

MİKROSKOP VE KULLANIMI

Mikroskop, çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük canlı veya cansız maddeleri incelememizi sağlayan optik bir araçtır. Küçük objeleri görmeye gözün görme sınırlarını genişletici bir rol oynar. Ökaryotik organizmalar ve bakteriler mikrometre, virüsler nanometre, atom ve moleküller de angstrom olarak ölçülmektedir.

1 mm = 1000 µm (mikrometre)

1 µm = 1000 nm (nanometre)

1 nm = 1000 Å (angstrom)

İnsan gözü 200–250 µm'den daha büyük olan nesnelere görebilir. Bu limitlerin altındakileri göremez. Bu nedenle, daha küçük cisimleri veya canlıları görmeye ve bunlar hakkında bilgi edinmeye mikroskop kullanma zorunluluğu vardır.

Mikroskop Çeşitleri

Çeşitli amaçlar için kullanılan; ışık mikroskobu, karanlık alan (saha) mikroskobu, faz kontrast mikroskobu, floresan mikroskobu ve elektron mikroskobu olmak üzere beş mikroskop grubu bulunur.

İŞIK MİKROSKOBU

En yaygın kullanılan ve en basit yapıya sahip olan mikroskop çeşididir. Bitkilerin çiçek, yaprak ve diğer yapıları, böceklerin vücut ve organelleri ile cansız materyallerin (toprak, yem, maden vb.) incelenmesinde çok kullanılır. Işık mikroskobu çeşitlerinden olan stereo mikroskoplar özellikle gözle görülebilen cisimlerin daha ayrıntılı ve üç boyutlu görüntülerinin incelenmeleri amacıyla kullanılır.

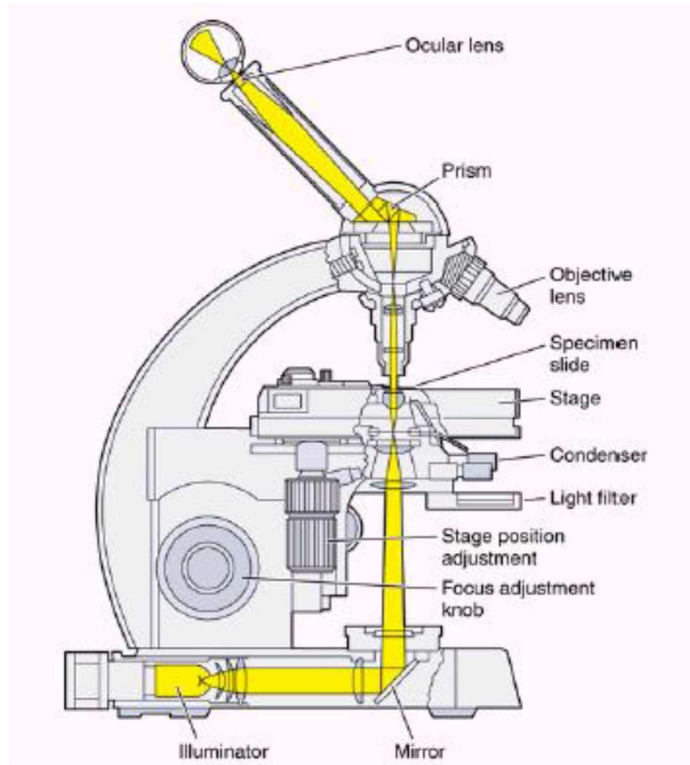
Işık mikroskopları mekanik, optik ve aydınlatma kısımlarından oluşur.

Mekanik kısım: oküler ve objektifleri taşıyan tüp, mikroskobu tutmaya yarayan kol, preparatı koymak için tabla ve mikroskobun zemine oturmasını sağlayan ayak (taban) oluşturur. Mikroskopları tutmaya ve kaldırmaya yarayan kol yarım ay veya düz bir şekilde olabilir. Aynı zamanda kol üzerinde bulunan makro ve mikrometre düğmeleri objeyi tüpe (veya tüpü objeye) yaklaştırır veya uzaklaştırır. Mikroskop tablası yuvarlak veya dört köşe olup üzerine preparat konur. Bazılarında tabla, yanlardaki düğmeler tarafından hareket ettirilmesine karşın bir kısmında da sabit olup objeyi hareket ettirmek için özel sürgü (şaryo) tertibatı bulunur. Bazı mikroskoplarda tabla sabittir, bir kısmında da aşağı yukarı inip çıkabilir. Bazı mikroskoplarda ayak içinde aydınlatma tertibatı bulunur.

Optik Kısım: Objektif ve okülerden meydana gelir. Mikroskobun en önemli kısmıdır.

Objektif: Optik kısmın objeye en yakın bölümünü oluşturan objektifler, mikroskop tüpünün altına yerleştirilmiş ve orta eksen etrafında dönebilen bir tablaya (revolver) vidalanmıştır. Farklı büyütme kapasitelerine sahip olup birçok mercekte meydana gelmiştir. Sayıları 4-5 adet olabilir. Üzerlerinde büyütme oranlarını bildiren 4x, 10x, 40x, 100x gibi rakamlar bulunur. 100x'lik objektif, preparat ile objektif arasına immersiyon yağı (sedir yağı) damlatılarak kullanılır. Bu nedenle immersiyon objektifi olarak da adlandırılır.

Oküler: Optik kısmın gözle bakılan ve tütün üst kısmına konulan parçasını oluşturur. Görevi objektif tarafından oluşturulan obje görüntüsünü büyütme ve objektifin bazı hatalarını düzeltmektir. Alt ve üst olmak üzere çift merceklidir, üzerinde 5x, 10x, 15x, 20x gibi kaç kez büyütme yaptıkları yazılıdır. Bazı mikroskoplarda tek bir oküler (monoküler) bulunmasına karşın, genellikle çift oküler (binoküler) bulunur. Binoküler sistemde, objektifden geçen ışınlar prizmalar yardımıyla 2 göze taksim edilirler. Bazı binoküler başlıklarda, fotoğraf makinesi yerleştirmek için üçüncü bir tüp daha bulunur. Bazı mikroskoplarda aynı anda iki kişinin bakabileceği tertibatlar bulunmaktadır.



Aydınlatma Kısmı: Aydınlatma bölümü, lam üzerine konan objeyi aydınlatmak için ışık kaynağı, bu ışığı obje üzerine doğru yansıtan veya yönlüten ayna ve ışığı obje üzerinde toplayan kondansatörden oluşur.

Işık kaynağı: Mikroskoplarda objeyi aydınlatmak için, genellikle elektrikle çalışan, mikroskobun dışında bulunan veya mikroskobun içine monte edilen ışık kaynakları kullanılmaktadır. Işık kaynağı aydınlatma için gerekli ışığı verir, ayrıca bazı modellerde ışığı ayarlamak için özel diyaframlar bulunur.

Ayna: Mikroskop üzerine monte edilmiş aynalar, ışık kaynağından gelen ışınları kondansatöre ve dolayısıyla obje üzerine yansıtırlar. Bazılarında ayna, mikroskop içinde bulunur.

Filtre: Kondansatörün altında bulunan özel ve halka şeklindeki yere ışık kaynağından gelen ışınları süzen mavi, yeşil veya mat filtreler konarak iyi görüntü sağlanmaya çalışılır.

Diyafram: Lambadan gelen ışığın, gereğine göre az veya fazla oranda kondansatöre girmesini sağlamak için kondansatörün altında diyafram bulunur. İmmersiyonla çalışmalarda genellikle diyafram tam açılarak içeri fazla ışık girmesi ve objenin aydınlatılması sağlanır. Buna karşılık, hareket muayenelerinde ise iyi bir kontrast sağlanması için diyafram gereği kadar kapatılır.

Kondansatör: Bir mikroskopta kondansatörün esas görevi ışığı obje üzerinde toplamak ve yeterince aydınlatmaktır. Genellikle iki mercekten oluşan kondansatörler, bir düğme ile aşağı yukarı inereçkar ve ışığın iyi odaklanmasını sağlar.

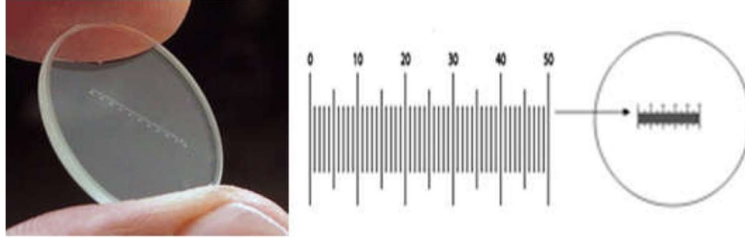
Mikroskop yumuşak dokulu, kalıntı bırakmayan, temiz bir bezle her kullanımdan sonra temizlenmelidir. Çalışma bitiminde mikroskop küçük objektife ayarlı şekilde bırakılmalıdır. Objektif ve okülerler gereksiz yere kesinlikle yerlerinden çıkarılmamalı, merceklere elle dokunulmamalıdır.

MİKROSKOPTA CİSİMLERİN ÖLÇÜMÜ

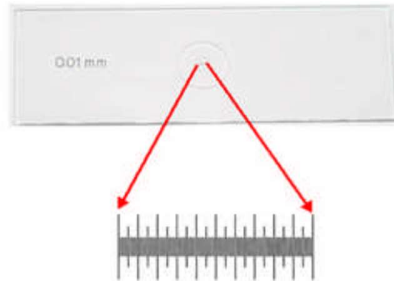
Bazı çalışmalarda mikroskopta görüntüsünü büyütüp incelediğimiz nesnelerin boyutlarının ölçümü gerekmektedir. Bu işlem genellikle araştırma kurum ve kuruluş laboratuvarlarında sıkça yapılan çalışmalar arasındadır. Bakteri hücreleri, küf hücre ve sporları, spor torbaları, hifler, parazit hücre ve yumurtaları vb. nesnelerin ebatlarının ölçümü mikroskopta yapılabilmektedir. Mikroskopta nesnelerin boyutlarını ölçmede, oküler ve objektif mikrometre olmak üzere belli aralıklarla çizgilere sahip olan iki tane özel ölçek kullanılır.

Oküler ve Objektif Mikrometre

Oküler mikrometre, üzerinde belirli aralıklarla çizilmiş çizgilerden oluşan ölçeği bulunan daire şeklindeki bir lamdır. Okülere yerleştirilerek kullanılır. Ölçüm yapmadan önce objektif mikrometre ile çizgileri arasındaki mesafenin değerinin bulunması gerekir. Bu değer ölçümde kullanılacak objektifin büyütme gücüne göre değişir. Büyütme gücü arttıkça bu değer küçülür.



Objektif mikrometre, üzerinde 10 mikrometre aralıklarla çizilmiş çizgilerden oluşan ölçeği bulunan dikdörtgen şeklindeki bir lamdır. Lam üzerindeki 1 mm'lik mesafe 100 eşit parçaya bölünerek hazırlanmıştır. Preparatta olduğu gibi mikroskop tablasına yerleştirilerek kullanılır. Asıl görevi oküler mikrometrenin çizgileri arasındaki mesafenin bulunmasıdır.

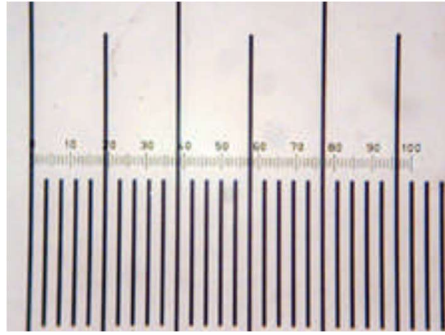


Ölçüm şöyle yapılır:

- Oküler mikrometre, okülere yerleştirilir.
- Objektif mikrometre mikroskopun tablası üzerine konur ve maşalarla sabitlenir.
- Küçük büyütme objektifiyle bakılarak ölçekli kısmın görüntüsü bulunur.
- Ölçüm yapılacak objektif görüntü üzerine alınarak mikro ayar vidası ile görüntü netleştirilir.
- Oküler çevrilerek oküler ve objektif mikrometre ölçek çizgilerinin paralel hale gelmesi sağlanır.
- Şaryo ayar vidası yardımıyla ölçeklerin başlangıç çizgileri çakıştırılır. Başlangıç çizgisinden sonra tam üst üste gelecek çakışan diğer çizgi tespit edilir ve kaçınca çizgi olduğu belirlenir.

- Objektif mikrometrede bulunan iki çizgi arası 10 mikrometre (0,01 mm) dir. İki çizgi arasına tam isabet eden oküler mikrometre çizgileri hesap edilir ve kaydedilir. Böylece, oküler mikrometre çizgilerinin aralıkları da hesap edilmiş olur.
- Objektif mikrometre çıkarılarak yerine preparat konur. Nesnenin görüntüsü mikroskopta bulunur.
- Oküler mikrometre ile ölçülecek kısım paralel hale getirilerek başlangıç çizgisi çakıştırılır ve ölçüm yapılır.
- Preparattaki cismin boyları veya çapı oküler mikrometre çizgileri yardımıyla ölçülür.

Hesaplama



Örnek 1: Oküler mikrometrenin 100. Çizgisi objektif mikrometrenin 26. çizgisi ile çakışmaktadır. Objektif mikrometrede bulunan iki çizgi arası 10 mikrometre (0,01 mm) olduğundan
 $26 \times 10 = 260 \mu\text{m}$
 $260 \mu\text{m} / 100 = 2,6 \mu\text{m}$ (Oküler mikrometrenin iki çizgisi arasındaki mesafe)

Örnek 2: Oküler mikrometrenin 50. Çizgisi objektif mikrometrenin 10. çizgisi ile çakışmaktadır. Objektif mikrometrede bulunan iki çizgi arası 10 mikrometre (0,01 mm) olduğundan;
 $10 \times 10 = 100 \mu\text{m}$
 $100 \mu\text{m} / 50 = 2 \mu\text{m}$ (Oküler mikrometrenin iki çizgisi arasındaki mesafe)

Örnek 3: Cismin boyu oküler mikrometrenin 15. çizgisine denk gelmiştir. Bu durumda cismin boyu hesaplanırken 15 ile okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri ile çarpılarak hesaplanır. Okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri $2 \mu\text{m}$ ise cismin boyu;
 $15 \times 2 = 30 \mu\text{m}$ 'dir.

Örnek 4: Cismin eni oküler mikrometrenin 9. çizgisine denk gelmiştir. Bu durumda cismin eni hesaplanırken ile okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri ile çarpılarak hesaplanır. Okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri $2 \mu\text{m}$ ise cismin boyu;
 $9 \times 2 = 18 \mu\text{m}$ 'dir.

Kaynaklar:

Deveci, E. Mikroskop Çeşitleri Çalışma Prensipleri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi. Dönem I. Hücre Bilimleri 2 Komitesi. Ders notu.
 MEB. 2011. Mikroskobik inceleme. 524LT0021.