① دکتر داسوز - ۸۷/۹/۳۰ بیوفیزیک - دوره کارشناسی ارشد مهندسی پزشکی

میکروسکوپ الکترونی - لزوم بررسی سلول بعنوان کوچکترین واساسی‌ترین واحد حیات

رابرت هوک اولین مشاهده‌کننده ساختار سلول.

بزرگنمایی صرفاً کفایت نمی‌کند باید اجزا برای چشم قابل تفکیک باشد.

درشت نمایی یا بزرگنمایی: نسبت اندازه تصویر به اندازه جسم،

میکروسکوپ
- درشتنمایی تجارتی: حاصلضرب بزرگنمایی ابژکتیو در اکولر و لوله میکروسکوپ
- درشتنمایی مفید: حاصلضرب شماره ورودی (NA) ابژکتیو در هزار
- درشتنمایی مخصوص: تقسیم 250mm فاصله متوسط رویت واضح با چشم به فاصله کانونی ابژکتیو

تجارتی: $GM = G_{ob} \times G_{oc} \times G_T$ ، مفید: $GM = NA \times 1000$

مخصوص: $GM = \frac{250\ mm}{f_{ob}\ mm}$

NA: Numerical Aperature

ابژکتیو (objective): تعدادی عدسی ۴، ۸ یا ۱۶ که باهم ترکیب شده‌اند. عمل آن تشکیل اولین تصویر از جسم است که تصویر بزرگتر از جسم، معکوس و حقیقی است.

اکولر: تعدادی عدسی محدب است که کار ذره‌بین را انجام می‌دهد. اکولر از تصویر ایجاد شده از ابژکتیو، تصویری مجازی، مستقیم و بزرگ ایجاد می‌کند.

قدرت تفکیک (Resolution): کوچکترین فاصله قابل تشخیص بین دو نقطه واقع بر یک سطح را که بوسیله یک سیستم نوری قابل رویت باشد.

هرچه قدر مقدار عددی توان تفکیک کمتر باشد، قدرت تشخیص ↑

$$\text{توان تفکیک (مین)}\ \Sigma = \frac{0.61\lambda}{n\sin\alpha} = \frac{0.61\lambda}{NA}$$ معادله آبه

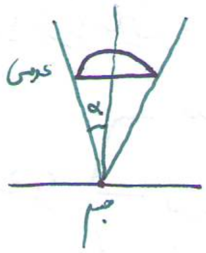
λ: طول موج نور

n: ضریب شکست محیط

0.61: مقدار ثابت

محیط: حد فاصل جسم و اولین عدسی ابژکتیو

α: نیم زاویه مخروط روشنایی، half_angel



درشتنمایی ↑ ⇐ فاصله ابژکتیو با جسم ↓ ، مخروط کوتاه‌تر

$2\alpha \rightarrow 180^\circ$

در حداکثر حالت امکان $\sin\alpha = 1$

راه‌های کم کردن Σ:
- کاهش دادن λ (استفاده از طول موج‌های کوتاه) (کاربرد بیشتری دارد)
- $n\sin\alpha$ بزرگتر گردد ← $0.9 < n\sin\alpha < 1.6$

+ مقایسه بزرگنمایی و قدرت تفکیک میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی

هر دو رابطه مستقیم با طول موج نور یا پرتو الکترونی دارند که به جسم تابیده می‌شود.

میکروسکوپ نوری: حداکثر بزرگنمایی ۳۰۰۰ برابر، میکروسکوپ الکترونی (TEM): ۲۰۰،۰۰۰ برابر

با سیستم عکاسی غیرمستقیم تا یک میلیون برابر

در میکروسکوپ الکترونی: از الکترون‌ها برای تولید تصویر استفاده می‌گردد.

$1A^\circ = 1\times10^{-10}$ meters

λ = طول موج $= \frac{h}{m\cdot v}$، h → ثابت پلانک 6.63×10^{-34} J.s

سرعت الکترون‌ها معمولاً: ۱۵۰،۰۰۰ km/s (رسیدن به شتاب‌دهنده) 1.05×10^{-27} m.v الکترون

→ $\lambda = 0.04\ A^\circ$

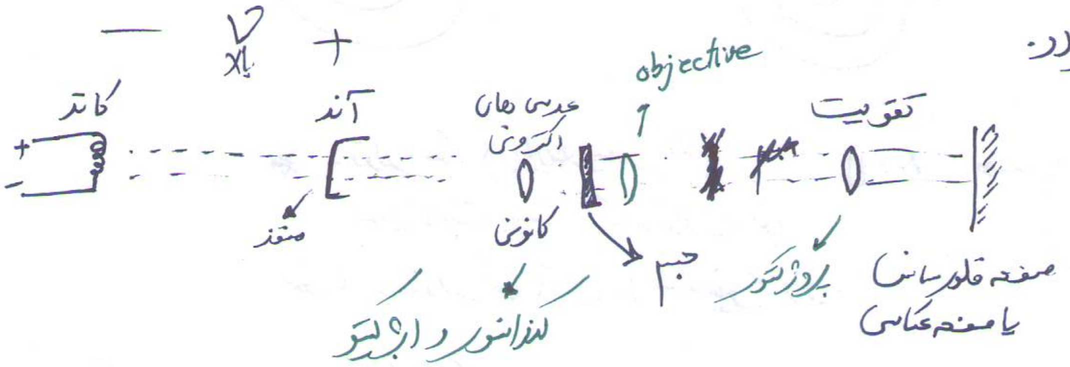
میکروسکوپ الکترونی : در سال ۱۹۲٤ debroglie به کوتاه بودن طول موج پرتوهای الکترونی پی برد. یک سال بعد بوش به این حقیقت دست یافت که یک میدان مغناطیسی مناسب پرتوهای الکترونی را در کانون متمرکز می‌کند. (اولین ذهنیت ایجاد میکروسکوپ الکترونی)

Electron Microscope

در E.M منبع پرتوها، رشته‌ای از تنگستن ملتهب شده به وسیله جریان الکتریکی است.

در نوری ← یک منبع نور وجود دارد.

دسته الکترونی به سمت نمونه شتاب می‌گیرند جهت جلوگیری از انحراف در لوله میکروسکوپ خلأ ایجاد می‌گردد.



عدسی الکترونی : استفاده از بوبین‌های مغناطیسی دقیق همانند عدسی‌های همگرا عمل می‌کنند.

در ۱۹۳۱ میکروسکوپ الکترونی توسط Ruska و Knol ساخته شد.

مهم : نمونه‌ها بایستی نازک باشند چون هنگام برخورد الکترونها به مقطع انحراف ایجاد می‌گردد و ضخامت مقطع باعث تشدید پراکندگی می‌گردد. چون این پراکندگی با از دست دادن انرژی همراه است در ستون میکروسکوپ الکترونها با انرژی کم و در نتیجه طول موج زیاد پدیدار می‌شوند و تشکیل تصویر واضح را مختل می‌کنند.

$1000\ \mathring{A}$ > ضخامت مواد ارگانیک

مشکل اساسی میکروسکوپهای الکترونی خلأ است که نمی‌توان سلول زنده را مطالعه کرد.

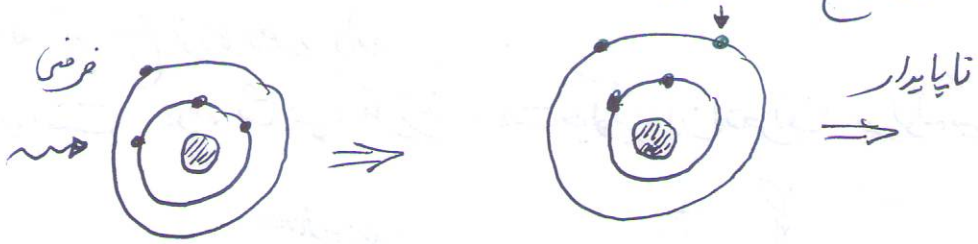
← مزیت میکروسکوپ الکترونی به نوری :

۱- عمق میدان دید بالا

۲- بزرگنمایی بسیار بالا

۳- توان تفکیک بسیار بالا

کاربرد رایج میکروسکوپ الکترونی ← روبش نگاره (SEM) ← آنالیز کردن مواد.



* مقدار اشعه X برای هر عنصر (اتم) عددی ثابت است که می‌توان نوع نمونه و مقدار کمی آن را تشخیص داد.

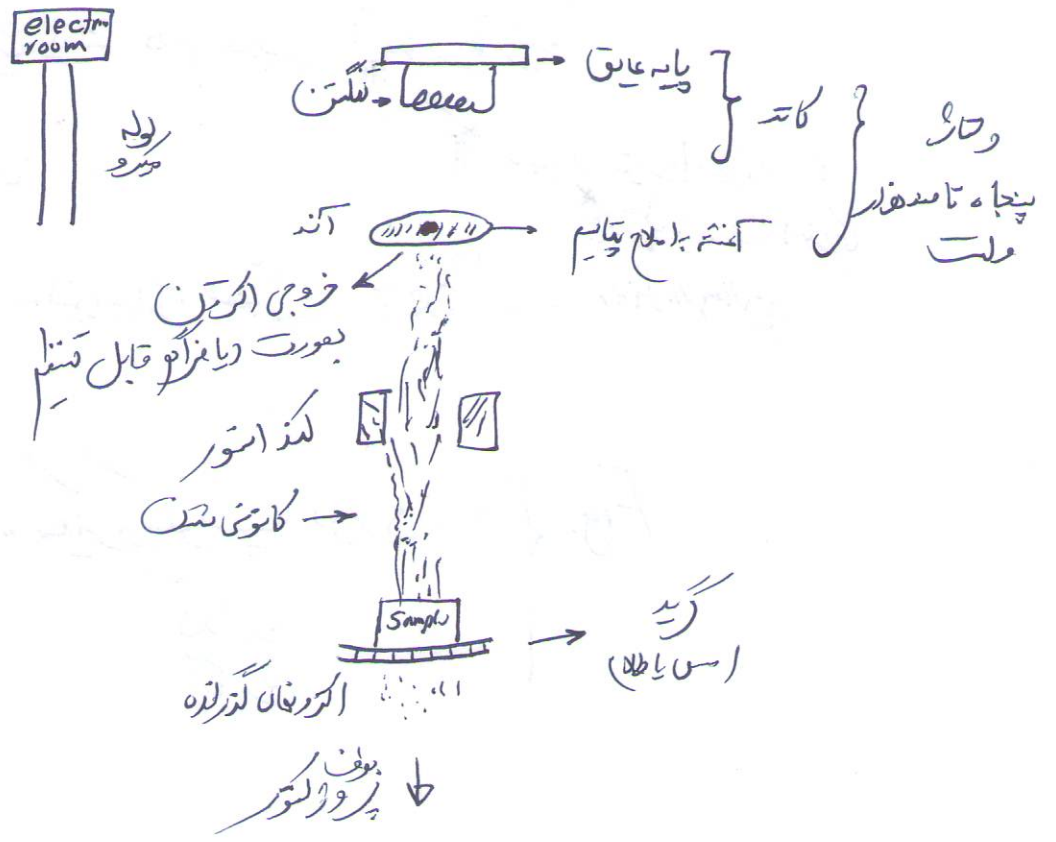
← کاربرد دیگر انجام جراحی های میکروسکوپی ← عمل روی یک سلول مثل جابجا کردن هسته و حذف میتوکندری

انواع میکروسکوپ الکترونی :

- میکروسکوپ گذاره (TEM) Transmission Electron Microscope
- میکروسکوپ نگاره (SEM) Scanning Electron Microscope

میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM):

تفنگ الکترونی
|
لنزهای کندانسور
|
نمونه
|
ابژکتیو
|
پروژکتور



ویژگی صفحه فلورسانس : پلاتینوسیانور باریم یا سولفید روی — گذاره : الکترونهای گذرنده

دو مشکل عمده این میکروسکوپ
۱- تهیه برش های نازک : که کار طولانی و پرهزینه است
۲- عدم امکان مشاهده نمونه های زنده

بزرگنمایی میکروسکوپ گذاره : ۵۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ برابر

توان تفکیک میکروسکوپ گذاره : ۲-۴ A

میکروسکوپ الکترونی نگاره : SEM

جهت بررسی های ریخت شناختی دقیق، مطالعه سطوح نمونه ها.

تفاوت عمده با گذاره :

در این میکروسکوپ به جای الکترونهای گذرنده از جسم که انرژی زیادی دارند در تشکیل تصویر از الکترونهای پراش یافته از سطح جسم و نیز الکترونهایی که در اثر تابش دسته الکترونهای اولیه و تحریک سطح نمونه، از سطح نمونه رها و پرتاب می شوند، به نام الکترونهای ثانویه نامیده می شود استفاده می گردد.

تصویر گذاره روی صفحه فلورسانس / تصویر در نگاره ← صفحه تلویزیون

برای مشاهده ساختمان درونی

6

اختلاف پتانسیل نگاره کمتر از گداخته است. ← قدرت تفکیک ۳۰A-۱۵

رنگدانه اگر و نقلا تانویه در اثر یافتن هم جذب دتکتور می گردد. ①

② ایجاد نور یا فوتون

③ تبدیل به جریان الکتریکی

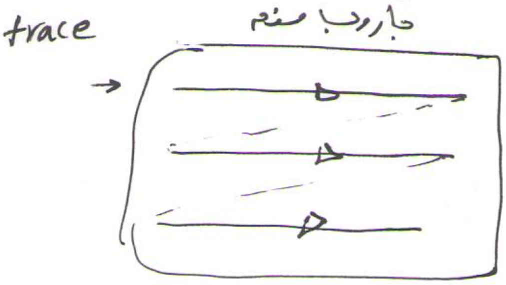
④ Amplifier → ⑤ CRT → ⑥ به شیوه چاپ صفحه

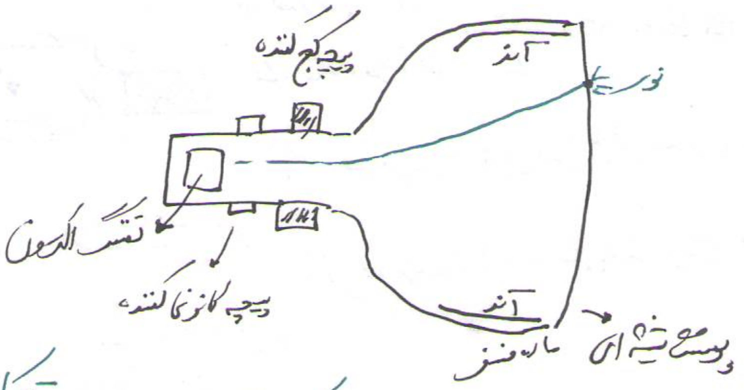
نگاره ← مشاهده تصویر سه بعدی سطح نمونه هم امکان پذیر است.

Fig. { "میکروسکوپ نوری"
گذاره
نگاره

دستگاه نمایش اسیلوسکوپ یا صفحه تلویزیون (T.V)

همان CRT (cathod ray tube) است





- تکرار جاروب شدن کل صفحه ۵۰ بار در ثانیه انجام می گیرد.

شدت نور متناسب با شدت الکترونها

استاندارد ۵۲۵ ردیف (trace) است.

عدسی های مغناطیسی

جریان الکترونها در میکروسکوپ الکترونی توسط عدسی های مغناطیسی (میدانهای مغناطیسی) متمرکز می گردد.
حوزه مغناطیسی به کمک یک سیم پیچ که جریان برق پیوسته از آن می گذرد ایجاد می گردد.
با تغییر جریان ← حوزه مغناطیسی و فاصله کانونی عدسی تغییر می کند. (باید حواسمان به جریان نوسان ناخواسته باشد)
✓ فاصله کانونی به سرعت الکترون هم بستگی دارد.

حرکت ذره باردار در میدانهای مغناطیسی و الکتریکی

ذره ای با بار e با سرعت v در میدان الکتریکی E و مغناطیسی B حرکت می کند.
(از نیروی گرانش صرف نظر می گردد)

نیروی وارد بر ذره $F = e.E + ev.B$

p: اندازه حرکت

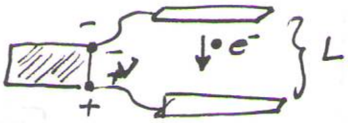
$$\frac{dp}{dt} = eE + evB$$

برای یافتن مکان ذره باید معادله فوق حل شود.

الکترون در میدان الکتریکی :

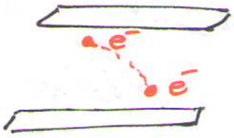
کل نیروی وارد بر ذره باردار حاصل جمع برداری نیروی وارد بر آن از طرف همه بارهای دیگر

$F = e.E = e.\frac{V}{L}$ V: اختلاف پتانسیل   L: فاصله دو صفحه



اگر e سرعت اولیه عمود داشته باشد انحراف ندارد

اگر e سرعت اولیه داشته باشد حرکت سهمی دارد



J (Q.V)

$\frac{1}{2}mv^2 = e.V \Rightarrow v^2 = 2\frac{e}{m}V \xrightarrow{\text{در حالت عملی}} v = 600\sqrt{V}$

انرژی جنبشی ← انرژی بین صفحه

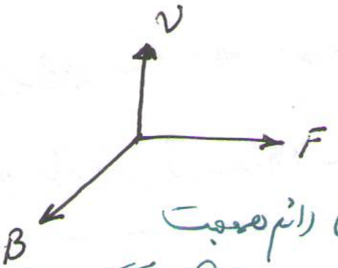
برای مثال در فشار الکتریکی ...10000 ولت سرعت

$v = 60000\ km/s$

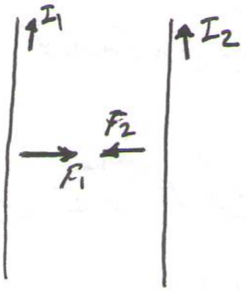
الکترون در میدان مغناطیسی :

افزون بر میدان الکتریکی ذرات باردار متحرک تحت تاثیر نیروی مغناطیسی قرار می‌گیرند. نیروی مغناطیسی

$F = qvB$ همواره عمود بر راستای حرکت ذرات باردار



اگر دو سیم جریان‌های دائم هم‌جهت از آنها عبور کند نیروی ربایشی و اگر جریان‌ها خلاف هم باشند نیرو رانشی خواهد بود.



$F = B.L.i$

تعداد بارهای الکتریکی که در 1 ثانیه طول L را طی کرده‌اند

$F = B.e.v$

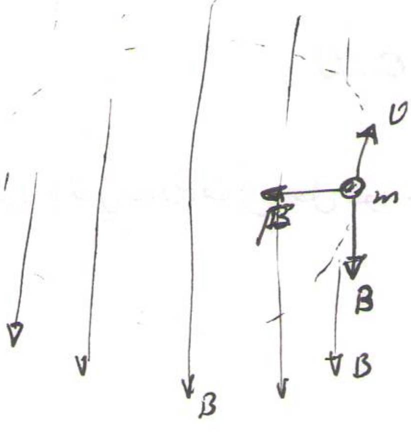
در مورد الکترون

نیروی جانب مرکز

$\frac{mv^2}{R} = Bev$

$\Rightarrow R = \frac{mv}{e.B}$

شعاع دایره

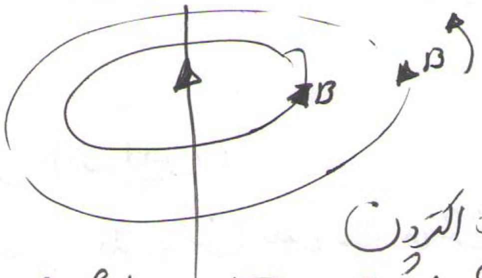


B عمود بر حرکت بوده و انرژی ذره را افزایش نمی‌دهد، سرعت ثابت می‌ماند ولی مسیر حرکت منحرف می‌گردد.

نکته: در میدان مغناطیسی یکنواخت ذراتی که اندازه حرکت نسبتشان یکسان است. دوران را پیمای
با شعاع ثابت حرکت می‌کنند.

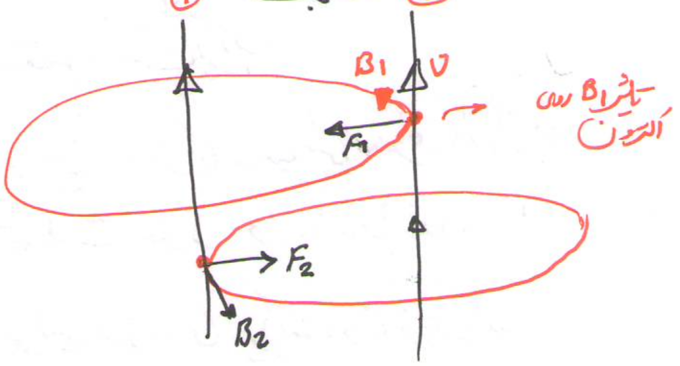
تفرق اشعه X

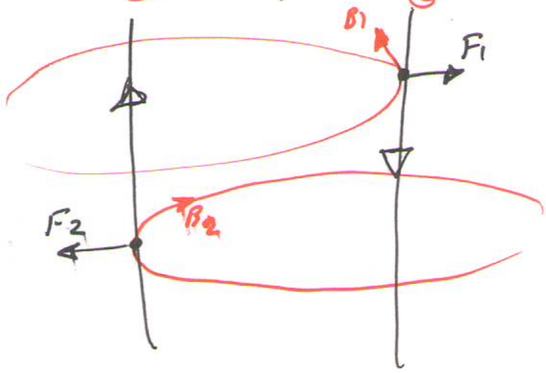
بررسی تعامل دو سیم موازی روی هم:
در یک سیم اگر انگشت شست جهت جریان باشد چهار انگشت جهت میدان مغناطیسی در هر نقطه را
نشان می‌دهد.



قانون دیگر دست راست: اگر چهار انگشت در جهت حرکت الکترون
باشد و میدان مغناطیسی از کف دست خارج گردد انگشت شست جهت نیرو را نشان می‌دهد.

همجهت



ربایش

غیر همجهت