுத்தி பயன்படுத்திக்காட்டினார். 1840ல் நீர் மூழ்கும் வெண்கு (water immersion lense) கண்டறியப்பட்டது.

ராபர்ட்ஹூக் கண்டுபிடித்த எளிய நுண்ணோக்கி



நுண்ணோக்கி என்பது கண்பார்வைக்குரிய கருவி (optical instrument). இதன் மூலம் மிகவும் நுண்ணிய பொருள்களையும் (minute objects) பெருதிபடுத்திக் காணமுடியும். பொதுவாக, உயிரியல் வல்லுநர்களுக்கு இது ஒரு இன்றியமையா சாதனம் எனலாம். பொதுவாக, நுண்ணோக்கி மூன்று வகைப்படும்.

1. கூறாக்க நுண்ணோக்கி (Dissection Microscope)
2. கூட்டு நுண்ணோக்கி (Compound Microscope)
3. மின்னணு நுண்ணோக்கி (Electron Microscope)

1. கூறாக்க நுண்ணோக்கி

இது ஒரு எளிய நுண்ணோக்கி. தாவரப் பாகங்களை துண்டு துண்டுகளாக நறுக்கி அல்லது கூறாக்கி அதன் உள்ளமைப்பை ஆராய (lense) உதவுகிறது. இக்கருவியில் ஒரு ஆடியும் (mirror) ஒரு கண்ணருகு லென்சும் மட்டும் பொருத்தப்பட்டுள்ளன. செல்களின் கட்டமைப்புகளை இதில் காணமுடியாது.

2. கூட்டு நுண்ணோக்கி

இதில் இரு லென்சுகள் பொருத்தப்பட்டிருப்பது குறிப்பிடத்தக்கது. 1. பொருளருகு லென்சு 2. கண்ணருகு லென்சு, பொதுவாக, இந்நுண்ணோக்கியில் இருவித பாகங்கள் உள்ளன.

I. இயந்திரவிய பாகங்கள் (Mechanical Parts)

II. கண்பார்வைப் பாகங்கள் (Optical Parts)

I. இயந்திரவியவியல் பாகங்களாவன.

1. அடித்தளம் (the base)
2. கரம் (arm)
3. மேடை (stage)
4. மேடை ஒளிக்கதிர் துளை (stage aperture)
5. மேடை கவ்விகள் (stage clips)
6. விழித்திரை படலம் (iris diaphragm)

II. கண்பார்வைப் பாகங்கள்

1. ஆடி (mirror) 2. குவிமுகவில்லை (condenser) 3. பொருளருகு லென்சு (objective lense) 4. கண்ணருகு லென்சு (கண்வில்லை -eye piece)). இவ்விரு வகை லென்சுகளும் உடலக் குழலில் (body tube) பொருத்தப்பட்டுள்ளன. இவை இரண்டும் குவிலென்சுகள் (convex lenses) ஆகும். மாதிரிக்கூறு இருக்கும் இலக்கின் அருகாமையில் பொருளருகு லென்சு அமைந்துள்ளது. இந்த லென்சு மாதிரிக்கூறின் (specimen) அமைப்பைப் பண்மடங்கு பெரிதாக்கிக் காட்டுகிறது. இரண்டாவதாக பொருத்திய கண்ணருகு லென்சு கண்ணிற்கு அருகே அமைந்துள்ளது. பொருளருகு லென்சால் பெருக்கிய பிம்பத்தை (image) மீண்டும் உருபெருக்கி இந்த கண்ணருகு லென்சு காட்டுகிறது. சாதனத்தில் பொருத்தப்பட்ட சரியூக்கிகளை (adjustments) மேலும் கீழும் இயக்குவதன் மூலம் மாதிரிக்கூறின் நேர்த்தயான பிம்பம் கண்ணால் காணமுடிகிறது.

இப்பிம்பம் தோன்றும் விதிமுறை (principle) கீழ்க்கண்டபடத்தில் விளக்கப்பட்டுள்ளது.

கூட்டு நுண்ணோக்கியின் பாகங்களும் பயன்களும்.

1. பொருளருகு லென்சு

இது அப்போகுரோமேட்டிக் லென்சு ஆகும். மாதிரிக்கூறின் பிம்பத்தை பெருக்கிக்காட்ட ஏதுவாகிறது. இதுவே முதல் நிலையில் தோன்றும் பிம்பம். இந்த லென்சுவால் தோன்றும் உண்மையான பிம்பம் (real image) கண்பார்வைக்கு உரிய பிம்பமாக அமைகிறது. கண்ணருகு லென்சு சிறந்த உருப்பெருக்கியாகச் (magnificer) செயல்படுகிறது. இதிலிருந்து மெய்மையான பிம்பம் (virtual image) காணமுடிகிறது. கண்ணருகு லென்சு மூன்று வகைகளில் உள்ளது.

1. ஹக்கினியன் கண்ணருகு லென்சு (Huggenian eyepiece)

இதில் எளிய இரு தட்டையாக குவிந்த இரு லென்சுகள் (plano convex) பொருத்தப்பட்டுள்ளன. இவற்றில் ஒன்று பிம்ப மட்டத்திற்கு கீழாக உள்ளது. இரு அடுக்குகளின் குவிந்த புறப்பரப்பு கீழ்நோக்கி அமைக்கப்பட்டுள்ளது. குறைவாற்றல் கொண்ட நிறங்காட்டா ஒளிகளுடன் (achromats) இது எளிதாக செயல்படக்கூடியது. 2. அடிஅமைந்த கண்ணருகு லென்சு (hyper place eye piece) மிகை ஆற்றல் நிறங்காட்டா ப்ளூரைட்டில் (flurite) நன்கு செயல்படுகிறது. மேலும் பிம்பத்தில் நிறங்காட்டும் ஒளிக்கதிர்களை தடைபடுத்துவதில்லை. 3. சரியீட்டு கண்ணருகு லென்சு (compensating eye piece) நிறங்காட்டும் லென்சுகளின் மும்மடி இணைப்பால் (triplet combination) இது உருவாக்கப்பட்டுள்ளது. இவ்வகை லென்சு மேலே கண்ட இரு லென்சுகளைவிட மேன்மையானது.

2. குவிமுகவில்லை (Condenser)

மாதிரி பொருளினை ஆய்வு செய்வதற்கு பல நுட்பம் பின்பற்றிய போதிலும் இரு முறைகள் புலக்கத்தில் உள்ளன. 1. ஊடுருவும் ஒளியால் வெளிச்சமுட்டம் (illumination by transmitted light). 2. இருட்புல வெளிச்சமுட்டம் (dark field illumination). ஊடுருவும் ஒளியால் நுண்ணோக்கியின் மேடை மீதுள்ள மாதிரிப்பொருளிற் கு வெளிச்சமுட்டுவதற்காக வரிசைகிரமமான லென்சுகளே குவிமுகவில்லை (condenser). இது ஒரு வகை உருளாடி லென்சு (aplanatic lens) ஆகும். ஆடியிலிருந்து (mirror) பிரதிபலிக்கும் ஒளிக்கதிரை சேகரித்து மாதிரிக் கூறின்மீது இது குவிக்கிறது.

உருப்பெருக்கும் திறன் (Magnifying Powers)

பொருளருகு லென்சும் கண்ணருகு லென்சும் சிறிதளவு குவிய தூரங்களைக் கொண்டிருந்தால் பெருமளவு உருபெருக்கம் பெறமுடியும் அல்லது இவற்றின் குவி ஆற்றல் மிகையாக இருக்கவேண்டும்.

படத்தின்படி 'F' என்பது பொருளருகு லென்சின் 'O' குவிய தூரம் ஆகும். 'F' என்பது கண்ணருகு லென்சின் (E) குவியதூரம் ஆகும். 'V' என்பது 'O' விற்கும் A'B' உண்மையான பிம்பத்திற்கும் (real image) இடைப்பட்ட தூரம் ஆகும். எனவே MO வின் நீட்டல் உருப்பெருக்கம் (linear magnification) $=V/F$. A1B1 என்ற

உண்மையான பிம்பத்தை கண்ணருகு லென்சு A2B2 என்ற மெய்மை பிம்பமாக உருப்பெருக்குகிறது. கண்ணருகு லென்சின் உருப்பெருக்கம் m_e என குறிக்கப்படுகிறது. இதன்படி

$$M_e = 1 + D_i/f$$

இங்கு D_i என்பது தெளிவான பார்வைக்குரிய (distinct vision) குறைந்தபட்ச தூரம்/தொலைவு (least distance) ஆகும். எனவே, ஒட்டுமொத்த உருப்பெருக்கம்,

$$M = M_o \times M_e$$

$$= V/F \times (1 + D_i/f)$$

பொருளருகு லென்சின் உருப்பெருக்கம்

$$\text{பொருளருகு லென்சின் உருப்பெருக்கம்} = \frac{\text{கண்ணருகுக் குழலின் நீளம் (mm)}}{\text{பொருளருகு லென்சின் குவியத்தூரம் (mm)}}$$

சிபாரிசு செய்யப்பட்ட கண்ணருகுக் குழலின் நீளம், பொருளருகு லென்சின் மீது குறிக்கப்பட்டுள்ளது.

$$\text{நுண்யோக்கியின் மொத்த உருப்பெருக்கம்} = \frac{\text{பொருளருகு லென்சின் உருப்பெருக்கம்}}{\text{கண்ணருகு லென்சின் உருப்பெருக்கம்}} \times \text{கண்ணருகு லென்சின் உருப்பெருக்கம்}$$

பொருளருகு லென்சின் வெகுவாற்றல் (HP) (High power objective)

உருப்பெருக்கும் ஆற்றல் 40X

எண்சார்ந்த ஒளிக்கதிர் துளைவு (திறவு) (Numerical aperture) 0.70

எண்ணெய்யில் மூழ்கும் பொருளருகு லென்சு (oil immersion objective) (0.1)

மிகைப்படுத்தும் ஆற்றல் 100X (Numerical aperture) 1.60

16mm கொண்ட கண்ணருகுக் குழலின் நீளத்திற்கென அனைத்து வகை பொருளருகு லென்சுகளும் தயாரிக்கப்பட்டுள்ளன. இப்பொருளருகு லென்சுகளில் பயன்படுத்துவதற்காக கண்ணாடில்லையின் (cover glass) தடிமம் (thickness) 0.17mm என சிபாரிசு செய்யப்பட்டுள்ளது.

அடிமேடை குவிமுகவில்லை (Sub Stage Condenser)

மாதிரிப் பொருளின் மீது ஒளிக்கற்றையை (beam of light) குவிப்பதற்கு உரிய அங்கமாக இது உதவுகிறது. இதன் மூலம் ஒளிக்கூம்பு

(cone of light) ஏற்படுகிறது. இந்த ஒளிக்கூம்பு மாதிரிப்பொருளிலிருந்து பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சில் (front lens) நுழைகிறது (enters).

கீழ்மேடை குவிமுகவில்லையின் பணி யாதெனில் முறையான ஒளிக்கூம்பை தோற்றுவிப்பதாகும். இந்த ஒளிக்கூம்பு பொருளருகு லென்சின் முன் லென்சினை நிரப்பக்கூடியது. எனவே, இவ்வொளிக்கூம்பு நகரத்தக்கது.

படம் 1ன்படி கண்ணாடித் துண்டத்தில் உள்ள பொருளின்மீது ஒளிக்கற்றையினை குவிமுகவில்லை குவிக்கிறது. ஆனால், பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சில் (front lens) முழுமையாக ஒளி நிரப்பப்படவில்லை (not filled). அதாவது, முறைப்படியான ஒளிக்கூம்பு பொருளருகு லென்சில் நிரப்பப்படவில்லை. எனவே, கோண ஒளிக்கதிர் துளைவு மிகச்சிறையதாகவும் தெளிவாக்கம் (resolution) ஊறுபட்டுவிடுகிறது (impaired).

படம் 2ன் படி குவிமுகவில்லை குவிக்கும் ஒளிக்கற்றை மாதிரிப் பொருள் உள்ள கண்ணாடித் துண்டத்தின் அடியே குவிகிறது. எனவே, பொருளருகு லென்சில் உள்ள முன் லென்சுக்கு வெளியே பல ஒளிக்கதிர்கள் சிதறிப்போய்விடுகின்றன (scattered). மேலும் உள்ளான பிரதிபலிப்பும் லென்சில் ஏற்படுகிறது. எனவே கண்ணருகு குழலி கூசொளி (glare) ஏற்படுவதால் தெளிவாக்கம் ஊறுபடுகிறது.

படம் 3ல் குவிமுகவில்லை மூலம் ஒளிக்கூம்பு மாதிரிப்பொருளில் குவிகிறது. பொருளருகு லென்சின் முழுமையும் ஒளியால் நிரப்பப்படுகிறது. எனவே தெளிவாக்கும் திறன் போதுமானதாக உள்ளது.

விழித்திரை படலம் அடிமேடை குவிமுகவில்லையுடன் பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இது முழுமையான ஒளிக்கூம்பு படலத்தின் மூலமே சாத்தியமாகிறது.

A,B,C ஆகிய வரைபடங்களில் Aயில் உள்ள விழித்திரை படலம் (iris diaphragm) முற்றிலும் திறந்துள்ளது. Bயில் இப்படலம் முற்றிலும் அடைக்கப்பட்டுள்ளது. Cயில் 1/3 பங்கு அளவில் மட்டுப் திறந்துள்ளது. அனைத்து ஒளிக்கூம்புகளிலும் குவிமுகவில்லை (condenser) சரியாக குவித்துள்ளது. இருப்பினும் எண்ணியலான/ஒளிக்கதிர் திறவு (numerical aperture) பதிலாக, விழித்திரைப்படலமே கோண

ஒளிக்கதிர் திறவை தீர்மானிக்கிறது. ஆகவே, முறைப்படியான ஒளிக்கூம்பு (light cone) பெறுவதற்கு விழித்திரை மூடியோ அல்லது திறந்தோ இருக்கவேண்டும்.

Na 0.26 கொண்ட ஒரு பொருளருகு லென்சு லென்சின் கோண ஒளிக்கதிர் திறவு 30° என இருக்கவேண்டும். சித்தாந்தமாக (virtually) விழித்திரையை அடைப்பதால் இது சாத்தியமாகிறது. இதுபோலவே, Na 0.70 கொண்ட பொருளருகு லென்சின் கோண ஒளிக்கதிர் திறவு 80° என இருக்கவேண்டும். இதற்காக, விழித்திரையை திறப்பதால் மட்டுமே சாத்தியமாகிறது.

இவ்விதமாக, விழித்திரைப் படலத்தின் பணி, ஒவ்வொரு பொருளருகு லென்சின் எண்ணியல் ஒளிக்கதிர் திறவினை கட்டுப்படுத்துகிறது. ஒளித் தீவிரத்தை (intensity) கட்டுப்படுத்துவதற்கு இது பயன்படுவதில்லை. ஒளிவெளிச்சம் (illumination) என்பது ஒளி அடர்வினை கட்டுப்படுத்துவதால் ஒழுங்குபடுத்தப்படுகிறது.

கோண ஒளிக்கதிர் திறவு (Angular aperture)

பொருளருகு லென்சிலுள்ள முன்லென்சுக்கு (front lens) நுழையும் ஒளிக்கூம்பின் கோண ஒளிக்கதிர் (மதிப்பு, கோண ஒளிக்கதிர் திறவு என அழைக்கப்படுகிறது.

α

பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சை முழுமையாக நிரப்பும் ஒளிக்கூம்பு மூலமே α போதுமான மதிப்பினைப் பெறமுடியும். குவிமுகவில்லையின் கடமை யாதெனில் சீர்மிகு கோணத்தைத் தோற்றுவிப்பதாகும். எண்ணியல் ஒளித்திரை திறவினை கணக்கிடுவதற்கு ஒளிக்கூம்பின் $1/2$ கோண ஒளித்திரை திறவினை (α) கணக்கில் எடுத்துக்கொள்ளவேண்டும்.

நுண்ணோக்கியின் தெளிவாக்கும் ஆற்றல் (Resolving power of the microscope)

தெளிவாக்கும் ஆற்றல் என்பது நுண்ணோக்கியின் திறனைக் குறிக்கிறது. அதாவது, மிகவும் குறுகிய தொலைவால் இரு இலக்குகள் (two points) தெளிவாக்கத்திற்கு தனிமைப்படுத்தப்படுவதால் முடிந்தளவு தெளிவாகவும் வேறுபாட்டுடனும் செய்விக்க முடியும்.

கணக்கியல் ரீதியில் தெளிவிக்கும் ஆற்றலை (R) கீழ்க்கண்டவாறு குறிக்கலாம்.

$$R = N.A / \lambda$$

இங்கு NA என்பது பொருளருகு லென்சின் எண்ணியல் ஒளித்திரை திறவு + குவிமுகவில்லையின் ஒளித்திரைத் திறவு.

λ என்பது பயன்படுத்தப்பட்ட ஒளி அலை நீளத்தைக் குறிக்கிறது.

தெளிவிக்கும் ஆற்றலின் முக்கியத்துவம்

தெளிவிக்கும் ஆற்றலின் முக்கியத்துவம் கீழ்க்கண்ட விவரிப்பு மூலம் விளக்க முடியும்.

சிறிய உருவளவில் உள்ள கம்பி வலை (grid) (வலைச்சட்டம்)

தெளிவிப்பு இல்லாத உருபெருக்கம்

தெளிவாக உருபெருக்கமும் தெளிவிப்பும்

தெளிவிப்பு இல்லாத உருப்பெருக்கம் உபயோகமற்றது. மாதிரிப்பொருளின் சற்று தெளிவிப்பு தெளிவான விளக்கங்களை வெளிப்படுத்தாது. தெளிவாக்கமும் உருப்பெருக்கமும் ஒன்றாக அமைய வேண்டும். இவ்வழியே தெளிவிப்பு பூர்த்தி அடையும்.

தெளிவிப்பை நிச்சயிக்கும் காரணிகள் (Factors that determine Resolution)

1. பொருளருகு லென்சின் எண்ணியல் ஒளித்திரை திறவு
2. பயன்படுத்தப்பட்ட ஒளியின் அலை நீளம், இவை இரண்டும் தெளிவிப்பை தீர்மானிக்கும் காரணிகள்
3. பொருளின் எண்ணியில் ஒளிக்கதிர் திறவு = $n \sin \sigma$

இங்கு n என்பது பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சிற் கும் கண்ணாடித் துண்டத்திற்கும் இடைப்பட்ட ஊடகத்தின் ஒளிக்கதிர் விலகலின் குறியீட்டு எண் (refractive index)

σ என்பது பொருளருகு லென்சின் (objective) முன்லென்சுக்கும் (front lens) கண்ணாடித் துண்டத்திற்கும் இடையே தோன்றிய ஒளிக்கூம்பின் $1/2$ கோண ஒளித்திரை திறவைக் குறிக்கிறது.

மேற்கண்ட படத்தின்படி பொருளிற்கும் (object) பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சிற்கு இடையே உள்ள ஊடகம் காற்று (air). இதன் ஒளிக்கதிர் விலகல் குறியீட்டு எண் 1. ஆகும். எண்ணெயில் மூழ்கும் பொருளருகு லென்சு பயன்படுத்தினால் ஒளிக்கதிர் விலகல் குறியீட்டு எண் 1.6 என இருக்கிறது.

எனவே $R = 2n \sin \sigma / \lambda$ அல்லது NA / λ

மேற்கண்ட சூத்திரத்தின்படி Rன் மதிப்பும் தெளிவிக்கும் ஆற்றல் கூடுவதாலும் கீழ்க்கண்டவைகள் அதிகரிக்கும் என அனுமானிக்கமுடியும்.

I. ஒளிக்கூம்பின் σ (ie) $1/2$ கோண ஒளிக்கதிர் திறவினை அதிகரிப்பதால் அடிமேடை குவிமுகவில்லையை நகர்த்தி σ வினை அதிகரிக்கச் செய்ய முடியும். குவிமுகவில்லையின் பணியே சீர்மிகு σ தோற்றுவிப்பதாகும். பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சு ஒளிக்கூம்பால் நிரம்பும் பொழுது இந்த σ வினை பெறமுடியும்.

II. σ வின் சைன் மதிப்பு (sin value) ஒன்றிற்கு மிகுவதில்லை. எனவே, ஊடகத்தின் ஒளிக்கதிர் விலகல் குறியீட்டு எண்ணை (n) அதிகரிக்க வேண்டியுள்ளது. இதற்காக, எண்ணெய் பயன்படுத்தலாம்.

III. λ வினையும் அதிகரிக்கலாம். இதற்காக, குறுகிய அலை நீளத்தின் ஒளிக்கதிர்களை தருவதன் மூலம் இதனை மெய்பித்துக்காட்ட முடியும். இதற்காக, நீல வடிகட்டியைப் (blue filter) பயன்படுத்தலாம். இவ்வடிகட்டி 400 nm நீல ஒளிக்கதிர்களை தோற்றுவிக்கக்கூடியது.

IV. குவிமுகவில்லையில் பொருத்திய விழித்திரைப் படலம் ஒளிக்கூம்பினை கட்டுப்படுத்தி எண்ணியல் ஒளிக்கதிர் திறவினை ஒழுங்குபடுத்துகிறது.

பணித்தொலைவு (Working distance)

பொருளருகு லென்சின் முன்லென்சுக்கும் அடைப்புவில்லைக்கும் (cover slip) (cover glass) இடையே உள்ள தொலைவு பணித் தொலைவு எனப்படுகிறது. உருப்பெருக்கம் கூடும்பொழுது பணித்தொலைவு குறைந்துபோகிறது. இதனை கீழ்க்கண்ட படத்தின் மூலம் விளக்கலாம்.

தெளிவிப்பின் வரம்பு (The limit of Resolution)

இரு இலக்குகளுக்கு இடையே உள்ள குறைந்தபட்ச தூரத்தை இது குறிக்கிறது. இத்தூரம் மூலம் தனித்த இரு இலக்குகள் (points) வேறுபடுத்த ஏதுவாகிறது.

தெளிவிப்பின் வரம்பு $\lambda / N.A$

தெளிவிப்பின் வரம்பு என்பது தெளிவாக்கும் ஆற்றலுடன் தொடர்புடையது. அதாவது, தெளிவிக்கும் ஆற்றல் (திறன்) உயர்ந்தால் தெளிவிப்பின் வரம்பு குறைந்துபோகிறது.

ஒளி நுண்ணோக்கியின் தெளிவிப்பு வரம்பு

எடுத்துக்காட்டாக எண்ணெயில் மூழ்கும் பொருளருகு வெண்க (oil immersion objective) பயன்படுத்தினால்.

$$\lambda / N.A = 0.55 / 1.6 + 0.9$$

1.6 பொருளின் கோண ஒளிக்கதிர் திறவு

0.9 குவிமுகவில்லையின் கோண ஒளிக்கதிர் திறவு

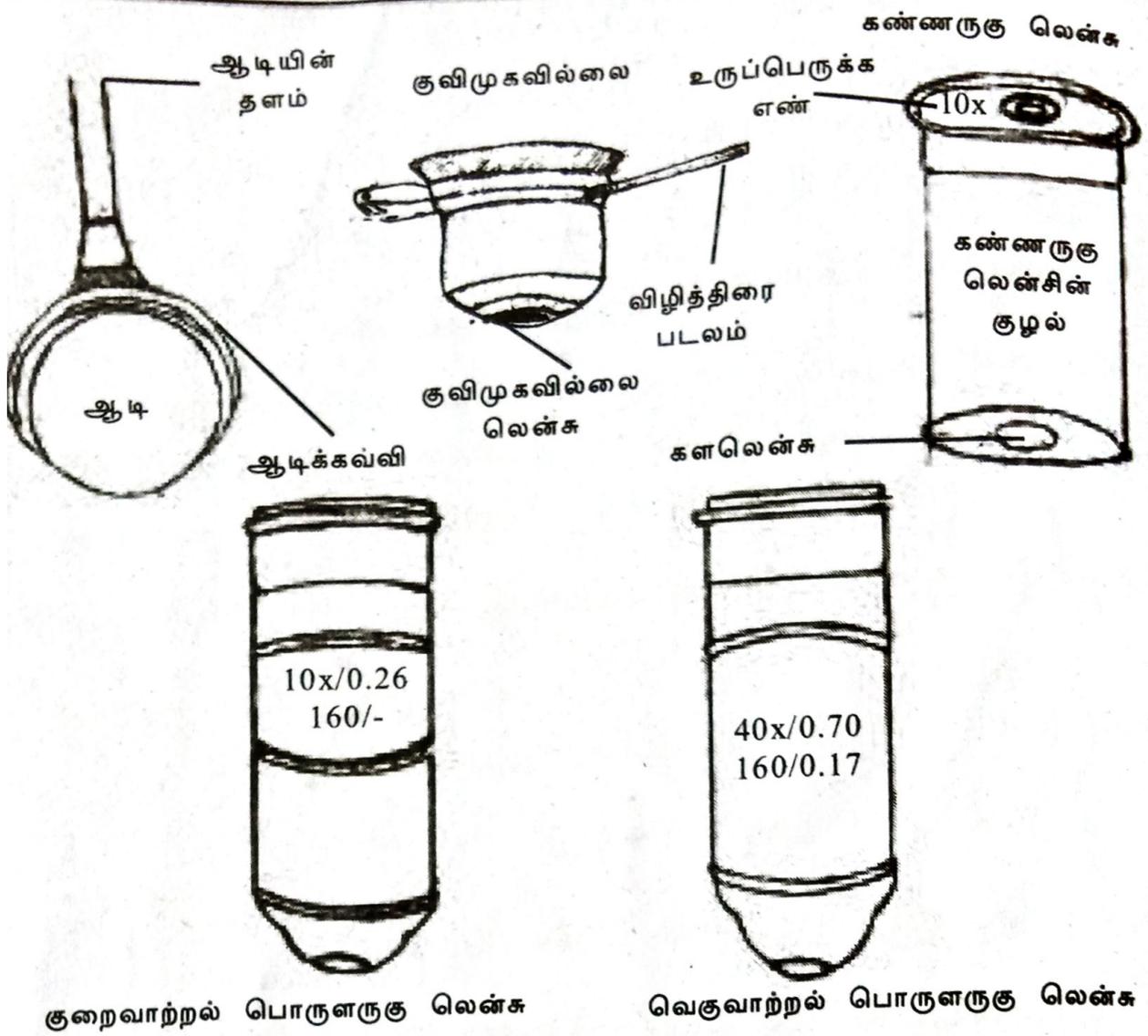
இங்கு 0.55 என்பது வெண் ஒளிக்கதிரின் சராசரி அலை நீளத்தைக் குறிக்கிறது.

1.6 என்பது எண்ணெயில் மூழ்கும் பொருள் (object)

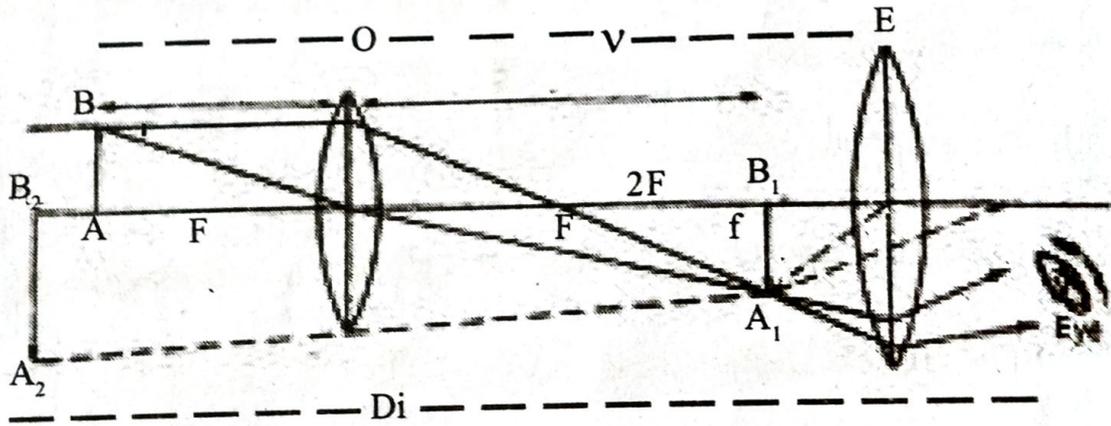
0.9 குவிமுகவில்லையின் எண்ணெயில் ஒளிக்கதிர் திறவு.

$$\text{எனவே, தெளிவிப்பின் வரம்பீடு} = 0.55 / 1.6 + 0.9 = 0.55 / 2.5 = 0.22$$

எனவே, ஒளி நுண்ணோக்கியின் தெளிவிப்பு வரம்பு $0.2 \mu\text{m}$ மட்டுமே. எனவே இவ்வரம்பு 200nm அதாவது 2000 \AA க்கு மிகையாக பொருட்களை தெளிவாக்க முடியாது.



கூட்டு நுண்ணோக்கியில் பிம்பம் தோன்றும் விதம்



F என்பது பொருளருகு வென்சின் குவிய தூரம்

A,B பொருள்/மாதிரிக்கூறு (object)

V என்பது உண்மையான பிம்பத்திற்கும் (real image)

பொருளிற்கும் இடைப்பட்ட தூரம்

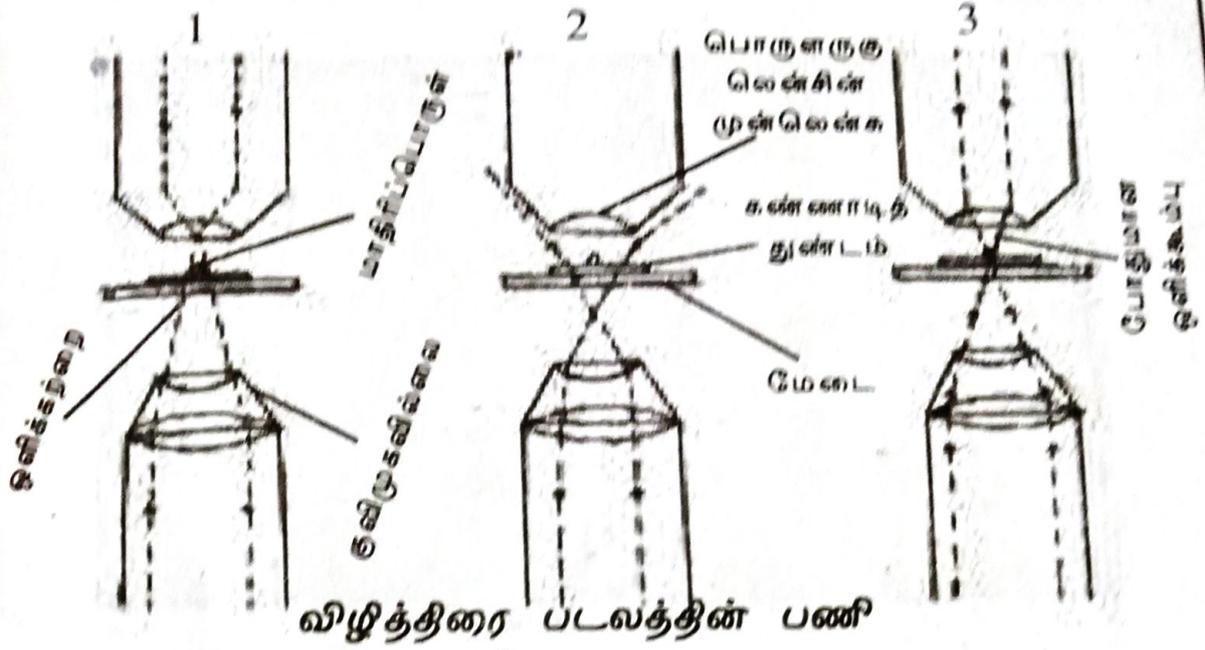
A₁ B₁ உண்மையான பிம்பம்

A₂ B₂ தலைகீழ் பிம்பம் முதல்நிலை அச்சு (principal axis)

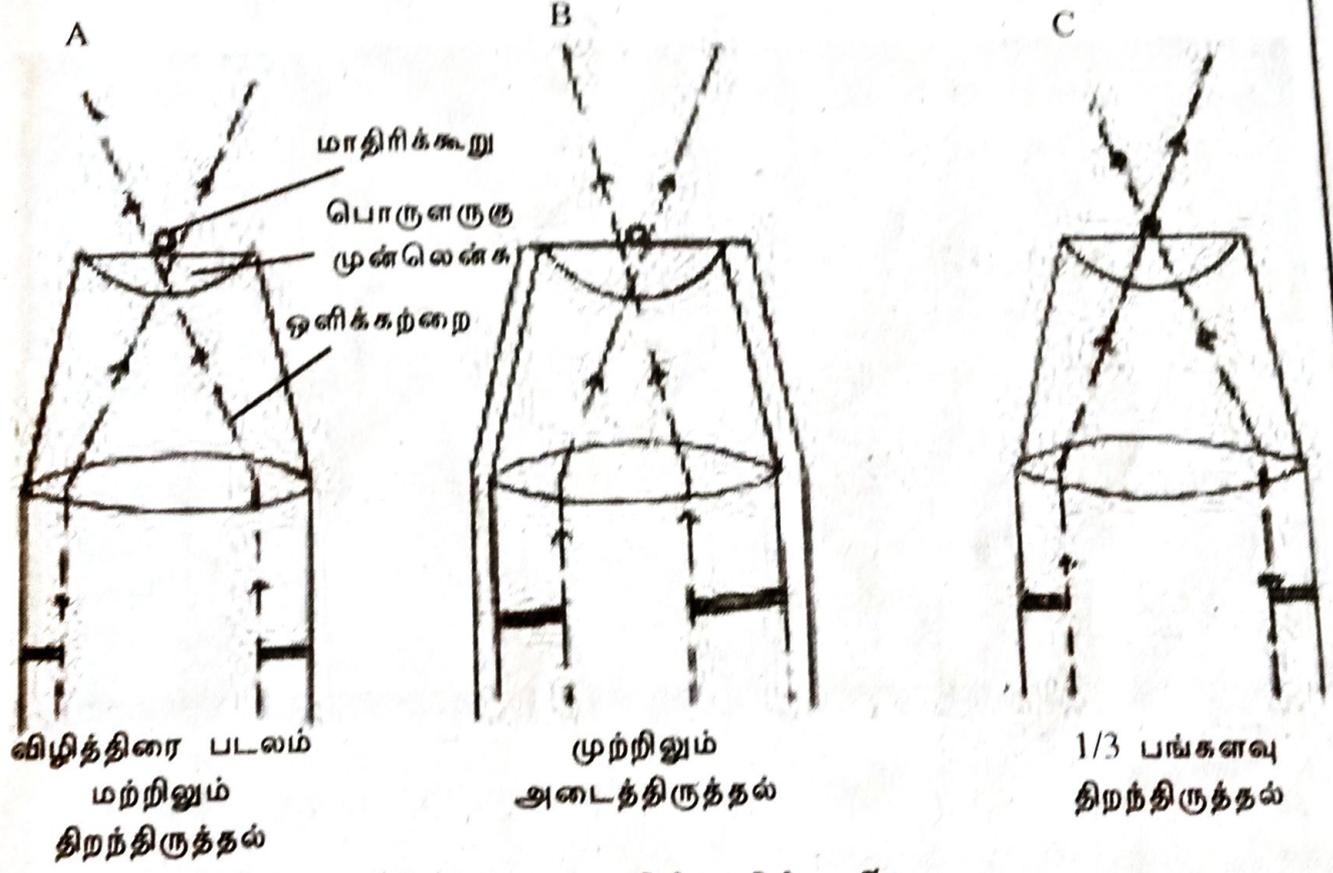
O பொருளருகு வென்சு

E-கண்

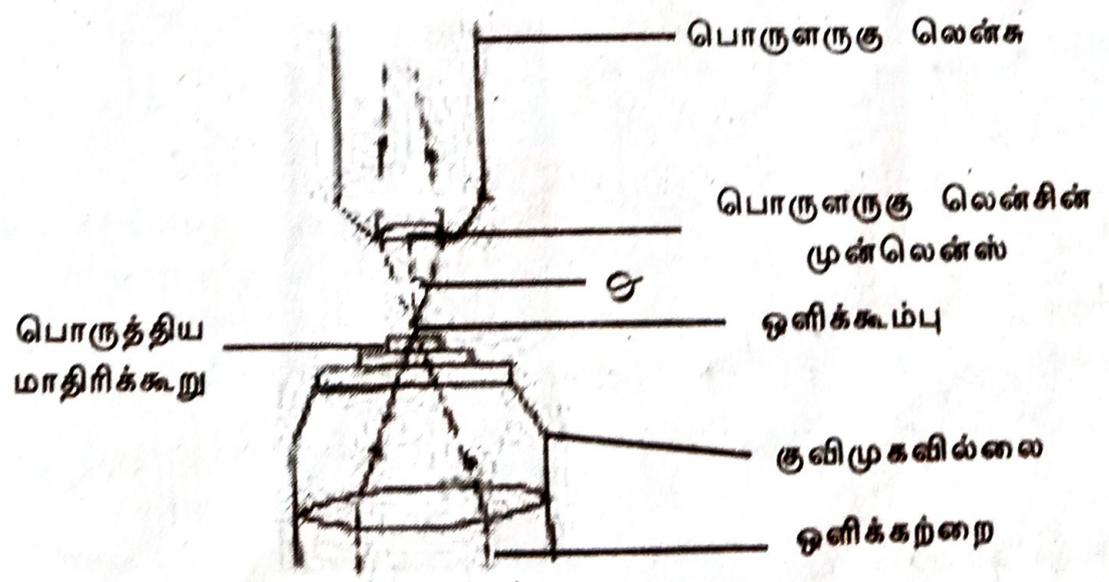
D_i தெளிவான பார்வைக்குரிய குறைந்த பட்சத் தொலைவு



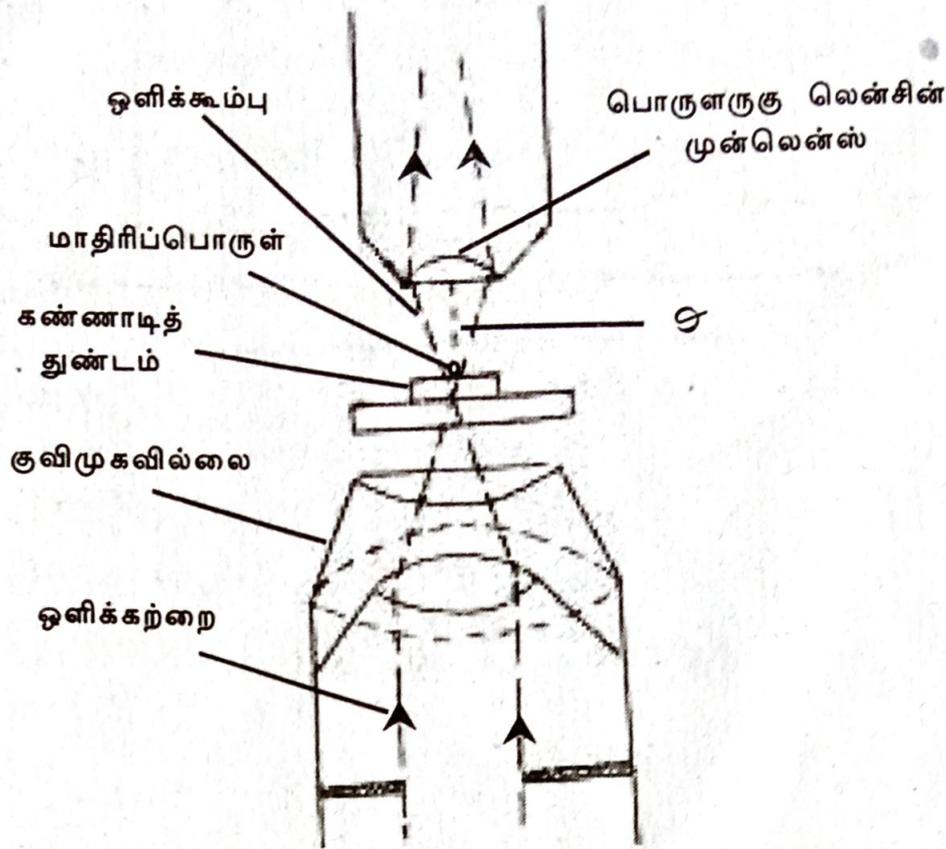
விழுத்திரை படலத்தின் பணி



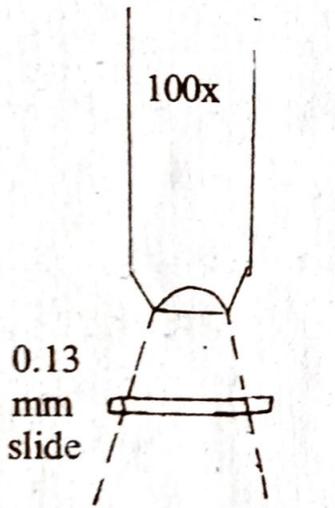
கோணஒளிக்கதிர் தீர்வு



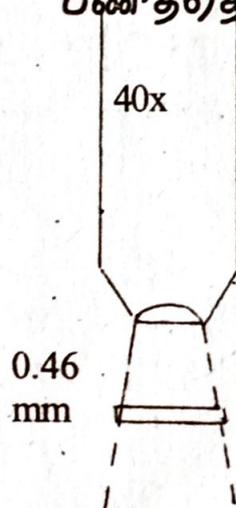
எண்ணியல் ஒளிக்கதிர் திரவு



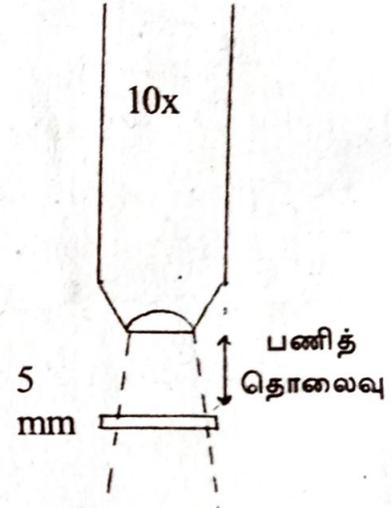
பணித்தொலைவு



எண்ணெயில் மூழ்கும் பொருளருகு வென்சு



வெகுவாற்றல் பொருளருகு வென்சு



குறைவாற்றல் பொருளருகு வென்சு

நுண்ணோக்கியின் தெளிவாக்கும் ஆற்றல்

தெளிவாக்கமில்லாமல் உருப் பருக்கம்



தெளிவாக்கம் இன்றி உருப்பெருக்கம்



புள்ளிகள்



நன்கு உருப்பெருக்கமும் தெளிவாக்கமும்



புள்ளிகள் நன்கு உருப்பெருக்கி தெளிவாக்கப்பட்டவை

குவிமுகவில்லை மிகவும் சிறிய உருவளவு கொண்ட வலைச்சட்டம்

ஆய்வக கூட்டு நுண்ணோக்கியின் பாகங்களையும் உபயோகிக்கும் முறையினையும் பற்றி அறிதல்

இது ஒரு ஒற்றைவிழிக்குரிய நுண்ணோக்கி (monocular microscope). இதன் பெயருக்கேற்ப இந்நுண்ணோக்கியில் ஒற்றைக் கண்ணினால் மட்டும் காண இயலும். இந்நுண்ணோக்கியில் அடங்கிய பாகங்களும் அவற்றின் பணிகளும் பின்வருமாறு.

1. நுண்ணோக்கியின் பிரதான உடலம் என்பது தடித்த நின்றல் (stand) என அழைக்கப்படும் தடித்த அடிப்பாகம் (stout base). இது கிட்டத்தட்ட குதிரை லாட வடிவம் (horse shoe shaped) கொண்டுள்ளது. மூட்டு பிணைப்பு (hinge joint) மூலம் இந்தப் பாகம் முண்டத்துடன் (limb) பொருத்தப்பட்டுள்ளது.

2. இந்நிலை நிறுத்தியின் அடிப்பாகத்தில் ஆடி (mirror) ஒன்று பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இதில் இருபக்கங்கள் உள்ளன. ஒரு பக்கம் சமமாகவும் (plain side) இன்னொரு பக்கம் குழிந்தபக்கமாகவும் (concave side) காணப்படுகின்றன. இந்த ஆடியை ஒளி வரும் திசைக்கேற்ப திருப்பிவைக்க முடியும்.

3. சதுரவடிவத்தில் மேடை (stage) ஒன்று உள்ளது. இதன் மையத்தில் வட்டமான ஒளிக்கதிர்திறவு (aperture) காணப்படுகிறது. கண்ணாடித்துண்டத்தை (slide) இம்மேடையில் வைத்து ஆய்வு செய்யப்படுகிறது.

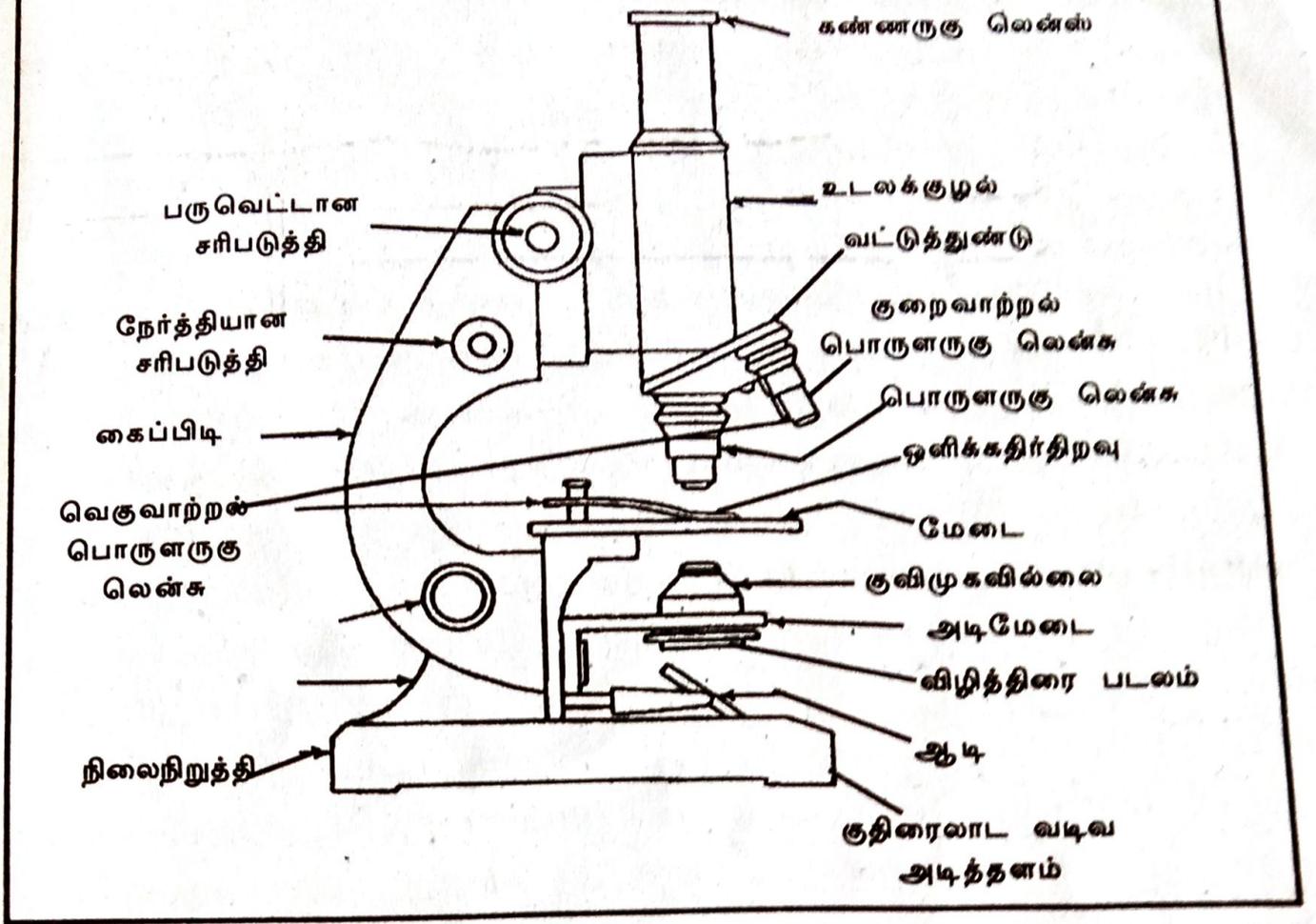
4. மேடைக்கு அடியே குவிமுகவில்லை பொருத்தப்பட்டுள்ளது. ஆடியிலிருந்து பிரதிபலித்த ஒளிக்கதிர்களை அடர்வுபடுத்தி மாதிரிப்பொருளின் மீது குவிப்பதே இதன் பிரதானப்பணி. குவிமுகவில்லையின் அடியே விழித்திரைப்படலம் (iris diaphragm) ஒன்று பொருத்தப்பட்டுள்ளது. நுண்ணோக்கிக்குள் நுழையும் ஒளி அளவினை கட்டுப்படுத்துவதற்கு இது உதவுகிறது. குவிமுகவில்லையின் மேல் உள்ள லென்சு மேடையின் மையத்துளையுடன் பொருந்தியவாறு உள்ளது. குவிமுகவில்லையின் அடியே வடிகட்டிகள் (filters) பொருத்தப்பட்டுள்ளன. இவை கண்ணிற்கு சிரமம் (strain) ஏற்படாமல் இருக்கவும் நிறமுறாத தாவரக்கூறுகளின் அமைப்பை வேறுபடுத்தறியவும் உதவுகிறது.

5. உடலக் குழல் கரத்துடன் (arm) handle) பொருந்தியுள்ளது. இது நிமிர்வாகவோ அல்லது சற்றுச் சாய்வாகவோ இருக்கலாம்.

பக்கவாட்டில் வலது புறமாக சரிபடுத்திகள் உள்ளன. இவற்றில் பெரியதாக இருப்பது பருவெட்டான சரிபடுத்தி (coarse adjustment) என அழைக்கப்படுகிறது. அடுத்தது கீழாக அமைந்தது நேர்த்தியான சரிபடுத்தி (fine adjustment) எனப்படும். பருவெட்டான சரிபடுத்தியை மேலும் கீழும் இயக்குவதன் மூலம் உடலகுழல் மேலும் கீழும் இயக்க வைக்க முடியும். கண்ணாடித்துண்டத்தில் உள்ள தாவரக்கூறின் தெளிவினை அறிவ இந்த இயக்கம் சாத்தியமாகிறது. இச்சரிபடுத்தியை கையாளும் பொழுது குறைவாற்றல் பொருளருகு லென்சை (low power objective) பயன்படுத்தவேண்டும். நேர்த்தியான சரிபடுத்தியை இயக்குவதால் செலின் உருப்பெருக்கம் கூடுகிறது. இதற்காக வெகுவாற்றல் பொருளருகு லென்சை (high power objective) பயன்படுத்த வேண்டும். இந்நிலையில் எக்காரணம் கொண்டும் பருவெட்டான சரிபடுத்தியைப் பயன்படுத்தக்கூடாது.

6. உடலக்குழலின் மேல் முனையில் கண்ணில்லை/கண்ணருகு லென்சை (eye piece/ocular) பொருத்தப்பட்டுள்ளது. கண்ணருகு லென்சின் முக்கியப் பணி மாதிரிக்கூறினை உருப்பெருக்குவதுடன் தோன்றிய பிரைமரி பிம்பத்தின் தரத்தை மேம்படுத்துவதும் ஆகும். கண்ணருகு லென்சின் உருப்பெருக்க அளவு அதன் மீது 5X அல்லது 10X என குறிப்பிடப்பட்டிருக்கும்.

7. உடலக்குழலின் அடியே சுற்றிச்சுழலும் வட்டு துண்டு (revolving nose piece) ஒன்று பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இதில் மூன்று பொருளருகு லென்சுகள் பொருத்தப்பட்டிருக்கலாம். சாதாரண ஆய்வுக்கு இரண்டு பொருளருகு லென்சுகள் மட்டுமே பொருத்தப்பட்டிருக்கும். குறுகிய குவிய தூரம் கொண்ட லென்சுகள் இந்த பொருளருகு கருவியில் (objective) பொருத்தப்பட்டிருக்கும். இதுவே பொருளின் (object) உருப்பெருக்கிய பிரைமரி பிம்பத்தை தோற்றுவிக்கவல்லது. ஒவ்வொரு பொருளருகு லென்சிலும் அதன் உருப்பெருக்கும் திறன் (ஆற்றல்) பொறிக்கப்பட்டுள்ளது (engraved). பொருளருகு லென்சை இருவகைப்படுகிறது. 1. நிறங்காட்டா பொருளருகு லென்சை (achromatic lens) 2. நிறம் பகர்க்கும் பொருளருகு லென்சை (apochromatic lens) பொருளருகு லென்சின் உருப்பெருக்கும் ஆற்றல் அளவு 40X அல்லது 100X என அதன் மீது குறிக்கப்பட்டிருக்கும் பொதுவாக, நிறம்பகர்க்கும் பொருளருகு லென்சை மூலமே செல் உட்கூறுகளை பல்வண்ணங்களின் கண்டுரை முடியும். (கூட்டு நுண்ணோக்கியில் ஒளிக்கதிர்கள் உய்ப்பிக்கும் படம் எலெக்ட்ரானுண்ணோக்கியுடன் பொருத்தப்பட்டுள்ளது.--- பார்க்க)



மின்னணு நுண்ணோக்கியியல் (Electron Microscopy)

ஜெர்மனி நாட்டைச் சார்ந்த நால், ருஸ்கா (knoll and ruska) 1932ல் முதன்முதலாக மின்னணு நுண்ணோக்கியை வடிவமைத்தனர். பின்பு பெல்ஜிய வல்லுநரான மார்ட்டான் (1934) என்பவரும் கனடா வல்லுநர்களான ப்ரிபஸ் மற்றும் மில்லர் ஆகியோரும் 1934ல் சற்று மேம்பட்ட நுண்ணோக்கியினைக் கண்டுபிடித்தனர். இவர்களது நுண்ணோக்கி அதிகளவில் தெளிவிக்கும் ஆற்றல் (resolving power) பெற்றது. தற்பொழுது கண்டு பிடிக்கப்பட்டுள்ள மின்னணு நுண்ணோக்கியின் தெளிவிக்கும் அளவு (limit of resolution) 3\AA ஆகும். ஒரு ஆங்ஸ்ட்ரான் (angstrom) (\AA) என்பது $1/10,000$ மைக்ரானிற்கு (μ) அல்லது $1/254,000,000$ அங்குலத்திற்கு (inch) சமமாகிறது.

நெறிமுறை (principle)

மின்னணு நுண்ணோக்கியில் குறைந்த அலைநீளம் ($\lambda=0.5\text{\AA}$) கொண்ட வெகுவேக எலெக்ட்ரான்கள் (high speed electrons) ஒளிர்விக்கு காரணியாகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. (ஒளிக்கதிர்களை)

பயன்படுத்துவதில்லை) எலெக்ட்ரான்களின் அலைநீளம் (wave length) மின்வலியளவினால் (voltage) தீர்மானிக்கப்படுகிறது. 50000 மின்னலகுக்கூறுகளில் (volts) எலெக்ட்ரான்களின் அலைநீளம் 0.50\AA ஆக இருக்கிறது. இதன்படி எலெக்ட்ரான் நுண்ணுண்ணோக்கியின் தெளிவிக்கும் ஆற்றல் 0.50\AA ன் பாதியாக (half) இருக்க முடியும். அதாவது, 0.25\AA . ஆயினும், நுட்ப இடர்பாடுகளுக்காக இதன் தெளிவிக்கும் ஆற்றல் 10\AA ல் பராமறிக்கப்படுகிறது.

மின்னணு நுண்ணோக்கியில், மின்காந்தக்களங்கள், (electromagnetic fields) மின்னணுக்களின்மீது செயல்புரிகின்றன (acted). மின்காந்த ஒருமுக குவிமுகவில்லை லென்ஸ் (condenser lens) பொருளின்மீது மின்னணுக்களை சேகரித்து மின்வீறு பெருக்குகிறது (condenses). மேலும், பொருளில் பிரதிபலிக்கப்பட்ட (reflected) மின்னணுக்களை மின்காந்த பொருளருகு லென்ஸ் குவித்து முதல் பிம்பத்தை உருப்படுத்துகிறது. இன்னொரு மின்காந்த ஒளிவீச லென்ஸ் (electromagnetic projector lens) போட்டோகிராபிக்திரை (photographic screen) அல்லது போட்டோகிராபிக் படலத்தின் (photographic film) மீது இறுதிப் பிம்பத்தை (final image) தோற்றுவிக்கிறது. இத்தகு ஒளிவரைகலைகள் (photographs) மின்னணு நுண்வரைகலைகள் (electron micrographs) என அழைக்கப்படுகின்றன.

பொதுவாக, மின்னணுக்கள் (electrons) நேர் வரிசை காற்றெழியில் (straight line vacuum) பயணம் செய்ய முடியும். ஏனெனில், காற்றுவெளியில் இம்மின்னணுக்கள் ஆக்ஸிஜன் அல்லது நைட்ரஜன் அணுக்களுடன் மோதக்கூடியன (collide). இதற்காக, மின்னணு நுண்ணோக்கி காற்றெழி அறையில் (vacuum chamber) அடைக்கப்பட்டுள்ளது (enclosed).

அமைப்பு (structure)

மின்னணு நுண்ணோக்கியில் கீழ்க்கண்ட பாகங்கள் ஆக்கக்கூறுகளாக சேர்க்கப்பட்டுள்ளன.

1. மின்னிழை (filament) அல்லது எதிர்மின்வாய் (cathode) எலக்ட்ரான் பாய்வினை இது வெளிப்படுத்துகிறது.
2. எதிர்மின்வாய் கதிர்குழாய் (cathode ray tube)

இக்குழாய் வழியே எலக்ட்ரான்கள் பாய்ந்து சென்று ஒருமுக குவிமுகவில்லை லென்ஸினை அடைகின்றன.

3. குவிமுகவில்லை லென்ஸ் (condenser lens)

இது ஒரு காந்தச்சுருள் (magnetic coil) எலக்ட்ரான் கற்றையினை (beam) பொருளின் தளப்பரப்பில் குவிவதற்கு அல்லது மின்வீறுபெருக்கத்திற்கு (condense) இச்சுருள் உதவுகிறது.

4. பொருளருகு லென்ஸ் (objective lense)

இதுவும் மின்காந்தச் சுருள் ஆகும். பொருளின் முதல் உருபெருக்கிய பிம்பத்தை இது தருகிறது.

5. கண்ணருகு லென்ஸ் அல்லது ஒளிவீசு லென்ஸ் (ocular or projector lens)

இதுவும் கூட மின்காந்த சுருள்தான். பொருளருகு லென்சால் தோன்றுவிக்கப்பட்ட முதல் பிம்பத்தை மேன்மேலும் உருபெருக்கிக் காட்டுகிறது.

6. வண்ணஒளிகாலும் திரை அல்லது போட்டோ கிராபிக் தட்டு (Fluorescent Screen or Photographic plate)

பொருளின் இறுதி பிம்பத்தை (final image) ஏற்று வெளிப்படுத்துகிறது.

மின்னணு நுண்ணோக்கியின் பணி (working of electron microscope)

1. உயிப்பிப்பு மின்னணு நுண்ணோக்கி (Transmission electron microscopy) (TEM)

உயிப்பிப்பு மின்னணு நுண்ணோக்கியில் எதிர்மின் விசைசெறிந்த எலக்ட்ரோடிலிருந்து (electrode) (எதிர்மின்வாய் - cathode) மின்னாற்றல் புலம் (electric field) எலெக்ட்ரான்களை முன்னோக்கிச் செலுத்துகிறது (propels). கருவியிலுள்ள மின்காந்தங்களாள் தோன்றிய காந்தப்புலம் எலெக்ட்ரான் கற்றையினை கறையேறிய மாதிரிக்கூறின் (stained specimen) மீது குவிக்கிறது. இந்த எலெக்ட்ரான்களின் பலதிரள், மாதிரிக்கூறின் சரியாக ஊடாகக் கடந்து செல்கிறது. ஆனால், சில எலக்ட்ரான்திரள் உலோகக் கறைகளின் (metallic stains) அணுக்களால் ஈர்க்கப்படுகிறது அல்லது சிதறடிக்கப்படுகிறது. இவ்வாறு ஈர்க்கப்பட்ட எலக்ட்ரான்கள் மாதிரிக்கூறின் ஒருசில அணுக்களுடன் இணைவுற்றுக் கொள்கின்றன ஊடாகக் கடந்து சென்ற இவ்வெலெக்ட்ரான்கள், ஒளிமினுக்கும் பொருளால் (phosphore scent material) பூசப்பட்ட ஒரு திரையின் மீது மின்காந்தங்களுடன் குவிகின்றன. திரையில் எலெக்ட்ரான்கள் படுவதால் (striking) அத்திரை ஒளிர்கிறது (glowing). இத்திரையின் தோன்றும் ஒளிப்பாங்கு மற்றும் ஒளியற்ற பகுதிகள் தோன்றுவது (dar

areas), மாதிரிக்கூறிலுள்ள மிகுந்த / குறைந்த எலெக்ட்ரான் அடர்வுப் பகுதிகளுக்கு ஒப்பாயிருக்கிறது. போட்டோகிராபிக் பிளேட்டுகளிலும் கூட எலெக்ட்ரான்களைக் குவிக்க முடிகிறது. மாதிரிக்கூறின் மிகையளவில் ஒல்லியாக (thin) அதாவது, 10 நானோமீட்டர் தடிமனுக்கு குறைவாக இருத்தல் வேண்டும். பொருத்தமான எலெக்ட்ரான் கற்றையின் அலைநீளம் 0.005 nm இருக்க வேண்டும். இத்தடிமனளவு 0.00211 nm ஆற்றற்பிரிவினை (தெளிவாக்கம்) (resolution) அனுமதிக்கக் கூடியது. காந்தவியல் லென்சுகள் தயாரிக்கவும் இயக்கவும் அதிகளவு ஆற்றல்பிரிவினா (தெளிவாக்கம்) (highest resolution) 0.1-0.2 nm அளவுகளில் இன்று கிடைக்கிறது.

2. நுணுகிக் காணும் எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி (Scanning electron microscope) (SEM)

நுணுகிக்காணும் எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியில், மாதிரிக்கூறின் (specimen) புறப்பரப்பிலிருந்து பிரதிபலிக்கப்பட்ட எலெக்ட்ரான்களால் பிம்பம் அல்லது போட்டோகிராப் தோன்றுகிறது. சுமார் 20 nm குறுக்களவு கொண்ட மிகு நேர்த்தியான எலெக்ட்ரான் குவிக்கதிர் கூம்பு (pencil of electrons) வரிசைக்கிரமமாக ஒடுங்கி நீண்டு மாதிரிக்கூறின் ஊடே வீச்சுடன் கடந்து செல்கிறது. இதுவே, நுணுகிக்காணுதல் (scanning) என அழைக்கப்படுகிறது. பொருளின் புறப்பரப்பை எலெக்ட்ரான்கள் நுணுகிப்பிரிக்கும் அதே வேளையில் டி.வி. குழாயில் (T.V. Tube) உள்ள திரையில் அவ்வெலக்ட்ரான்கள் நுணுகிப்பிரிவது அறியமுடிகிறது. புறப்பரப்பிலிருந்து வெளிப்பட்ட செகண்டரி எலெக்ட்ரான்களின் இலக்கில் நுணுகிக்காணுதல் நிகழ்கிறது. இத்தகு எலெக்ட்ரான்கள் நேர்மின் ஏற்ற கம்பி வலையால் (positively charged grid) சேகரிக்கப்படுகின்றன. இக்கம்பி வலையிலிருந்து சைகை (signal) T.V குழாய்க்கு மாற்றியமைக்கப்படுகிறது. இங்கு இந்த எலக்ட்ரான்கள் நுணுகிப்பிரிவுற்று திரையில் பிம்பமாகத் தோன்றுகின்றன. இவ்வாறு T.V யில் தோன்றும் பிம்பத்தை போட்டோகிராப், வீடியோபதிவு, கணிப்பொறி இணைப்பு ஆகியவற்றிற்கு பயன்படுத்த முடியும்.

உயிப்பிப்பு மின்னணு நுண்ணோக்கியினை விட நுணுகிக்காணும் நுண்ணோக்கியின் தெளிவிக்கும் ஆற்றல் (resolving power) குறைந்தது. T நுணுகிக்காணும் நுண்ணோக்கி நோல் மற்றும் வி. அர்டின் ஆகியோர் கண்டுபிடித்தனர். வர்த்தகரீதியில் 1960ம் ஆண்டு விற்பனைக்கு வந்தது. T.V யுடன் எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியின் செயலியக்கத்தை இணைத்துகாட்டுவது நுணுகிக்காணும் நுண்ணோக்கியின் சிறப்பம்சம்.

மின்னணு நுண்ணோக்கிக்கு வேண்டிய உயிரினக் கூறுகளை தயாரித்தல்

இயல்பு மீறிய தெளிவிக்கும் ஆற்றல் பொருந்தியதாக இது விளங்குவதால் செல் அங்கங்களின் (components of cell) அதிநுண் அமைப்பினை அறிய உதவிவருகிறது. இச்சாதனத்தில் உபயோகிப்பதில் பல இடங்களும் உள்ளன. 1. எலக்ட்ரான்களின் ஊடுருவும் ஆற்றல் மிகக் குறைந்ததாக இருப்பதால் ஆய்வுக்குப்பட்ட மாதிரிக்கூறு (specimen) மிகவும் ஒல்லியாக (very thin) இருக்க வேண்டும். மேலும், இம்மாதிரிக்கூறு நுண்ணயமான படலத்தில் (fine film) பொருத்திவைக்க வேண்டும் (mounted). $0.5\mu\text{m}$ க்கு மிகையாக இதன் தடிமன் (thickness) இருந்தால் நுண்ணோக்கியில் காணும் பொழுது அம்மாதிரிக்கூறு தெளிவற்று இருட்டு போல (opaque) காணக்கூடும். இதற்காக, அதிநுண்மைக் ரோடோமில் (ultra microtome) சாதனம் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இச்சாதனத்தில் வைர அல்லது கண்ணாடி கத்திகள் (diamond or glass knives) பொருத்தப்பட்டுள்ளன. எனவே, 100\AA தடிமன் கொண்ட மாதிரிக்கூறுபாடு (sections) பெறமுடிகிறது. $7.5-15\text{nm}$ தடிமன் கொண்ட செல்லோடியன் (cellodion) எனும் நுண்ணிய படலத்தில் இக்கூறுபாடுகள் பொருத்திவைக்கப்படுகின்றன. மாதிரிக்கூறில் கனஉலோகங்களை கூட்டிணை வாக்குவதால் எளிதாக வேறுபடுத்திக் காட்டமுடிகிறது. ஏனெனில், எலெக்ட்ரான்களின் பரவுகை (dispersion) தடிமன் அதிகமாக இருப்பதால் பாதிக்கப்படுகிறது. மாதிரிப் கூறிலுள்ள அணுக்களின் அணு எண்ணினைப் பொறுத்து இப்பரவுகை சாத்தியமாகிறது. மாதிரிக் கூறிலுள்ள நீர்மம் கண்டிப்பாக அகற்றப்பட்டிருக்க வேண்டும். மேலும் இக்கூறுகளை காற்றெழியில் (vacuum) வைத்துப் பதனப்படுத்தி வரவேண்டும்.

ஒளி நுண்ணோக்கிக்கும் எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கிக்கும் உள்ள வேறுபாடுகள்

1. எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியில் எதிர்மின்வாய் (cathode) உள்ளது. இது ஊசி அல்லது இழை போன்ற உருவத்தில் எலெக்ட்ரான்களின் மூலாதாரமாக அமைகிறது.

ஒளி நுண்ணோக்கியில் ஒளிர்விக்கும் காரணியாக ஒளிக்கதிர்கள் (light rays) பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

2. பொருளின் எலெக்ட்ரான் ஒளிக்கற்றையினை (electron beam) சேகரிப்பதற்கும் குவிப்பதற்கும் ஒரு மின்னணு காந்த

குவிமுகவென்சுவில்லை (electro magnetic condenser lens) உள்ளது.

ஒளிநுண்ணோக்கியில் ஒளி குவிமுகவில்லையாக (light condenser) குழிஆடி (concave mirror) அல்லது இருபுறங் குவிந்த வென்சு (Biconvex lens) பொருத்தப்பட்டுள்ளது.

3. மின்னணு நுண்ணோக்கியின் பொருளருகு வென்சு (objective lens) மின்னணுகாந்தத்தால் உருவாக்கப்பட்டது.

ஒளி நுண்ணோக்கியில் எளிய, நிறம்சாரா வென்சுகள் (achromatic lens) பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

4. வண்ணஒளிகாலும் காட்சி திரையின் (fluorescent viewing screen) அல்லது போட்டோகிராபிக் பிளேட்டின் மீது பிம்பம் பெறப்படுகிறது.

5. எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியில் பிம்பம் தோன்றுவது, எலெக்ட்ரான்களின் பரவுகை (dispersion) அல்லது சிதறுகை (diffraction) பொறுத்தது.

ஒளி நுண்ணோக்கியில், பொருளின் (object) வெவ்வேறு மண்டலங்களில் ஒளியின் வேறுபட்ட ஈர்ப்பால் பிம்பம் தோன்றுவதும் வேறுபடுவதும் சாத்தியமாகின்றன.

6. எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியில் தோன்றிய பிம்பம், ஒளி நுண்ணோக்கியில் பார்த்த உருவமைப்பு மாதிரி இருப்பதில்லை. இப்பிம்பம் பொருளினுள்ள மூலக்கூறுகளின் அமைவிடத்தைக் காட்டுகிறது. இப்பொருள் மையநோக்கிய வளையங்களாக அல்லது புள்ளிகளாக உருவத்தில் (concentric rings or spots) சிதறடிக்கிறது.

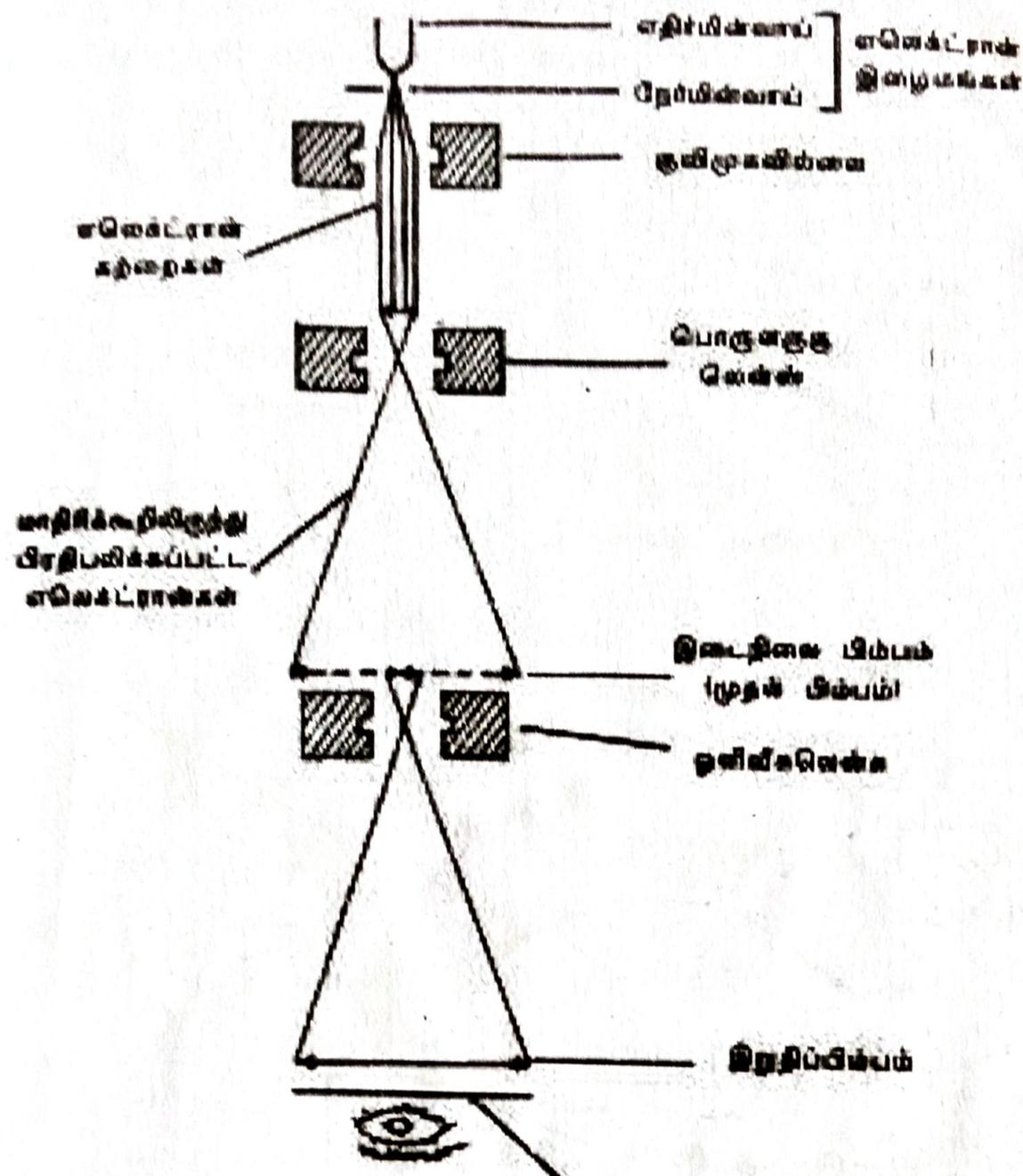
7. ஒளிக்கதிரின் அலைநீளம் மின்னணு நுண்ணோக்கிக்கு 0.005nm at 50KV ஒளி நுண்ணோக்கிக்கு $400-700\text{nm}$ ஆகும்.

8. மின்னணு நுண்ணோக்கிக்கு அதிகபட்ச பயன்பாட்டு உருப்பெருக்கம் $\times 250,000$ திரையில். ஒளி நுண்ணோக்கிக்கு $\times 1500$.

9. மின்னணு நுண்ணோக்கிக்கு அதிகபட்ச தெளிவாக்கும் திறன் 0.5nm , ஒளி நுண்ணோக்கிக்கு $200-250\text{nm}$.

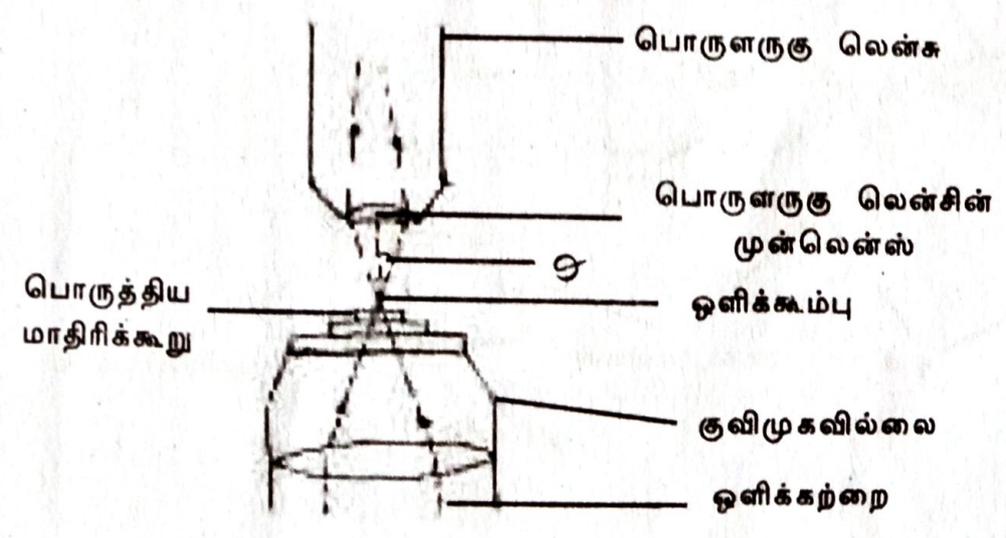
10. வெட் அசிடேட், வெட் சிட்ரேட், பாஸ்போ டங்ஸ்டிக் அமிலம் ஆகியன மின்னணு நுண்ணோக்கியின் கறைகள். போராக்ஸ், ஹிமடோசலின், இயோசின், கார்மின், சாப்ரனின் முதலியன ஒளிநுண்ணோக்கியின் கறைகள்.

உயிப்பு யின்னணு நுண்ணோக்கி

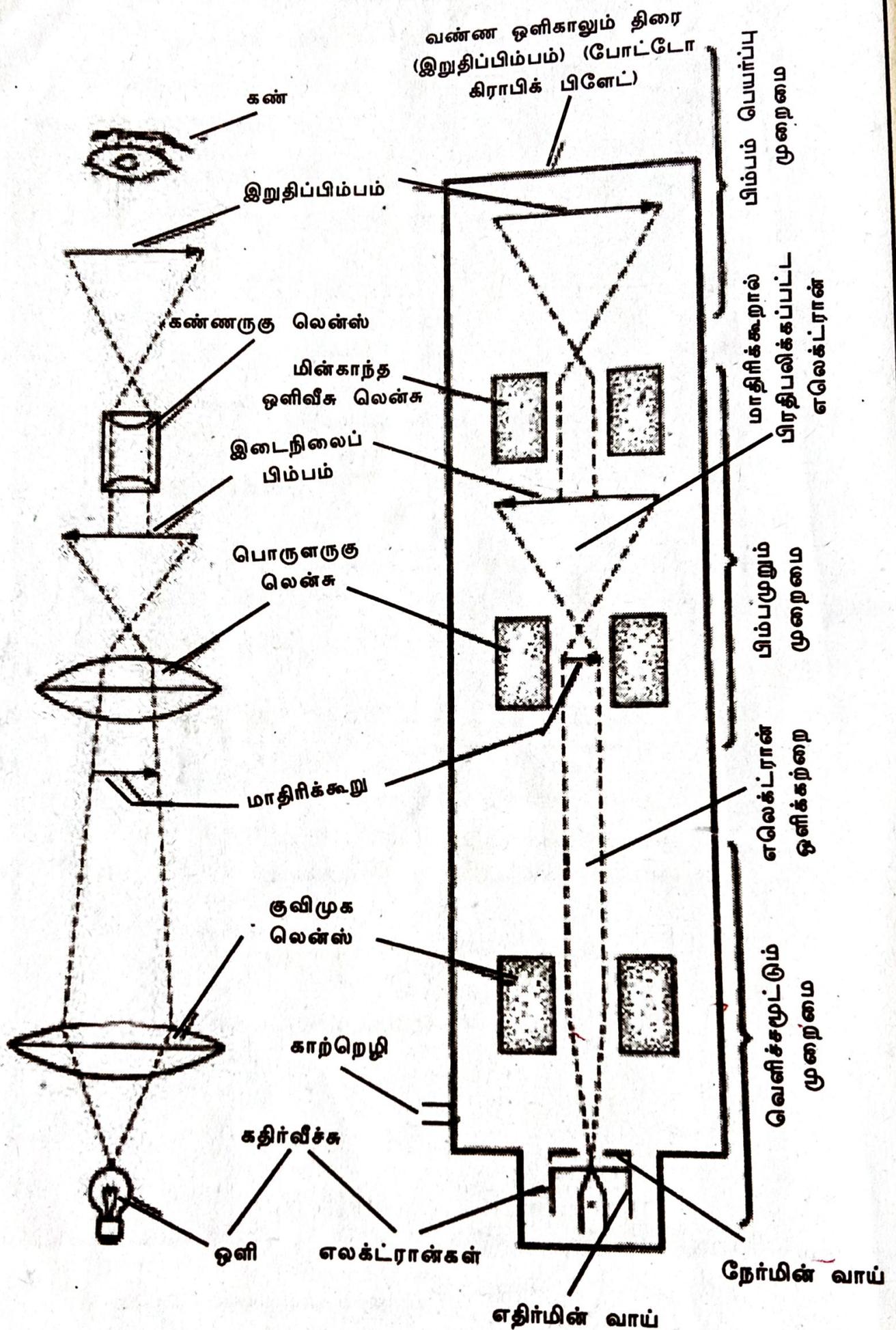


ஒளிவரைகலைப்படலம் அல்லது நிரை அல்லது எலெக்ட்ரான் நுண்வரைகலை

கோணஒளிக்கதிர் திறவு

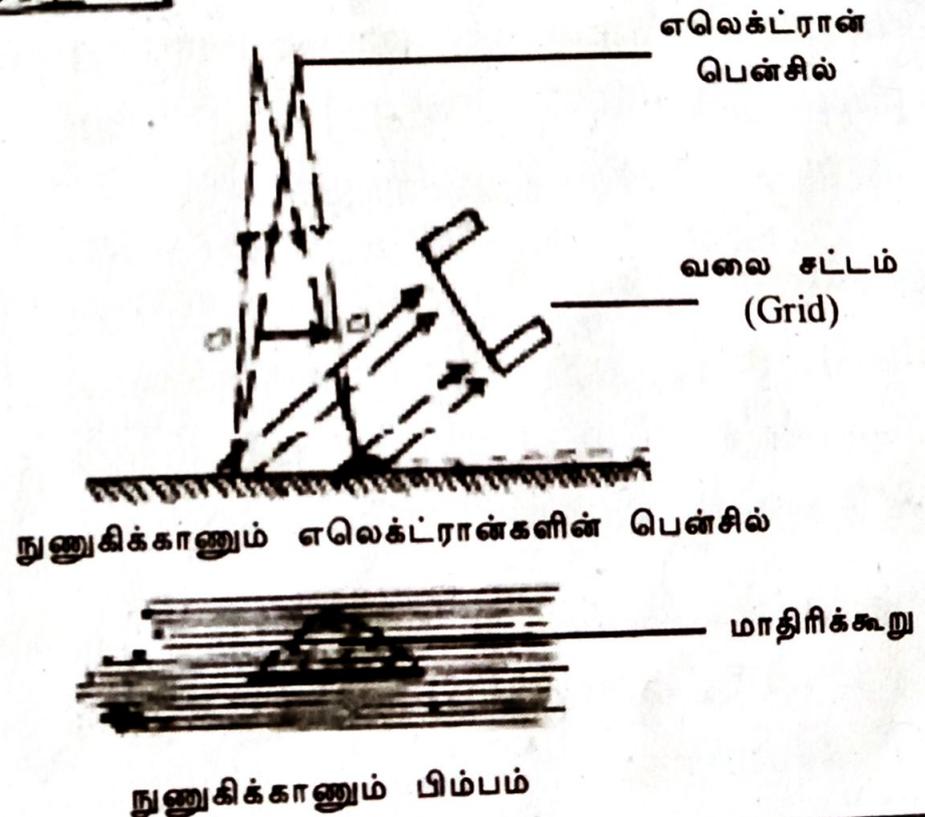
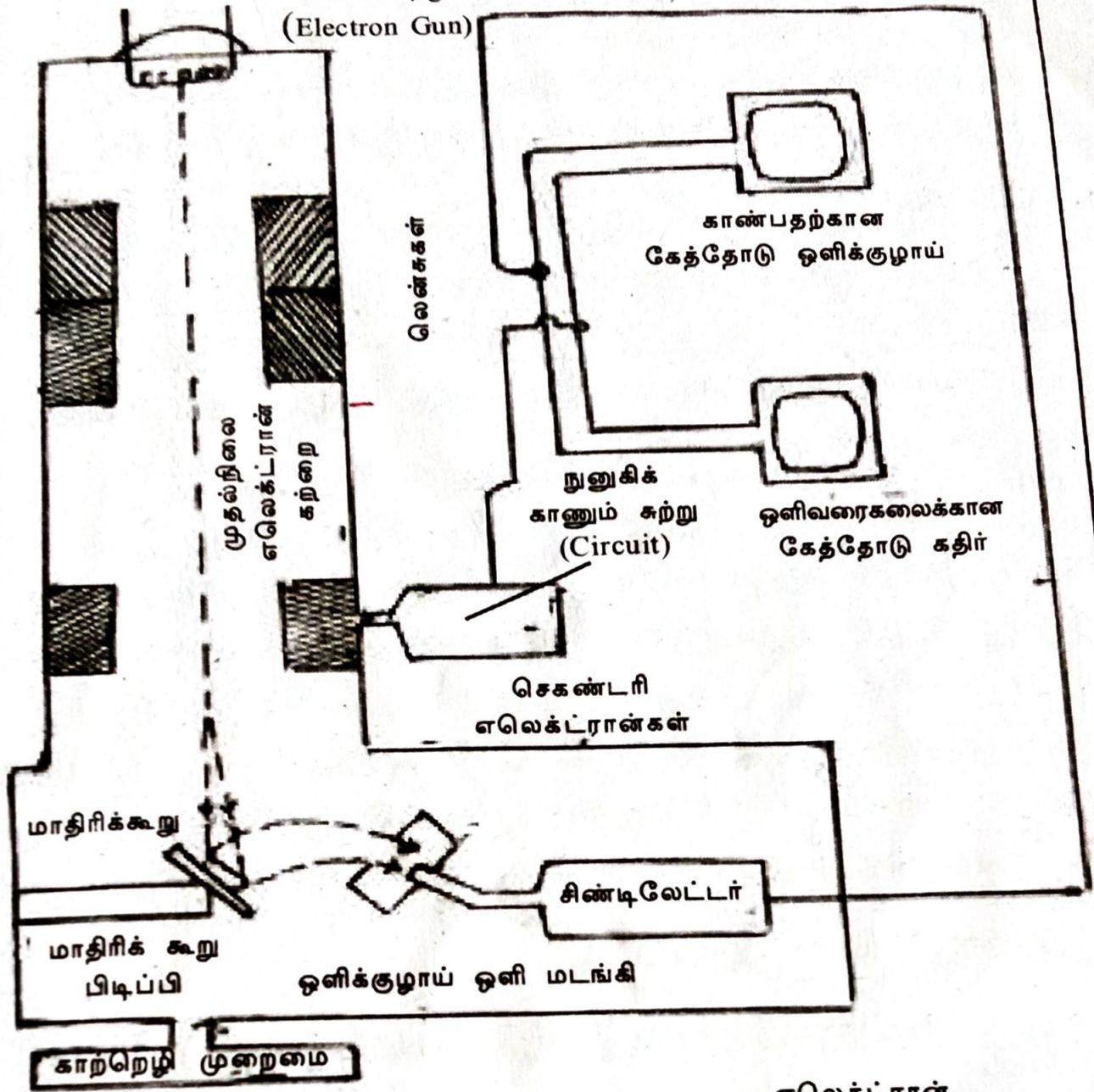


கூட்டு நுண்ணோக்கி, எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி ஆகிய இரண்டிற்கு இடையே காணும் ஒப்புமைகளும் வேறுபாடுகளும்



நுணுகிக்காணும் எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி

எலக்ட்ரான்
விசைப்பீற்று
(Electron Gun)



ஒளிக்கலை வேறுபடுத்தும் நுண்ணோக்கி (Phase Contrast Microscope)

நெதர்லாந்து பேராசிரியர் பிரிட்ஷெர்னிக் என்பவர் இந்நுண்ணோக்கியைக் கண்டுபிடித்தமையால் 1953ல் இவருக்கு இயற்பியற் துறைக்கான நோபிள் பரிசு இவருக்கு வழங்கப்பட்டது.

1. நெறிமுறை

செல் அங்கங்கள் மூலம் கட்புலப்படா சிறு ஒளிக்கலை மாற்றங்களை கட்புல ஒளிஅட்ர்வு மாற்றங்களாக்க வாழும் செல்களை மாற்றுவது பற்றிய பயில்விற்கு இந்நுண்ணோக்கி உதவுகிறது.

ஒளிக்கலை மாற்றத்தின் நிகழ்வினை அறிவதற்கு நாம் அறிய வேண்டியது யாதெனில், ஒளி ஊடுருவும் ஈர்ப்பி அல்லது ஈர்ப்பியற்ற, தடித்த பொருள் வழியே ஒளியைக் கடத்தும் பொழுது அந்த ஒளிக்கதிர் அதன் ஒளிக்கலையின் மாற்றத்தால் அவதியறுகிறது. இம்மாற்றம் ஒளிக்கலைமாற்றம் (Phase Change) அல்லது ஒளிக்கதிர்சிதைவு (Retardation) என அழைக்கப்படுகிறது.

2. கட்டமைப்பு (Structure)

ஒளிக்கலை வேறுபடுத்தும் நுண்ணோக்கி என்பது வளையப் படலம் (Annular diaphragm) மற்றும் வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு (annular phase plate) பொருத்தப்பட்டு சிறப்பு வகையாக வடிவமைக்கப்பட்ட ஒளி நுண்ணோக்கி.

1. வளையப் படலம் குவிமுக வில்லைக்கு அடியே பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இதில் வட்டமான வளையப் பள்ளத்துடன் கூடிய வட்ட வடிவ வட்டு உள்ளது. இதன் வழியே ஒளிக்கதிர்கள் கடவ அனுமதிக்கப்படுகின்றன.

2. குவிமுக வில்லை (Condenser) வளையப் பள்ள வழியே கடந்த ஒளியினை இந்த குவிமுக வில்லை பொருளிட மீது குவியச் செய்கிறது.

3. பொருளருகு லென்சு (ஆடி) (Objective lens)

வளையப் பள்ளம் மற்றும் குவிமுக வில்லை வழியே வந்த ஒளிக்கதிர் பொருளின் மீது விழுகிறது. சில கதிர்கள் திருத்தியமைக்கப் படுவதில்லை (unaltered). ஆனால் சில கதிர்கள் ஒதுக்கப்பட்டுவிடுகின்றன (Rejected) அல்லது ஒளிக்கதிர் சிதைவடைகின்றன (Diffracted). இவ்விரு வகைக்கதிர்களும் பொருளருகு லென்சு மீது விழுவதால் பொருளின் எதிர்ப்பக்கத்திலும் விழுகின்றன. பொருளருகு லென்சு அதன் குவி மட்டத்தில் இக்கதிர்களைக் குவித்து பொருளின் பிம்பத்தை உருவாக்குகிறது.

4. வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு (Annular phase plate)

பொருளருகு செலன்சின் குவிமட்டத்தில் எங்கு பிம்பம் தோன்றுகிறதோ அவ்விலக்கில் வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு உள்ளது. வளையப் பள்ளத்தின் தொடர்புடைய உயர்வுற்ற (தடித்த) வட்டப் பகுதியின் எதிரின் ஒளிக்கலைத் தட்டுவாகவோ அல்லது வளையப் பள்ளத்தின் தொடர்புடைய வட்ட வடிவ தடிப்பற்ற பள்ளத்தின் கூடிய நேர்மின் ஒளிக்கலைத் தட்டுவாகவோ இந்த ஒளிக்கலைத் தட்டு இருக்கலாம். வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டத்தில் இருக்கும் தடிப்பும், தடிப்பற்ற பகுதியும் சேர்ந்து ஈரிணைவுப் பகுதி (Conjugate area) என அழைக்கப்படுகிறது. ஒளிக்கலைத் தட்டு என்பது ஒளி ஊடுருவும் ஒரு வட்டு (Disc) ஆகும். இதில் வளையப் பள்ளம் உள்ளது. வளையப் படல துளைவின் பிம்பத்தால் இப்பள்ளம் பொருந்தாமாறு வைக்கப்படுகிறது. இப்பள்ளம் வழியே நேரடியாக ஒளிக்கதிர்கள் கடந்து செல்கின்றன. ஆனால் சிதைவுற்ற அல்லது ஒளி விலகிய (refracted) கதிர்கள் பள்ளத்தின் வெளிப்பக்கப் பகுதி வழியே கடந்து செல்கின்றன.

5. கண்ணருகு லென்சு (Ocular lens)

நேரடிக்கதிர்களும் ஒளி விலகிய அல்லது ஒளி சிதைவுற்ற கதிர்களான இவ்விரு ஒளிக் குவைப்புகளை (Sets) ஒன்றாக கொண்டு வரும் பொழுது இக்கதிர்கள் கண்ணருகு லென்சு அடங்கிய பகுதியில் மாதிரிக்கூறின் பிம்பத்தை உருவாக்குகின்றன.

இப்பிம்பம் ஒளிக்கலையில் வெளிச்சமாகவும் ஒளிக்கலையற்ற பகுதியில் கருமையாகவும் தோன்றக்கூடும்.

பிம்பம் உருவாக்கம் (Image formation)

1. லென்சு வழியே ஒளிக்கடப்பதால் சில கதிர்கள் நேரடியான பாதையின் வழியே செல்கின்றன. பிறக்கதிர்கள் பக்கவாட்டாகச் சிதைவடைகின்றன. ஒளிச்சிதைவுற்ற கதிர்கள் இவ்விதமாக நேரடி ஒளியுடன் ஒளிக்கலைக்கு வெளியே கடந்து செல்கின்றன. எனவே, வலுவான வேறுபாட்டுடன் கூடிய பிம்பம் தோன்றுகிறது.

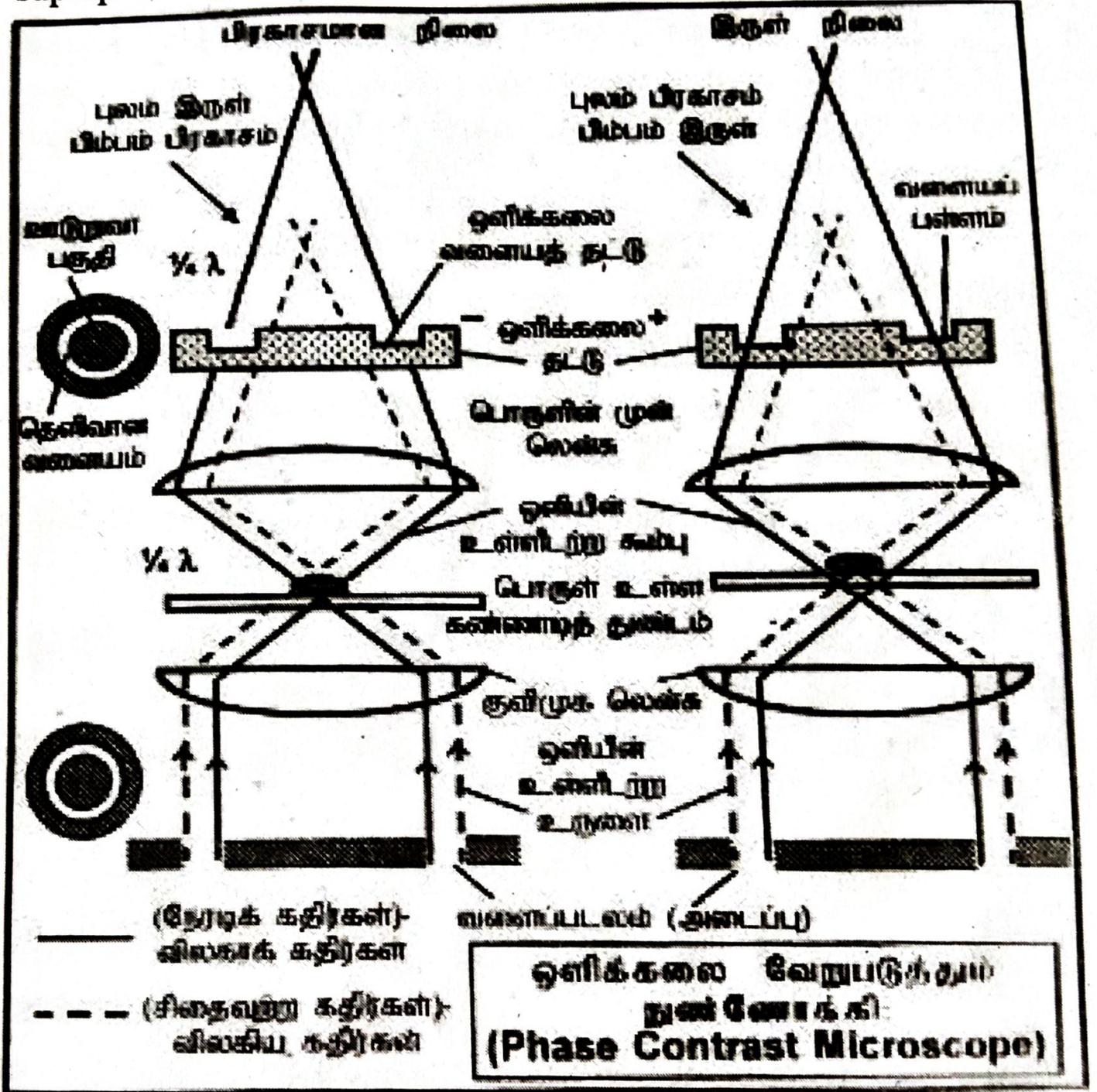
2. ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு நுண்ணோக்கியின் குவிமுக வில்லையில் ஒரு வளைய அடைப்பு உள்ளது. இது ஒரு ஒளிவிடா வட்டு (opaque disc). ஒல்லியான ஒளிஊடுருவும் வளையத்துடன் இவ்வட்டு காணப்படுகிறது. இது ஒரு உள்ளீடற்ற கூம்பினை (Hollow cone) தருகிறது. செல் வழியே இக்கூம்பு கடந்து செல்வதால் சிதைவுற்ற ஒளிக்கும் நேரடி ஒளிக்கும் இடையே $1/4$ அலைநீளத்தின் ($1/4\lambda$) வேறுபாட்டினை வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு தருகிறது.

3. பொருளருகு லென்சுவின் மையத்தில் உள்ள நேரடிப் பிம்பத்துக்கும் ஒளிச்சிதைவுற்ற பக்கவாட்டு பிம்பத்துக்கும் இடையே தலையீட்டு முடிவாக ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு விளைவு உள்ளது. ஒளிச்சிதைவுக் கதிரினை கூட்டும் பொழுது அது நேர்மறை வேறுபாட்டுக்கு ஏதுவாகி விடுகிறது. ஆனால் ஒளிச்சிதைவினை தடங்கலாக்கும் பொழுது எதிர்மறை வேறுபாடு ஏற்பட்டுவிடுகிறது.

4 பொருளினைக் காட்டிலும் ஊடகத்தின் ஒளிவிலகல் எண் அதிகரிக்கும் பொழுது பொருளானது (object) இருளாக / கருமையாக உள்ளது. பொருளினைக் காட்டிலும் ஊடகத்தின் ஒளிவிலகல் எண் குறையும் பொழுது பொருளானது பிரகாசமாகக் காணப்படுகிறது.

5. இம் மாதிரி ஒளிக்கலை வளையம் கட்டுமானமாகியிருந்தால் $1/4\lambda$ மூலமாக இதனை அதிகரித்து நேரடி ஒளியை கடவச் செய்யலாம். ஒளிக்கலையின் வெளியே $1/2\lambda$ நீளம் விலகிய அலைகள் மற்றும் நேரடி அலைகள்

கொண்டிருக்கலாம். இவை இரண்டையும் ஒன்றாகச் சேர்த்து பிம்பம் உருவாக்கும் பொழுது, அவை ஒன்றுக்கு ஒன்று நீக்கிக் கொள்கின்றன. எனவே, நேரடி ஒளியில் தோன்றிய சூழல் பிரகாசமாக இருக்கும் பொழுது நிறமேறா பொருள் கருமையாகத் தோன்றுவதை நன்கு விளங்கிக் கொள்ளமுடிகிறது. இதனை இருள் ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு நுண்ணோக்கியியல் அல்லது வேறுபாட்டு பிம்பம் என அழைப்பர். இதற்குக் காரணம் ஒளிக்கதிர்களின் அடிக்கட்டுமான மேற்கிடை (Substructive superposition) ஆகும்.



6. எதிர்மறை வேறுபாட்டால் பிம்பம் உருவாகும் பொழுது தடித்த ஈரிணைப் பகுதியுடன் கூடிய எதிர்மறை ஒளிக்கலைத் தட்டு

பயன்படுத்தப்படுகிறது. மைய மற்றும் ஒளிச்சிதைவுக் கதிர்களின் மேற்கிடையால் பிம்பம் தோன்றுகிறது. கதிர்களின் இருகுவகைகள் சேர்க்கப்படுவதால் பிம்ப உருவாக்கம் ஒளி அலைகளின் சேர்க்கை மேற்கிடை (Additive superposition) என அழைக்கப்படுகிறது. கருமையான சுற்றுப்புறப்பகுதியுடன் கூடிய பிம்பம் பிரகாசமாகத் தோன்றுகிறது. இத்தகு பிம்பம் உருவாக்கும் முறையினை எதிர்மறை அல்லது பிரகாச வேறுபாடு என அழைப்பர்.

பிரயோகிப்பு (Application)

1. முன்சிகிச்சை, நிலைப்படுத்துதல், கரையேற்றம் ஆகியன ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு நுண்ணோக்கிக்குத் தேவைப்படுவதில்லை. அதனால், இயல்பான நிலைமையிலேயே செல்கள் தோன்றுகின்றன.
2. மைட்டாஸிஸ் மற்றும் மியாஸிஸின் உண்மையான நிலைகள் அறியப்படுகின்றன.
3. வாழும் புரோட்டோசோவான்கள் மற்றும் பாக்டீரியங்களின் நடத்தையும், இவற்றின் மீது ஏற்படும் வேதி செயல்பாட்டு விளைவுகளும் பார்க்க முடியும்.
4. பேகோசைட்டோஸிஸ், பைனொசைட்டோஸிஸ் போன்றவற்றை வாழும் செல்களிலேயே காணமுடியும்.
5. நுண்ணுயிர் இயக்கம், வடிவமைப்பு, எண்டோஸ்போர் போன்றவற்றைக் கண்டறிய முடியும். பாலி-மெட்டா பாஸ்பேட், சல்பர் மற்றும் பிற பொருட்கள் அடங்கிய உட்கூறுகளைக் காணமுடியும்.

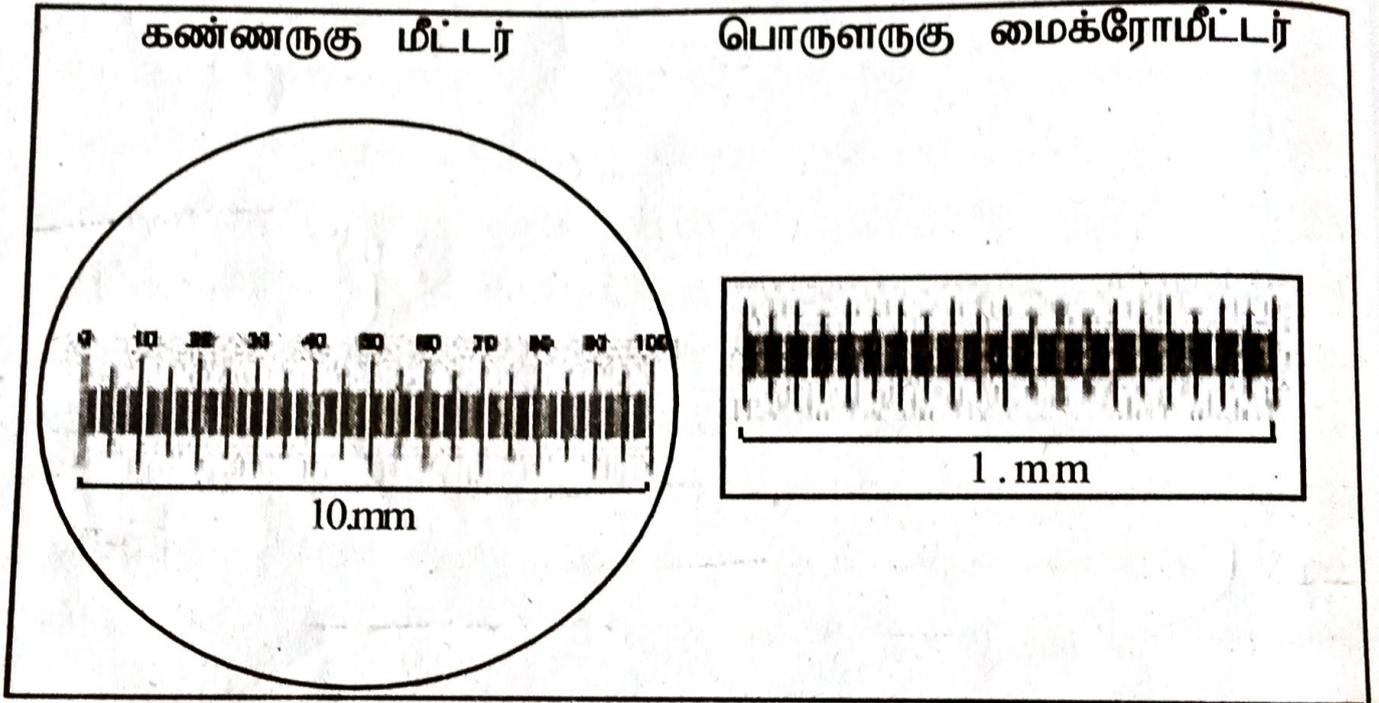
நுண்மமானி (Micrometry)

1. கேமிரா லூசிடா (Camera lucida)

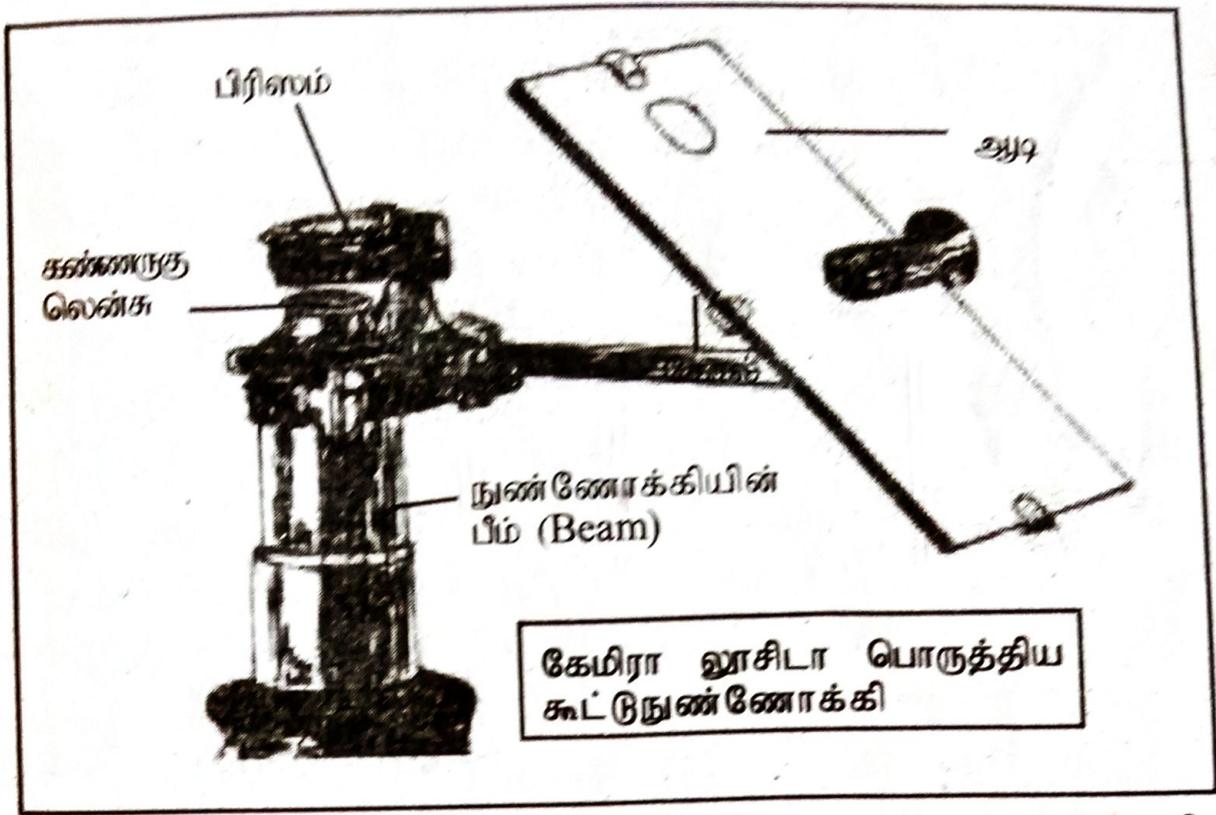
கண்ணாடியின் அடியே வரைவுத்தாள் வைக்கப்படுகிறது. இதே வேளையில் நுண்ணோக்கியின் வாயிலாக இத்தாளினைக் காணமுடியும். அதன் பொருள் யாதெனில், ஒரு பென்சிலை தாளின் மீது வைப்பதையும் அதன் நகர்வையும் நுண்ணோக்கியின் லென்சு மூலம் காணமுடியும். நுண்ணோக்கி உதவியுடன் தாளின் ஒளியை சரிசெய்து கொள்வதால் அத்தாள் பெரிய உருவமாகத் தோன்றாதவாறு பார்த்துக்கொள்ள முடியும். சீர்மையான ஒளி சமநிலையைப் பெறுவதன் மூலம் நல்லவரைவுகள் வரைவது சாத்தியப்படும். இவ்வழியே மிகவும் துல்லியமான வரை பட உருவளவு தயாரிக்க முடியும். கேமிரா லூசிடா உதவி கொண்டு வைக்கப்பட்ட பொருளின் முக்கிய பாகங்களை கவனமாக உருவரைவாக வரைவதன் மூலம் நுண்ணோக்கியில் வைக்கப்பட்ட பொருளின் அளவீட்டினை சரியாகக் காட்ட முடியும்.)

2. நுண்ணோக்கியில் மட்டும் காணக்கூடிய நுண்ணிய உயிர்களின் செல்களை தத்ருபமாகப் படம் வரைந்து காட்டுவதற்கு கேமிரா லூசிடா என்ற உபகரணம் பயன்படுகிறது. இதற்காக கூட்டு நுண்ணோக்கியின் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இந்நுண்ணோக்கியின் மேலே கண்ணருகு லென்சு இருக்கும் இடத்தில் இந்த உபகரணம் பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இந்த உபகரணத்தில் பட்டகையும் (prism) இதைச் சுற்றியவாறு கீழாக ஒரு வளையமும் கொண்டுள்ளது. பிரிஸத்திலிருந்து ஒரு கரம் கிடைமட்டமாக இருப்பதைப் படத்தின் மூலம் காணலாம். இக்கரத்தின் முனை எளிதில் திருப்பத்தக்க ஒரு ஆடியை (Mirror) பற்றிக் கொண்டுள்ளது. ஒளி பிரதிபலிக்கும் பிரிஸப்பரப்பின் மையத்தில் ஒரு சிறு இடத்தைத் தவிர மற்ற இடத்தில் வெள்ளி மூலம் பூசப்பட்டிருக்கும் இப்பிரிசம் கண்ணருகு லென்சுக்கு மேலே பொருத்தப்பட்டுள்ளது.

நுண்ணோக்கியின் வலது புறத்தில் கீழாக ஒரு வெள்ளைத் தாள் வைக்கப்பட்டுள்ளது. இப்பொழுது ஆடியை 45° கோணத்தில் வரையும் வெள்ளைத் தாளினை நோக்கி திரும்பி இருக்குமாறு செய்யப்படுகிறது. தாளிலிருந்து வரும் ஒளி, ஆடியில் பிரதிபலிக்கப்பட்டு பின்பு பிரிஸத்தின் பிரதிபலிப்புப் பரப்பை அடைகிறது. இப்பிரிசம் இந்த ஒளியை பிரதிபலித்து நோக்குபவரின் கண்ணிற்கு திருப்பிவிடுகிறது. கண்ணருகு லென்சுவிடமிருந்து வரும் ஒளி, பிரிசத்தின் பிரதிபலிப்புப் பரப்பில் வெள்ளி முலாம் பூசப்படாத சிறுபகுதியில் புகுந்து, தாளிலிருந்து வரும் ஒளியுடன் இணைந்து நோக்குபவர் கண்ணிற்குச் செல்கிறது. இதனால் பார்ப்பவரின் கண்ணிற்கு வரையப்பட வேண்டிய பொருள் / செல்கள் தாளில் இருப்பது போன்று கண்ணிற்குத் தெரியவரும். அதே வேளையில் அப்பொருளின் மீது பென்சிலை வைத்தால் பென்சிலும் பார்ப்பவர் கண்ணிற்குப் புலப்படும்.



முதலில் நுண்ணுயிர்கள் உள்ள கண்ணாடித்துண்டம் மேடையில் வைக்கப்படுகிறது. பின்பு கேமிர லூசிடா என்ற கருவியை கண்ணரு லென்சுவுக்கு மேலாகப் பொருத்த வேண்டும். நுண்ணோக்கியில் வலப்புறமாக வரைதாளினை வைக்க வேண்டும். தரமிக்க பெனிசிலை தக்கக் கூர்வுடன் பயன்படுத்தினால் மட்டுமே தெளிவான கோடுகள் வரைய முடியும். இப்பொழுது, வலது கையால் படம் வரையும் பொழுது இடது கண்ணால் நுண்ணோக்கியில் நோக்கவேண்டும். வலது தலையை உயர்த்தாமல் கண்ணால் படம் எவ்வாறு வரையப்படுகிறது. என்பதை கண்கூடாகப் பார்க்க முடியும். இம்முறையைப் பின்பற்றுவதன்



முலம் நுண்ணுயிர்கள் / செல்களுக்களின் உருவமைப்புகளை தெளிவாக வரைந்து காட்ட முடியும்.

பொதுவாக காமிரா லூசிடாவை பயன்படுத்தும் பொழுது வரைதாள் ஒளி அளவும் வரையப்பட வேண்டிய உயிரியிலிருந்து வரும் ஒளி அளவும் சமம்படுவதாக இருக்க வேண்டும். எடுத்துக்காட்டாக, நுண்ணுயிர்களிலிருந்து (செல் கூறுகளிலிருந்து) வரும் ஒளி, அதிகளவாக இருப்பின் பெனிசில் முனை கண்ணிற்குத் தெரியாது, அத்துடன் வரைத்தாள் வெகுவாக வெண்மை நிறமாக இருந்தாலும் வரையப்பட வேண்டிய உயிர் பொருட்கள் கண்ணிற்கு தெரியாமல் போய்விடும். உயிர் பொருட்கள் வழியாக வரும் ஒளி மிக அதிகமாக இருப்பின், ஒளி வடிகட்டியைப் பயன்படுத்தி ஒளி அளவைக் குறைக்க வேண்டும்.

2. ஒளி நிறமானி (Heamocytometer)

ஹீமோசைட்டோமீட்டர் என்பது அளவுக்குறியிட்ட நுண்ணோக்கிக் கண்ணாடித்துண்டம் ஆகும். RBC, WBC அணுக்களை எண்ணிக்கணிப்பதற்கு இக்கருவி பயன்படுகிறது. இக்கருவியல் கண்ணாடித்துண்டம், கண்ணாடி வில்லை, RBC, WBC பிப்பெட்டுகள் ஆகியன அடங்கும். இத்துண்டம் ஒரு மைய பிளேட். பார்மைக் (platform) கொண்டுள்ளது. பார்ப்பதற்கு 'H' வடிவப் பள்ளமாகத்தெரியும். ஒவ்வொரு எண்ணும் அறையினை நியுபியிர் எண்ணும் அறை என அழைப்பர். ஒவ்வொரு பக்கத்திலும் 3மி.மீ. அளவுடன் கூடிய சதுர

உருவத்தில் இவ்வறை காணப்படுகிறது. இவ்வறையின் மொத்தப் 9 சதுர மி.மீ. பரப்பளவும் 0.1 மி.மீ ஆழமும் கொண்டிருக்கும். எண்ணும் அறையில் அனுமதிக்கப்படும் எண்ணும் திரவத்தின் மொத்தக் கொள்ளளவு $3 \times 3 \times 0.1 = 0.9 \text{ mm}^3$ (கன சதுர மி.மீ) என்ற அளவிலாக இருக்கும். 1 மி.மீ. என்ற சதுர அளவில், எண்ணும் அறை 9 சதுரங்களாகப் பிரிக்கப்பட்டுள்ளது. மையத்திலுள்ள 1 மி.மீ. சதுரம் மேற்கொண்டும் 25 நடுமைய சதுரங்களாக (medium squares) பிரிக்கப்பட்டுள்ளது. எனவே இதிலுள்ள ஒவ்வொரு சதுரமும் உள்சதுரம் என அழைக்கப்படுகிறது. இந்நடுமைய சதுரம் திரும்பவும் 16 சிறிய சதுரங்களாகப் பிரிக்கப்பட்டுள்ளது. மையத்திலுள்ள 1 மி.மீ சதுரத்தின் நான்கு மூலை நடுமைய சதுரங்கள் (R), RBC க்களை எண்ணுவதற்கு பயன்படுகின்றன. நான்கு மூலையின் 1 மி.மீ. சதுரங்கள் (w), WBC க்களை எண்ணுவதற்குப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. எனவே, WBC எண்ணிக் கைக்கு நான்கு மூலை 1 மி.மீ சதுரங்கள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

RBC பிப்பெட்

RBC க்களை எண்ணுவதற்கு தேவையான இரத்தத்தைச் சேகரிப்பதற்கு RBC பிப்பெட் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இது ஒரு ஹீமோசைட்டோமீட்டரின் பகுதி உபகரணம் ஆகும். இந்த உபகரணத்தில் தந்துகிக்குழாய் மற்றும் இரப்பர் குழாய் பொருந்தியுள்ளன. தந்துகிக்குழாயின் இருமுனைகளும் திறந்து இருக்கும். ஒரு இரப்பர் குழாயுடன் ஒருமுனை இணைக்கப்பட்டுள்ளது. இன்னொரு முனை இரத்தத்தைத் தந்துகிக் குழாயினுள் உறிஞ்சப்பயன்படுகிறது. தந்துகிக் குழாயின் மையம், குமிழாகக் காணப்படும். இக்குமிழில் சிவப்பு நிற மணி (Bead) ஒன்று உள்ளது. இச்சிவப்புமணி RBC பிப்பெட் என்பதை உறுதிப்படுத்த உதவுகிறது. நீர்த்த திரவத்துடன் இரத்தம் கலப்பதற்கும் இச்சிவப்புமணி உதவுகிறது.

இத்தந்துகிக் குழாய் மூன்று அளவுக்குறியீடுகளைக் கொண்டுள்ளது. அவையாவன, 0.5 என்ற குறி நுனியிலும் 1 என்ற குறி குமிழுக்குச் சற்று கீழேயும் 101 என்ற அளவீட்டுக் குறி குமிழுக்குச் சற்று மேலேயும் காணப்படும். எண்ணுவதற்காக, 200 மடங்கு நீர்த்தல் அளவில் இரத்தத்தை இந்த RBC பிப்பெட் தருகிறது.

செவ்வணுக்களை எண்ணுவதற்கான செயல்முறை

ஸ்பிரிட்டில் தொய்த்த பஞ்சவால் துடைப்பதன் மூலம் கட்டுவிரலின் (index finger) நுனி, நுண்ணுயிரகற்றம் செய்யப்படுகிறது. நுண்ணுயிரகற்றிய குண்டுசி அல்லது ஊசியின் உதவியால் அந்நுனியில் இலேசாகக் குத்தப்படுகிறது. பின்பு, இவ்விரல் நுனி அழுத்தப்படுகிறது. எனவே, குத்திய இலக்கிலிருந்து இரத்தம் கசிந்து வெளிவரும். தக்க பஞ்சின் உதவியால் முதலில் கசிந்த இரத்தத்துள்ளி துடைத்தகற்றப்படுகிறது. பின்பு RBC யினுள் 0.5 குறிகள் வரை கசியும் இரத்தம் உள்ளிழுக்கப்படுகிறது. கட்டை விரலுக்கும் ஆள்காட்டி விரலுக்கும் இடையே பிப்பெட் சுழலற்றவிடப்படுகிறது. இதன் மூலம் 1:200 என்ற அளவிலான நீர்த்தலைக் கொடுக்கிறது.

இதன் பிறகு, எண்ணும் அறையும் கண்ணாடி வில்லையும் கழுவி சுத்தம் செய்யப்படுகின்றன. இலேசான அழுத்தம் கொடுத்து கோடிட்ட பகுதிக்கு மேலாக நிலையமைவில் கண்ணாடி வில்லை வைக்கப்படுகிறது. பிப்பெட்டை கிடைமட்ட அமைவில் ஒரு நிமிடத்திற்கு அப்படியே பிடித்து சுழலச் செய்வதால் அந்தரமயக்கரைசல் (Suspension) நன்கு கலப்பு அடைகிறது. இறுதியாக, இப்பிப்பெட்டை பக்கவசமாக குலுக்க வேண்டும். பிப்பெட்டின் தண்டிலிருந்த (Stem) திரவம் வெளியேற்றவேண்டும். இதற்காக, உடனடியாக 45° கோணத்தில் பிப்பெட்டைப் பிடித்துக்கொண்டு எண்ணும் அறையில் இத்திரவத்தை நிரப்பவேண்டும். அப்பொழுது கண்ணாடிவில்லை ஓரத்திற்கு எதிரான நுனியை இலேசாக தொட்டுக் கொண்டே இருக்க வேண்டும். இந்த அந்தரமயக் கரைசல் இருபக்கங்களின் அகழிக்குள் (moats) பரவாமல் பார்த்துக் கொள்வதுடன் கண்ணாடி வில்லையின் அடியே குமிழி உருவாகாமலும் பார்த்துக்கொள்ள வேண்டும். இந்நிலையில், இந்நீர்த்த கசைலிலுள்ள இரத்த சிவப்பு அணுக்கள் (RBC) மூன்று நிமிடங்களில் படிவதற்கு அனுமதிக்க வேண்டும். 80சிறிய சதுரங்களில் உள்ள RBC க்கள் எண்ணப்படுகின்றன. (நான்கு மூலைகளின் உள்ள 4 சதுரங்கள் மற்றும் மையப்பகுதியில் உள்ள நடு சதுரம்) வலது கை கோடுகளும், (செல்களும்) அடிப்பகுதியைத் தொட்டுக்கொண்டும் RBC க்களை எண்ணக் கூடாது. ஆனால் இடது கை கோடுகளும் மேற்பகுதியைத் தொட்டுக்கொண்டும் செல்களை எண்ண வேண்டும்.

அ) கணக்கீடு குறுக்கு வழிமுறை

80 சிறிய சதுரங்களில் உள்ள

செல்களின் மொத்த எண்ணிக்கை = 423

நான்கு பூஜ்யம் சேர்க்கை = 4230000

எனவே, ஒருகன சதுர மில்லி மீட்டரில்

உள்ள மொத்த RBC க்கள் = 4230000

ஆ) விவரமான முறை = 4.23 மில்லியன்/கனசதுரமி.மீ

ஒரு சிறு சதுரத்தின் பரப்பளவு = 1/4000 ச.மி.மீ

எண்ணும் அறையின் ஆழம் = 1/10 மி.மீ

எனவே, சிறு சதுரத்தின் கொள்ளளவு = 1/400 x 1/10

= 1/4000 கனசதுர மி.மீ

இரத்தத்தின் நீர்த்தல் = 1/200

மொத்த RBC க்கள் = $\frac{423 \times 4000 \times 200}{80 \times 1 \times 1} = 42,30,000$ per

இயல்பான எண்ணிக்கைகள் 80x1x1 c.m.m

(ஒரு கனசதுர மி.மீ-ல்) ஆண் 4.5 - 6.5 மில்லியன்

RBCக்கள்

இயல்பான எண்ணிக்கைகள்

(ஒரு கனசதுர மி.மீ-ல்) பெண் 3.9 - 5.6 மில்லியன் RBCக்கள்

WBC பிப்பெட்

WBC யை எண்ணுவதற்காக தேவைப்படும் இரத்த அளவைக் சேகரிப்பதற்கு WBC பிப்பெட் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இதுவும் ஹீமோசைட்டோமீட்டரின் ஆக்கக் கூறு ஆகும். இந்த உபகரணத்திலும் தந்துகிக் குழாய் மற்றும் இரப்பர் குழாய் உள்ளன.

தந்துகிக் குழாயின் இரு முனைகளும் திறந்திருக்கும். ஒருமுனை இரப்பர் குழாயுடன் இணைந்திருக்கும். இன்னொரு முனை இரத்தத்தை உள்ளிழுக்கப் பயன்படுகிறது. தந்துகிக் குழாயின் நடுவில் குமிழி ஒன்று உள்ளது. இக்ககுமிழியில் வெள்ளை மணி (White bead) உள்ளது. இம்மணியின் மூலம் WBC என கண்டறியப்படுகிறது.

இத்தந்துகி மூன்று அளவுக் குறியீடுகளைக் கொண்டுள்ளது. அவையாவன 0.5 என்ற குறி நுனியிலும் 1 என்ற குறி குமிழுக்குச் சற்று கீழேயும் 101 என்ற அளவீட்டுக்குறி குமிழுக்குச் சற்று மேலேயும் காணப்படும். எண்ணுவதற்காக, WBC 20 மடங்கு நீர்த்தலை WBC பிப்பெட் தறுகிறது.

கணக்கீடு

அ) குறுக்கு வழிமுறை

4 சதுரங்களில் எண்ணப்பட்ட செல்களின்

மொத்தத் தொகை = 104 செல்கள்

இதனை 2ல் வகுக்க = 104 % 2 = 52

இரு பூஜ்யங்கள் சேர்க்க

(ஒரு கனசதுர மி.மீ-ல்) = 5200 செல்கள்

ஆ) விவரமான முறை

நான்கு மூலைகளில் எண்ணப்பட்ட

WBC க்களின் எண்ணிக்கை = 104 செல்கள்

சதுரத்தின் கொள்ளளவு = 1/10.மி.மீ

இரத்தம் நீர்த்தலின் அளவு = 1/20

எனவே, நீர்த்தல் செய்யாத இரத்தத்தின் = $\frac{104 \times 10 \times 200}{4}$

ஒரு கனசதுர மி.மீட்டரில் உள்ள

செல்களின் எண்ணிக்கை

= 5200 செல்கள்

(ஒரு கனசதுரமி.மீ-ல்)

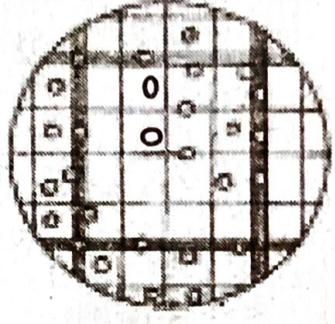
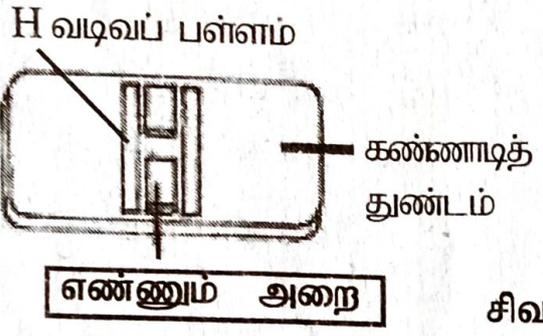
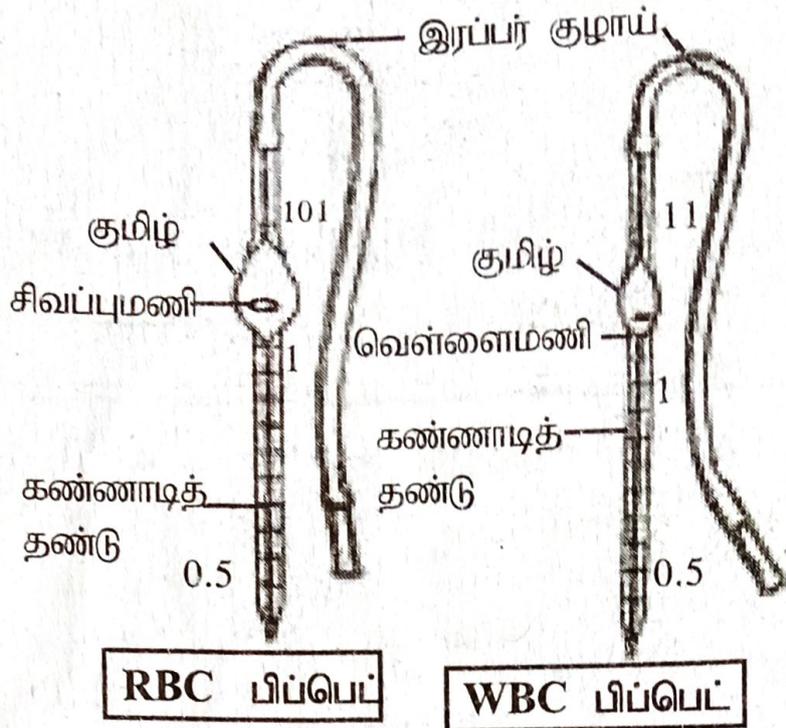
இயல்பான அளவு ஒரு கனசதுர மி.மீ

இருசகன சதுரமி.மீ. இரத்தத்தில் உள்ள

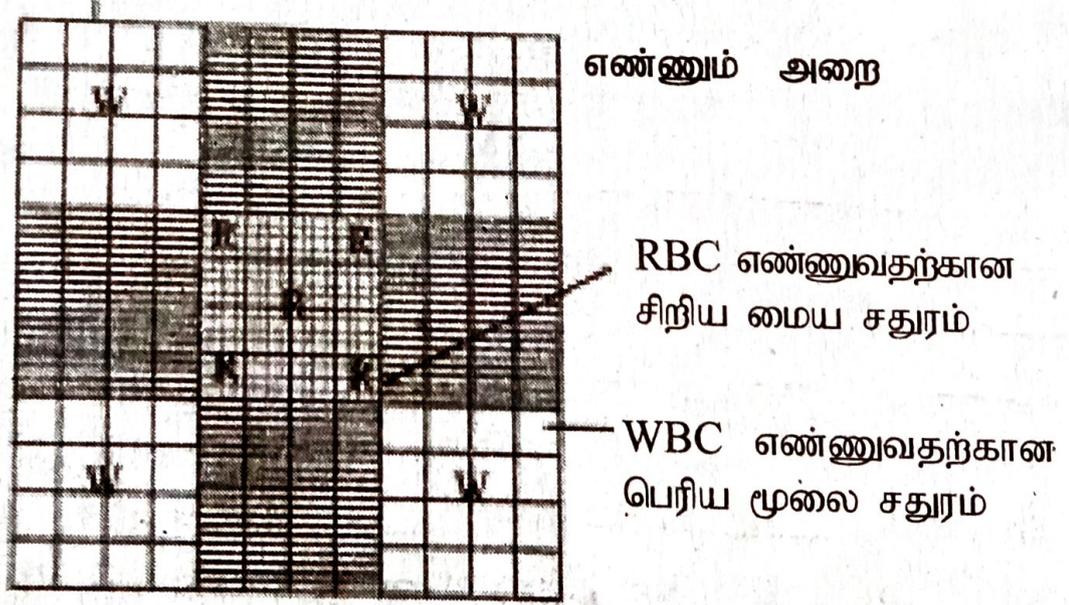
WBC அளவு உள்ள = 4000-10,000

WBC (லியூகோசைட்டுகள்) எண்ணிக்கைக்கான செய்முறை

WBC பிப்பெட்டிலுள்ள 0.5 குறியீடுவரை இரத்தம் உள்ளிழுக்கப்பட்டு RBC எண்ணுதலில் விவரிக்கப்பட்டது போல WBC திரவத்தால் 11ம் குறியீடுவரை நீர்த்தல் செய்யப்படுகிறது. எண்ணும் அறையையும் இதே முறையில் நிரப்பப்படுகிறது. குறைவாற்றல் பொருளருகு லென்சு மற்றும் நடுவே ஒரு கண்ணருகு லென்சுவைப் பயன்படுத்தி நான்கு மூலைத் தடுப்புகளில் உள்ள செல்கள் எண்ணப்படுகின்றன. செல்களின் எண்ணிக்கையில், வலது பக்கமாகவும் சற்று மேலாகவும் அமைந்த உள் வரிசைகளைத் தொட்டுக் கொண்டுள்ள செல்கள் இவ்வெண்ணிக்கையில் அடங்கும் ஆனால், இடது பக்கமும் சற்று அடியமைந்த வரிசைகளைத் தொட்டுக்கொண்டுள்ள செல்களை எண்ணக் கூடாது. இரு சதுர மில்லி மீட்டருக்கு இடையே காணும் வேறுபாடு 10WBC க்களுக்கு மிகையாக இருக்கக் கூடாது.



சிவப்புச்செல் எண்ணிக்கைக்குரிய 1மிமீ. சதுரத்தில் சிறிய சதுரங்கள் (மிகவும் பெரிதுபடுத்தியது)



ஹீமோசைட்டோமீட்டர்