

บทปฏิบัติการที่ 1

กล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์เป็นอุปกรณ์ที่จำเป็นและสำคัญสำหรับการศึกษากายวิภาคศาสตร์ เพราะกล้องจุลทรรศน์ช่วยให้เห็นและทราบรายละเอียดต่างๆ ของวัตถุตัวอย่างที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ภาพที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light compound microscope) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการสามารถขยายภาพได้ 10 ถึง 1000 เท่า

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ผู้ศึกษา

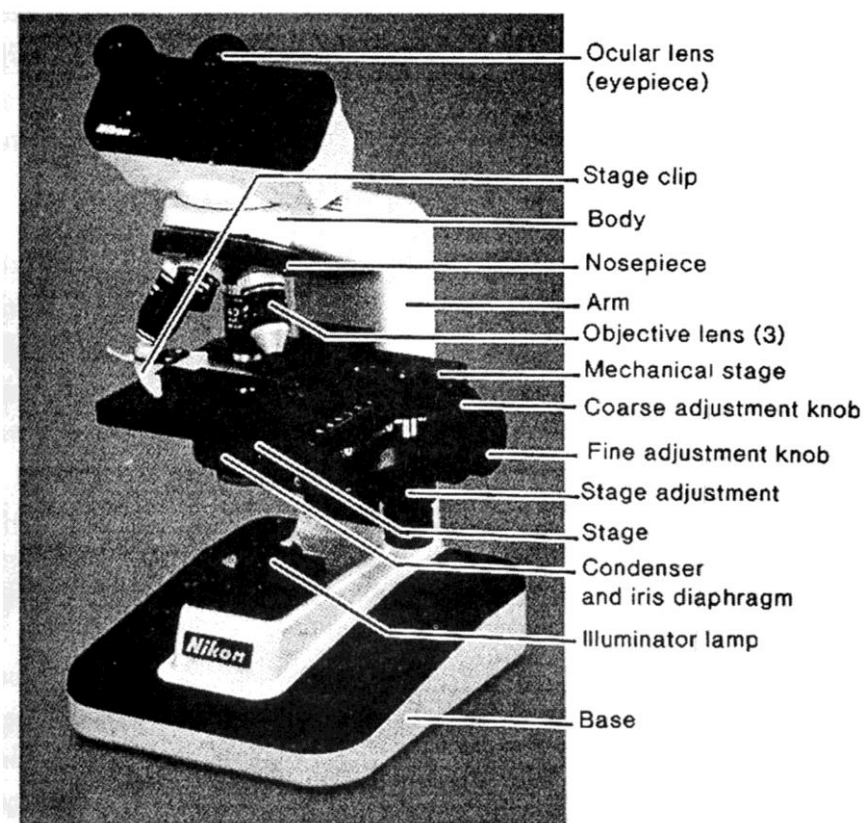
1. บอกชื่อและอธิบายการทำงานของส่วนประกอบต่างๆ ของกล้องจุลทรรศน์ได้อย่างถูกต้อง
2. สามารถใช้หรือแสดงการใช้ส่วนต่างๆ ดังต่อไปนี้ได้อย่างถูกต้อง
 - การปรับโฟกัส
 - การเตรียมสไลด์สด
 - คำนวณกำลังขยายได้ถูกต้อง
 - สรุปลงและเขียนภาพ จากภาพที่เห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์
 - ทำความสะอาดกล้องจุลทรรศน์และจัดเก็บรักษาได้ถูกวิธี

เนื้อหา

กล้องจุลทรรศน์โดยทั่วไปประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้ (ภาพที่ 1)

1. ฐาน (Base) ฐานของกล้องจุลทรรศน์มีลักษณะแตกต่างกันไปในแต่ละรุ่นและโมเดล เช่น อาจจะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ลักษณะคล้ายเกือกม้า เป็นต้น
2. กระจกสะท้อนแสง (Mirror) เป็นกระจกสองหน้า หน้าหนึ่งแบนราบ อีกหน้าหนึ่งเว้าเล็กน้อย ทำหน้าที่สะท้อนแสงให้ผ่านวัตถุตัวอย่างเข้าสู่เลนส์วัตถุ กล้องจุลทรรศน์รุ่นใหม่ ๆ มีหลอดไฟฟ้าแทนกระจก เมื่อเปิดไฟของกล้องแสงจะส่องผ่านวัตถุตัวอย่างสู่เลนส์วัตถุได้โดยตรง
3. เลนส์รวมแสง (Condenser) เป็นชุดเลนส์รวมแสงเพื่อให้เกิดความเข้มของแสงมาก สามารถปรับ condenser ได้โดยหมุน adjustment knob ให้เคลื่อนขึ้น - ลง เพื่อให้แสงเข้าไปได้พอเหมาะกับวัตถุตัวอย่างที่ต้องการศึกษา
4. ไอร์ริสไดอะแฟรม (Iris diaphragm) ใช้สำหรับเปิด - ปิด เพื่อให้แสงเข้าได้มากน้อยตามความเหมาะสม โดยใช้ก้านเล็กๆ ทางด้านข้างของชุดไดอะแฟรม
5. แท่นวางวัตถุตัวอย่าง (Stage) ลักษณะเป็นแท่นสี่เหลี่ยม ตรงกลางมีช่องสำหรับให้แสงผ่านขึ้นมาจาก condenser เข้าสู่เลนส์วัตถุ

6. คลิปจับแผ่นสไลด์ (Spring clip) มี 2 แบบ แบบหนึ่งเป็นแผ่นโลหะบาง 2 แผ่น มีก้านสำหรับยึดกับแท่น ทำหน้าที่กดแผ่นสไลด์ให้อยู่กับที่ อีกแบบหนึ่งเป็นชุดมีที่จับสไลด์ (Stage clip) และมีอุปกรณ์สำหรับเคลื่อนสไลด์ไปทางด้านซ้าย ขวา หน้า หลัง โดยมี ล้อหมุนทำให้สามารถเคลื่อนสไลด์ดูภาพตัวอย่างได้สะดวก
7. แขน (Arm) เป็นส่วนของกล้องที่อยู่ระหว่างแท่นวางวัตถุกับส่วน body tube ของกล้อง
8. เลนส์วัตถุ (Objective lens) เลนส์วัตถุมีเป็นชุดประกอบด้วย 3-4 อัน แต่ละอันมีกำลังขยายต่างกัน เช่น 4x, 10x, 40x และ 100x หมายถึงเลนส์ดังกล่าวมีกำลังขยายเป็น 4 เท่า 10 เท่า 40 เท่า และ 100 เท่า ตามลำดับ (เฉพาะ 100x ต้องหยด immersion oil ลงบนสไลด์ แล้วปรับโฟกัสให้เห็นภาพต่อไป)
9. รีโวลวี่งโนสพีซ (Revolving nose piece) ลักษณะเป็นแผ่นตรง มีเลนส์วัตถุติดอยู่ สามารถหมุนได้รอบ เพื่อเปลี่ยนเลนส์วัตถุที่กำลังขยายต่างๆ ตามต้องการ
10. ลำกล้อง (Body tube) เป็นท่อตรงอยู่ระหว่าง revolving nose piece กับเลนส์ใกล้ตา หรือ ocular lens ความยาวลำกล้องแต่ละรุ่นยาวไม่เท่ากัน บางรุ่นอาจอยู่ในแนวตั้งบางรุ่นอยู่ในแนวเอียง
11. เลนส์ใกล้ตา (Ocular หรือ Eye piece) เป็นส่วนที่ดูภาพจากกล้องจุลทรรศน์ สวมอยู่ที่ปลายด้านบนของ body tube ถอดเปลี่ยนได้ การใช้จึงต้องระวังหลุดหล่น โดยเฉพาะถ้าถือกล้องเอียง กล้องบางรุ่นมีเลนส์ใกล้ตา 2 อัน เรียกว่า binocular สามารถปรับความห่างของเลนส์ 2 อัน ให้เหมาะสมกับความห่างของตาแต่ละคนได้
12. ล้อหมุนปรับโฟกัส (Adjustment knob) มี 2 ชุด อาจจะอยู่แกนเดียวกันหรือต่างแกนกันประกอบด้วย
 - 12.1 Coarse adjustment knob ล้อปรับโฟกัสหยาบ เมื่อหมุนล้อชุดนี้ทำให้การปรับโฟกัสได้เร็ว อาจจะทำให้เกิดโดยแท่นวางวัตถุเคลื่อน แต่บางรุ่นชุดเลนส์วัตถุเคลื่อน
 - 12.2 Fine adjustment knob ล้อปรับโฟกัสละเอียด เมื่อหมุนล้อโฟกัสชุดนี้แท่นวางวัตถุหรือชุดเลนส์วัตถุเคลื่อนที่ได้ช้ามาก ปกติจะใช้ปรับเพื่อให้เห็นภาพคมชัด หรือในขณะที่ใช้เลนส์กำลังขยาย 40 เท่า หรือ 100 เท่า



ภาพที่ 1 ภาพแสดงส่วนต่าง ๆ ของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

กิจกรรมนักศึกษา

1. ทำแบบทดสอบก่อนเรียน
2. แบ่งกลุ่มประมาณ 5-6 คน
3. ศึกษาหน้าที่การทำงานของส่วนประกอบต่างๆ ของกล้องจุลทรรศน์
4. ปฏิบัติการทดลองการใช้กล้องจุลทรรศน์และเตรียมสไลด์สดเป็นรายบุคคล
5. สรุปรายงานผลการทดลองและนำเสนอ
6. ทำแบบฝึกหัด
7. ทำแบบทดสอบหลังเรียน

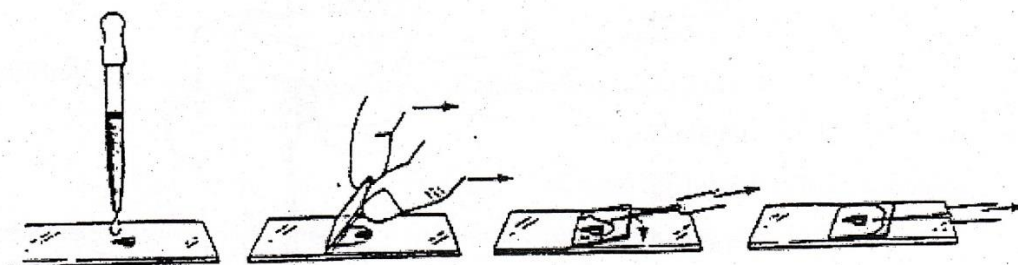
อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์
2. สไลด์และ coverslip
3. ตัวอย่างวัตถุที่ต้องการศึกษา
4. หลอดหยดสาร
5. พู่กันเบอร์ 3 หรือ เข็มเขี่ย ไข่มดโกน
6. ตัวอย่างสไลด์ถาวรต่างๆ

วิธีการทดลอง

การเตรียมสไลด์สด โดยวิธี wet mount

1. นำตัวอย่างที่เป็นสิ่งมีชีวิต เช่น สาหร่าย หรือใบไม้ ตัดออกเป็นชิ้นเล็กๆ หรือนำจากลำคลองที่มีสาหร่ายขนาดเล็กใส่ในปิ๊งเกอร์
2. หยดน้ำที่มีตัวอย่าง สาหร่าย หรือโปรโตซัว ลงบนสไลด์ที่สะอาด ถ้าตัวอย่างมีขนาดใหญ่พอที่เห็นได้ด้วยตาเปล่า ให้หยดน้ำลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันหรือเข็มเขี่ยตัวอย่างลงบนหยดน้ำ
3. ปิดด้วย coverslip โดยค่อยๆ เอียงลงเล็กน้อย ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ภาพแสดงลำดับการเตรียมสไลด์

จับขอบ coverslip วางให้ขอบด้านหนึ่งแตะกับหยดน้ำ สังเกตว่าเมื่อน้ำแผ่ไปตลอด ความยาวของขอบ coverslip แล้วค่อยๆ เอียงลงเล็กน้อย ใช้เข็มเขี่ยหรือพู่กันประคอง coverslip ไว้ ค่อยๆ หย่อนลงจนปิดสนิท ถ้าทำได้ถูกต้องและดี จะปิดสนิท ไม่มีฟองอากาศอยู่ภายใต้ coverslip

การใช้กล้องจุลทรรศน์

1. วางกล้องจุลทรรศน์ให้ตรง ห่างจากโต๊ะพอประมาณ หมุนกระจกให้รับแสงและสะท้อนเข้าสู่ช่องที่แทนวางวัตถุตัวอย่าง สำหรับกล้องบางรุ่นใช้แสงจากหลอดไฟ เมื่อเปิดสวิตช์ไฟแสงจะผ่านเข้าสู่ช่องวางวัตถุโดยตรง
2. หมุน revolving nose piece ให้เลนส์วัตถุกำลังขยายต่ำสุดอยู่ในตำแหน่งใกล้วัตถุตัวอย่างมากที่สุด (เมื่อหมุนตรงกับตำแหน่งพอดี จะมีปุ่มเล็กๆ กดลงในร่องรองรับที่บริเวณฐานของเลนส์วัตถุ)
3. ให้ลองหมุน condenser ขึ้นจนอยู่ในตำแหน่งสูงสุด แล้วค่อยๆ หมุนให้เลื่อนลงช้าๆ ประมาณ 3 มิลลิเมตร หรือเลื่อนให้ได้ตำแหน่งที่รวมวัตถุตัวอย่างมากที่สุด
4. ให้ลองปรับ iris diaphragm โดยเปิดให้กว้างมากที่สุดก่อน สังเกตปริมาณที่ผ่านเข้าทาง ocular แล้วค่อยๆ ปิดลงช้าๆ จนเหลือประมาณ 3 ใน 4 ให้สังเกตว่าปิดลงขนาดใดจึงมีสภาพแสงเหมาะสม โดยสังเกตได้ว่า เมื่อดูจาก ocular แล้วไม่รู้สึกเคืองตา
5. นำสไลด์ที่เตรียมไว้ วางลงบนแท่นวัตถุจับด้วยคลิปให้เรียบร้อยเลื่อนให้สไลด์ตัวอย่างที่จะศึกษาอยู่ตรงที่แสงส่องขึ้นมาจาก condenser

6. ให้มองด้านข้างของเลนส์วัตถุ หมุนล้อโฟกัสหยาบจนเลนส์วัตถุอยู่ห่างจากสไลด์ 1-2 มิลลิเมตร
7. เปลี่ยนมาดูผ่านทาง ocular (ให้พยายามฝึกลมองโดยลึบตาทั้งสองข้างเพื่อป้องกันไม่ให้เกร็ง กล้ามเนื้อใบหน้า กล้ามเนื้อตา ไม่เช่นนั้นแล้วจะปวดเมื่อยลูกนัยน์ตา) ค่อยๆ หมุนล้อโฟกัสหยาบให้เลนส์วัตถุห่างออกจากสไลด์ช้าๆ จนเห็นภาพ แล้วเปลี่ยนมาหมุนโฟกัสละเอียดจนเห็นภาพชัดเจน และให้ลองหมุนต่อไปอีกเล็กน้อย จะเห็นภาพคมชัดอีกลักษณะหนึ่งและเห็นได้หลายระยะ
 - ภาพที่เห็นชัดจนครั้งแรกคือผิวด้านบนสุดของวัตถุตัวอย่าง
 - ภาพที่คมชัดครั้งต่อมาคือตำแหน่งที่ลึกลงไป
 - ภาพที่เห็นชัดจนครั้งสุดท้ายคือส่วนที่อยู่ล่างสุดของวัตถุตัวอย่างที่กำลังศึกษา
8. เมื่อเห็นภาพคมชัดแล้วให้ลองเลื่อนสไลด์ไปทางซ้าย ให้สังเกตภาพเคลื่อนไปทางทิศใด แล้วลองเลื่อนสไลด์ไปทางขวา ให้สังเกตอีกครั้งว่าภาพเคลื่อนไปทางทิศใด
9. ขนาดของภาพที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์เป็นภาพที่ขยายขึ้นจากขนาดวัตถุ คำนวณได้จากค่ากำลังขยายของเลนส์วัตถุ \times กำลังขยายของ ocular ดังตัวอย่างต่อไปนี้

กำลังขยายของเลนส์วัตถุ	กำลังขยายของ ocular	ขนาดของภาพที่ขยาย
4x	10x	40x
10x	10x	100x
40x	10x	400x
100x	10x	1000x

ทดลองใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100x โดยเริ่มจากเลื่อนเลนส์วัตถุ 10x ออกจากตำแหน่งที่รับแสงหรือตำแหน่งที่ดูภาพ แล้วหยด immersion oil ลงบนสไลด์ แล้วเปลี่ยนเป็นเลนส์วัตถุ 100x ให้เข้าสู่ตำแหน่งรับแสงดูภาพทาง ocular ใช้ล้อปรับภาพละเอียดเท่านั้น จนเป็นภาพชัดเจน ให้เปรียบเทียบความละเอียดของภาพที่เห็นกับภาพที่เห็นในขณะที่ใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 40x

คำแนะนำการทดลอง

1. การเคลื่อนย้ายกล้องจุลทรรศน์ให้ใช้มือหนึ่งจับส่วนแขนของกล้อง ส่วนอีกมือหนึ่งรองที่ใต้ฐานของกล้อง ให้ตัวกล้องตั้งตรงและนำเข้าชิดลำตัว
2. การรักษาความสะอาดของกล้องจุลทรรศน์ ก่อนนำไปเก็บจะต้องทำความสะอาดเช็ดให้แห้ง เช็ดเลนส์ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์และน้ำยาทำความสะอาดเลนส์เท่านั้น
3. การระวังในขณะที่ปรับโฟกัส ถ้าเป็นเลนส์กำลังขยาย 40x และ 100x ก่อนจะหมุนล้อปรับโฟกัสให้ดูทางด้านข้าง (ยังไม่ดูทาง ocular) หมุนล้อปรับโฟกัสหยาบช้าๆ จากนั้นจึงดูผ่าน ocular และหมุนล้อปรับละเอียดจนเห็นภาพชัดเจน

4. ขั้วระวางก่อนที่จะวางสไลด์ลงบนแท่น ให้ตรวจสอบให้แน่ใจว่าได้เช็คทำความสะอาดด้านล่างจนแห้งแล้วและวางสไลด์โดยให้แผ่น coverslip อยู่ด้านบนเสมอ
5. การเก็บกล้องจุลทรรศน์ หมุนให้เลนส์กำลังขยายต่ำสุดอยู่ในตำแหน่งที่ใช้ดูภาพ ปิด iris diaphragm หมุนล้อโฟกัสให้แท่นวางสไลด์ลงมาอยู่ในตำแหน่งต่ำสุด นำเข้าเก็บในที่กำหนด ใช้ถุงพลาสติกคลุมกล้อง
6. กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้หลอดไฟฟ้าเป็นต้นกำเนิดแสง เมื่อหยุดดูหรือหยุดส่องทุกครั้งให้ปิดสวิตช์เพื่อรักษาอายุหลอดให้สามารถใช้งานได้ยาวนานและยังเป็นการประหยัดไฟฟ้าอีกด้วย

การวัดผลและการประเมินผล

1. สังเกตจากการปฏิบัติการทดลอง
2. การนำเสนอรายงานผลการทดลอง
3. การทำแบบฝึกหัด
4. การตรงต่อเวลาและความรับผิดชอบ
5. การรักษาความสะอาดของห้องปฏิบัติการ และการดูแลรักษาอุปกรณ์
6. การทดสอบก่อนเรียนและหลังเรียน

รายงานผลการทดลอง

เรื่อง กล้องจุลทรรศน์

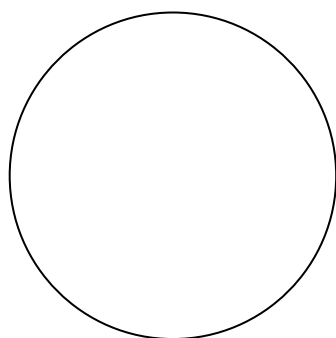
หมู่เรียน.....กลุ่มพื้นฐาน.....โปรแกรมวิชา.....กลุ่มปฏิบัติการที่.....

ชื่อผู้รายงาน 1.....รหัส.....
 2.....รหัส.....
 3.....รหัส.....
 4.....รหัส.....
 5.....รหัส.....
 6.....รหัส.....

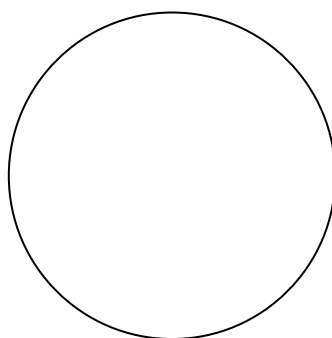
วันที่ทำการทดลอง.....

จากการทดลองให้นักศึกษาดำเนินการต่อไปนี้

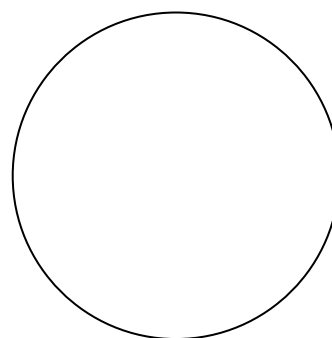
1. ให้นักศึกษาวาดภาพที่เห็นจากการใช้เลนส์ 10x แล้วให้ลองเปลี่ยนเลนส์วัตถุที่กำลังขยาย 4x เป็น 10x และ 40x แล้วปรับโฟกัสให้เห็นภาพคมชัดด้วยปุ่มปรับภาพละเอียด แล้ววาดภาพที่เห็น



4X



10X



40X

2. ให้นักศึกษาเปรียบเทียบขนาดของภาพ ขอบเขตของภาพที่เห็นภายในวงกลม เมื่อใช้เลนส์กำลังขยายต่าง ๆ กัน และให้สังเกตระยะระหว่างเลนส์วัตถุกับสไลด์ ระยะที่สั้นที่สุดเมื่อใช้เลนส์วัตถุกำลังขยายใด และกำลังขยายใดที่ระยะยาวที่สุด

.....

แบบฝึกหัด

จงตอบคำถามต่อไปนี้

1. เมื่อเปิด iris diaphragm กว้างที่สุดกับเมื่อปิดให้เล็กลง แสงที่ผ่านเข้าสู่ภาพมีปริมาณหรือความเข้มต่างกันหรือไม่อย่างไร

.....

.....

2. เมื่อหมุนล้อโฟกัสหยาบจะต้องดูด้านข้างของเลนส์ เพราะเหตุใด

.....

.....

3. การดูภาพทาง Ocular แม้ว่าจะเป็นกล้องแบบ Monocular ให้ลืมตาทั้งสองข้าง เพราะเหตุใด

.....

.....

4. เมื่อเลื่อนสไลด์ไปทางซ้ายมือ ภาพที่เห็นเลื่อนไปทางทิศใด เมื่อเลื่อนสไลด์ไปทางขวามือ ภาพที่เห็นเคลื่อนไปทางทิศ

ใด.....ถ้าเช่นนั้นภาพที่เราเห็นจากกล้องจุลทรรศน์เป็นภาพชนิดใด.....

5. เมื่อใช้เลนส์กำลังขยาย 10x ภาพที่เห็นชัดเจบดีแล้ว เมื่อเปลี่ยนเป็นเลนส์กำลังขยาย 40x โดยยังไม่ปรับโฟกัสภาพยังคงชัดเช่นเดิมหรือไม่อย่างไร

.....

.....

6. เมื่อเปลี่ยนเลนส์กำลังขยายมากขึ้น ขอบเขตและรายละเอียดของภาพเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมอย่างไรบ้าง

.....

.....

7. ตัวอย่างที่นำมาศึกษาจะต้องหยดน้ำด้วย เพราะเหตุใด

.....

.....